

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**İNSAN İNTERNAL TORASİK ARTER HALKALARINDA
VİSFATİN'İN FONKSİYONEL ETKİLERİ**

Zeliha BAYRAM

Doktora Tezi

Antalya, 2015

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

İNSAN İNTERNAL TORASİK ARTER HALKALARINDA VİSFATİN'İN FONKSİYONEL ETKİLERİ

Zeliha BAYRAM

Doktora Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2012.03.0122.002)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2015

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu ve Senato Kararı

Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 22/06/2000 tarih ve 02/09 sayılı enstitü kurul kararı ve 23/05/2003 tarih ve 04/44 sayılı senato kararı gereğince “Sağlık Bilimleri Enstitülerinde lisansüstü eğitim gören doktora öğrencilerinin tez savunma sınavına girebilmeleri için, doktora bilim alanında en az bir yurtdışı yayın yapması gerektiği” ilkesi gereğince yapılan yayınların listesi aşığıdadır.

1. **Bayram Z.**, Nacitarhan C., Ozdem SS. Effects of Glucagon-like Peptide-1 in Diabetic Rat Small Resistance Arteries. J Cardiovasc Pharmacol, 64(3):277-284, 2014.
2. **Bayram Z.**, Golbasi I., Ozdem SS. The role of nitric oxide and potassium channels in the effect of adrenomedullin in human internal thoracic arteries. Regul Pept, 161(1-3):92-96, 2010.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;

Bu alışma, j¼rimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Programında
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir. 31 /08 /2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fak¼ltesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ye : Prof. Dr. Kevser EROL
Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fak¼ltesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ye : Prof. Dr. İlhan GÖLBAŐI
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fak¼ltesi
Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

ye : Prof. Dr. Cořkun USTA
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fak¼ltesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ye : Prof. Dr. Arda TAŐATARGİL
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fak¼ltesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ONAY: Bu tez, Enstit¼ Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri yeleri
tarafından uygun gr¼lm¼ř ve Enstit¼ Yönetim Kurulu'nun/...../2015 tarih
ve/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN
Enstit¼ M¼d¼r¼

ÖZET

Pre-B-hücre koloni artırıcı faktör (PBEF) ve nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt) olarak da bilinen visfatin, yeni bir adipoz doku kökenli sitokindir (adipositokin). Deneyisel hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların perivasküler yağ dokusunda bulunduğu ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır. İnsan sol internal torasik arter (ITA) grefti myokardiyal revaskülarizasyonda en sık kullanılan koroner arter bypass greftlerinden biridir. Bu nedenle bu çalışmada insan ITA preparatlarında visfatin'in fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar'ın belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada koroner arter bypass cerrahisine alınan hastalardan elde edilen operasyon sonrası artan (redundant) ITA örnekleri 3-4 mm genişliğinde halkalar halinde kesildi ve 20 mL'lik organ banyolarına asıldı. İzometrik gerilim, bilgisayar bazlı bir data toplama sistemine bağlı izometrik transdüserler aracılığıyla sürekli kaydedildi.

Değişik konsantrasyonlarda visfatin ile inkübe edilen insan ITA preparatlarında anjiyotensin II, endotelin-1, noradrenalin ve fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtları visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişmedi. Fenilefrin (10^{-6} M) ile önceden kasılmış insan ITA preparatlarında visfatin (10^{-12} - 10^{-7} M) konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturdu. Visfatin'e gevşeme yanıtları endoteli sağlam ITA halkalarında, endoteli zedelenmiş ITA halkalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Dokuların siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile inkübasyonu visfatin'e gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmazken, nitrik oksid (NO) sentaz (NOS) blokörü N^w -nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) (10^{-4} M) ve spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODC (5×10^{-5} M) ile inkübasyonu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlandı. Nampt enzim inhibitörü FK866 ($10 \mu\text{M}$) varlığında da visfatin'e gevşeme yanıtları hemen hemen tamamen bloke edildi. İnsan ITA halkalarının büyük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive edilen potasyum (BK_{Ca}) kanal blokörü karibdotoksin (10^{-7} M) ve küçük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive edilen potasyum (SK_{Ca}) kanal blokörü apamin (10^{-7} M) kombinasyonu ile inkübasyonu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmadi. ITA halkalarında asetilkolin (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin inkübasyonları ile anlamlı olarak artarken, endotel-bağımsız gevşeme oluşturan sodyum nitroprussid'e (10^{-10} - 10^{-5} M) gevşeme yanıtları anlamlı olarak değişmedi.

Sonuç olarak, bu çalışmada literatürde ilk defa olmak üzere visfatin'in insan ITA preparatında fonksiyonel gevşetici etkisine yönelik farmakolojik kanıt sağlandı. Elde edilen bulgular insan ITA preparatlarında visfatin'in çeşitli kasıcı ajanlara kasılma yanıtlarını etkilemediğini, diğer taraftan endoteli sağlam halkalarda konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturduğunu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında Nampt enzim aktivitesinin ve NO-sGMP yolağı aracılığı ile endotel dokusunun temel bir rol oynadığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Adipositokin, İnsan Internal Torasik Arteri, Nitrik Oksid, Vazodilatasyon, Visfatin.

ABSTRACT

Visfatin, also known as pre-B-cell colony-enhancing factor (PBEF) and nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) is a novel adipocyte-derived cytokine (adipocytokine). The expression and secretion of visfatin in perivascular adipose tissue of aorta and coronary artery were shown in both experimental animal models and human studies. It was also shown that visfatin had various functions in vascular system. Human left internal thoracic artery (ITA) is one of the most commonly used coronary artery bypass grafts in myocardial revascularization. Therefore, the present study aimed to investigate the functional effects and the possible underlying mechanism(s) of the effect(s) of visfatin on human ITA preparations.

Samples of redundant ITA obtained from patients undergoing a coronary artery bypass surgery were cut into 3-4 mm wide rings and suspended in 20 mL organ baths. Isometric tension was continuously recorded with isometric force transducers connected to a computer-based data acquisition system.

Contraction responses of human ITA rings to angiotensin II, endothelin-1, noradrenaline and phenylephrine did not change significantly before and after incubation with different concentrations of visfatin. Visfatin (10^{-12} - 10^{-7} M) produced concentration-dependent relaxation responses in human ITA rings precontracted with phenylephrine (10^{-6} M) that were significantly higher in endothelium-intact than endothelium-denuded preparations. Incubation of tissues with cyclooxygenase inhibitor indomethacin (10^{-5} M) did not cause a significant alteration, while incubations with nitric oxide (NO) synthase (NOS) inhibitor N^w-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (10^{-4} M) or specific guanylyl cyclase inhibitor ODC (5×10^{-5} M) caused statistically significant decreases in relaxant responses to visfatin. Visfatin-induced relaxation responses were almost completely blocked in the presence of Nampt enzyme inhibitor FK866 (10 μ M). Incubation of the tissues with a combination of high-conductance Ca²⁺-activated potassium (BK_{Ca}) channel blocker charybdotoxin and small-conductance Ca²⁺-activated potassium (SK_{Ca}) channel blocker apamin (10^{-7} M, both) did not cause a statistically significant alteration in visfatin-induced relaxations. Acetylcholine-induced (10^{-10} - 10^{-5} M) endothelium-dependent relaxations significantly increased whereas sodium nitroprusside-induced (10^{-10} - 10^{-5} M) endothelium-independent relaxations did not change following incubation of human ITA rings with 10^{-9} and 10^{-8} M visfatin.

In conclusion, present study provided, for the first time, pharmacological evidence about the functional relaxant effect of visfatin in human ITA preparations. The findings of the present study demonstrated that visfatin did not alter contraction responses to various contractile agents, but produced concentration-dependent relaxation responses in endothelium-intact human ITA rings. Nampt enzyme activity and endothelium through NO-cGMP pathway played a major role in visfatin-induced relaxation responses.

Keywords: Adipocytokine, Human Internal Thoracic Artery, Nitric Oxide, Vasodilation, Visfatin.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam ve tüm yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda her zaman büyük destek ve yardımlarını gördüğüm, gösterdiği öncülük, titizlik, özveri ve bilimsel katkılarından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM'e,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Ayrıca, biricik kardeşim Meliha BAYRAM'a, annem Ayşe BAYRAM ve babam Mevlüt BAYRAM'a her zaman bana destek oldukları için en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Adipoz Doku (Yağ Doku)	3
2.2. Adiposit (Yağ Hücresi)	5
2.2.1. Adiposit (Yağ Hücresi) Fonksiyonları	6
2.3. Adipositokinler (Adipokinler)	7
2.4. Visfatin / PBEF / Nampt	11
2.4.1. Visfatin Hakkında Genel Bilgiler	11
2.4.2. Visfatin'in Kimyasal Yapısı	11
2.4.3. Visfatin'in Biyosentez, Sekresyonu ve Dağılımı	12
2.4.4. Visfatin'in Fizyopatolojik Etkileri	13
2.4.4.1. Vasküler İnflamasyon ve Aterosklerozdaki Rolü	14
2.4.4.2. Visfatin, İnsülin ve Glukoz İlişkisi	16
2.4.4.3. Visfatin ve SIRT1 İlişkisi	18

2.4.4.4.	Visfatin ve Kanser	19
2.4.4.5.	Visfatin'in Kardiyak Etkileri	20
2.4.4.6.	Visfatin ve İskemik İnme	23
2.4.4.7.	Visfatin ve İskemik Kalp Hastalığı	24
2.4.4.8.	Visfatin ve Hipertansiyon	25
2.4.4.9.	Vasküler Hücre Proliferasyonu Üzerine Etkileri	25
	Endotel Hücreleri Üzerine Etkileri	25
	Vasküler Düz Kas Hücreleri Üzerine Etkileri	27
2.4.4.10.	Vasküler Tonus ve Reaktivite Üzerine Etkileri	29
2.5.	Hipotez	29
GEREÇ VE YÖNTEM		30
3.1.	İzole ITA Örneklerinin Elde Edilişi ve Deney İçin Hazırlanışı	30
3.2.	İzole Organ Banyosunda İn Vitro Deneyler	33
3.3.	Deneylerde Kullanılan İlaçlar	34
3.4.	İstatistiksel Analiz	34
BULGULAR		35
TARTIŞMA		43
SONUÇLAR		49
KAYNAKLAR		51
ÖZGEÇMİŞ		62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetilkolin
ADMA	: Asimetrik dimetil arjinin
AMPK	: Adenozin monofosfat aktive edici protein kinaz
ANGII	: Anjiotensin II
ASP	: Asilasyon stimüle edici protein
Asp	: Aspartik asid
BK_{Ca}	: Büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum
CRP	: C-reaktif protein
DDAH	: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
DM	: Diyabetes mellitus
EC₅₀	: Etkin konsantrasyon 50 (Effective concentration 50)
EDHF	: Endotel bağımlı hiperpolarizan faktör
E_{max}	: Maksimum yanıt
eNampt	: Ekstraselüler nikotinamid fosforiboziltransferaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksid sentaz
ER	: Endoplazmik retikulum
ERK ½	: Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz

ET-1	: Endotelin-1
FGF-2	: Fibroblast büyüme faktörü-2
FMD	: Akım aracılı gevşeme (Flow-mediated dilation)
HGF	: Hepatik büyüme faktörü
HIF-1α	: Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa
ICAM-1	: İntraselüler hücre adezyon molekülü-1
IFN-γ	: İnterferon gama
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IL-1	: İnterlökin-1
IL-10	: İnterlökin-10
IL-1RA	: İnterlökin-1 reseptör antagonisti
IL-6	: İnterlökin-6
IL-7	: İnterlökin-7
IL-8	: İnterlökin-8
ITA	: İnternal torasik arter
iNampt	: İntraselüler nikotinamid fosforiboziltransferaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz

KABG	: Koroner arter bypass graft
KCl	: Potasyum klorür
kDa	: Kilodalton
L-NAME	: Nω- nitro-L-arginin metilester
LPL	: Lipoprotein lipaz
MAPK	: Mitojen ile aktive edilen protein kinaz
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
MMP	: Matriks metalloproteinaz
mPTP	: Mitokondriyal permeabilite geçiş poru
NA	: Noradrenalin
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
Nampt	: Nikotinamid fosforiboziltransferaz
NF-κB	: Nükleer faktör kappa-B
NMN	: Nikotinamid mononükleotid
NO	: Nitrik oksid
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör -1
PBEF	: Pre-B-hücre koloni-artırıcı faktör
PDX1	: Pankreatik duodenal homeobox-1

PGF₂α	: Prostaglandin F ₂ alfa
PGI₂	: Prostatiklin
PHE	: Fenilefrin
PI3K	: Fosfoinositol-3 kinaz
PKB	: Protein kinaz B
PPAR_γ	: Peroksisom proliferatör aktive edici reseptör gama
PSS	: Fizyolojik tuz solüsyonu
PVAD	: Perivasküler adipoz doku
ROS	: Reaktif oksijen türleri
sGMP	: Siklik guanozin monofosfat
SIR2	: Sessiz enformasyon düzenleyici 2
SIRT	: Sirtuin
SK_{Ca}	: Küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum
SNP	: Sodyum nitroprussid
TGF-α	: Transforming büyüme faktörü-alfa
TNFα	: Tümör nekroz faktör alfa
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
UCP1	: Eşlenmemiş protein1 (uncoupling protein1)

VCAM-1 : Vasküler hücre adezyon molekülü-1

VDKH : Vasküler düz kas hücresi

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VLDL : Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Beyaz adipoz dokudan salınan çeşitli adipokinler, kemokinler, yağ asitleri, hormonlar ve rol oynadıkları çeşitli hastalıklar.	8
2.2. Dengesiz adipositokin üretimi ve bunun sonucunda meydana gelen çeşitli hastalıklar.	9
2.3. Nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt)'ın enzimatik aktivitesi.	11
2.4. Visfatin'in inflamasyondaki rolü.	16
2.5. Visfatin'in insülin reseptörüne farklı bir bölgeden bağlanması.	17
2.6. Visfatin ve endotelial anjiogenez.	20
2.7. Visfatin/BREF/Nampt'ın kardiyovasküler sistemdeki başlıca etkileri.	21
2.8. Visfatin'in kardiyovasküler etkilerinde rol oynayan sinyal ileti yolları.	22
2.9. Visfatin'in iskemik inmedeki koruyucu rolü için öne sürülen mekanizmalar.	24
2.10. Visfatin/BREF/Nampt ile indüklenen endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonuna aracılık eden temel sinyalizasyon yolları.	26
2.11. Visfatin'in kan damarları üzerindeki parakrin ve endokrin etkileri.	28
3.1. KABG sırasında temin edilen rudimenter insan ITA segmentini içeren cerrahi preparat	30
3.2. Çevre dokulardan temizlenmiş olan insan ITA segmenti	31
3.3. Halka şeklinde hazırlanmış insan ITA preparatları	31
3.4. İzole organ banyosuna asılmış insan ITA preparatları ve kayıt sistemi	32
3.5. İzole organ banyolarında insan arteriyel halka preparatının temsili şekli	32

- 4.1.** Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ANG II (10^{-11} - 10^{-6} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi **35**
- 4.2.** Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ET-1 (10^{-11} - 10^{-6} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi **36**
- 4.3.** Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan NA (10^{-10} - 10^{-4} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi **36**
- 4.4.** Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan PHE (10^{-10} - 10^{-4} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi **37**
- 4.5.** Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam (+) (n=11) ve zedeli (-) (n=10) insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları **38**
- 4.6.** Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=15) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M, 20 dk., n=14), NOS blokörü L-NAME (10^{-4} M, 20 dk., n=10) ve spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ (5×10^{-5} M, 20 dk., n=10) inkübasyonunun etkisi **38**
- 4.7.** Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=11) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde Nampt inhibitörü FK866 ($10 \mu\text{M}$, 20 dk., n=11) inkübasyonunun etkisi **39**

- 4.8.** 40 mM KCl ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=11) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin + SK_{Ca} kanal blokörü apamin (10^{-7} M, 30 dk., n=11 her iki blokör için) inkübasyonu ile L-NAME (10^{-4} M) + indometazin (10^{-5} M) + karibdotoksin (10^{-7} M) + apamin (10^{-7} M) (30 dk., n=11) inkübasyonunun etkisi **40**
- 4.9.** İnsan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ACh (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi **41**
- 4.10.** İnsan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan SNP (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi **41**

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2.1. Visceral ve Subkutan Adipoz Dokunun Karşılaştırılması	5
2.2. Perivasküler adipoz doku kökenli adipositokinler; fizyolojik ve vasküler düz kas hücreleri (VDKH) üzerine etkileri ve ilişkili kardiyometabolik hastalıklar	10
4.1. 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübasyonlar öncesi (kontrol) ve sonrasında ACh ve SNP için Emax (%) ve pD2 değerleri	42

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde aktif bir endokrin organ olarak düşünölen adipoz doku, adipositokinler olarak adlandırılan çok sayıda biyoaktif faktör üretmektedir. Adipositokinler, adipoz doku içerisinde lokal olarak etki gösterebildikleri gibi sistemik dolaşımla farklı organlara da ulaşabilmekte ve bu şekilde yiyecek alımı-vücut ağırlığının düzenlenmesi, insülin duyarlılığı, üreme, immünite, inflamasyon ve vasküler homeostaz üzerinde etkiler oluşturmaktadırlar [1, 2]. Dengesiz adipositokin üretiminin adipoz doku inflamasyonu, insülin direnci, kronik sistemik inflamasyon ve endotel fonksiyon bozuklukları ile ilişkili olduğu, ayrıca obezite ve tip 2 diyabetes mellitus (DM) gibi metabolik bozukluklarda da rol oynayabileceğı ileri sürölmüşür [3]. Adipositokinlerin kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkili metabolik hastalıkların gelişimindeki rolleri son yıllarda önemli bir araştırma konusu durumuna gelmiştir.

Visfatin 2005 yılında Fukuhara ve ark. tarafından tanımlanan yeni bir adipositokindir. Temel olarak visceral adipoz dokuda (visceral fat) üretildiğı için “visfatin” ismini almıştır [4]. Visfatin aynı zamanda B-hücre farklılaştırıcı sitokin olarak da rol oynamakta ve bu nedenle pre-B-hücre koloni-artırıcı faktör (PBEF) olarak da bilinmektedir [5]. Visfatin’in etkilerine aracılık eden reseptör/reseptörler halen bilinmemekle birlikte, nikotinamid’dan nikotinamid adenin dinökleotid (NAD) sentezinde rol oynayan nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt) enzimiyle yapısal homoloji gösterdiği için visfatin aynı zamanda “Nampt” olarak ta adlandırılmaktadır [6].

Deneyssel hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin’in aort ve koroner arter gibi damarların perivasküler yağ dokusunda bulunduğı [7, 8] ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır. Visfatin direkt olarak vasküler kontraktiletiyi etkileyebilir ancak, hem visfatin’in vasküler tonusun düzenlenmesi üzerine direkt etkilerini gösteren çalışmaların sayısı oldukça kısıtlıdır, hem de bu çalışmalardan elde edilen bulgular oldukça çelişkilidir; *in vitro* çalışmalarda visfatin’in insan umbilikal veni ve koroner endotel hücrelerinde endotelial nitrik oksid (NO) sentaz (eNOS) ekspresyonu ve aktivitesini stimöle ederek NO üretiminde ve siklik guanozin monofosfat (sGMP) oluşumunda artmaya neden olduğı gösterilmiştir [9]. Benzer şekilde, visfatin’in izole sıçan aortu ve mezenterik arterinde eNOS aktivasyonu ile gevşetici etki oluşturduğı bildirilmiştir [10]. Bu bulgularla zıt olarak, tip 2 DM [11] ve kronik böbrek yetmezliği [12] olan hastalarda brakiyal arterin akım aracılı gevşemesi (flow-mediated dilation: FMD) ile

plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalma ile birlikte FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğunda düzelme olduğu saptanmıştır [13]. Yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında Nampt aktivitesi aracılığıyla endotel bağımlı gevşemelerde bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir [14]. Tüm bu çelişkili sonuçlar visfatin'in vasküler dokuda fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların net bir şekilde ortaya konulabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğuna işaret etmektedir.

Bu nedenle bu çalışmada insanlarda koroner arter bypass grefti (KABG) olarak sık bir şekilde kullanılan sol internal torasik arter (ITA) preparatlarında visfatin'in fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar'ın belirlenmesi amaçlanmıştır. İnsan ITA grefti, safen ven greftine göre çok daha uzun yıllar boyunca açık (patency) kalması, daha iyi bir sağ-kalım sergilemesi, egzersiz toleransında artma ve kardiyak olayların sıklığında azalma gibi nedenlerden dolayı koroner arter bypas cerrahisinde tercih edilen ve sıkça kullanılan bir damar preparatı durumuna gelmiştir [15]. Visfatin'in bu dokudaki fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların ortaya konulması, endotel fonksiyon bozukluğu ve vasküler hasar için potansiyel bir biyomarker olabileceği ve vasküler gevşemenin bozulmasında direkt bir rol oynayabileceği öne sürülen visfatin'in [16] insan vasküler dokularındaki etkilerine yönelik çelişkili sonuçlara açıklık getirecektir. Ayrıca elde edilecek sonuçlar, dolaşımdaki visfatin konsantrasyonlarının ITA greftleri üzerindeki olası etkilerine yönelik ilk verileri sağlayarak kalp damar cerrahisi kliniğine katkıda bulunacaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Adipoz Doku (Yağ Doku)

Adipoz doku (yağ doku); adiposit prekürsörleri, fibroblastlar, immun hücreler ve çeşitli hücre tiplerini içeren, bağ dokusunun özel bir tipidir ve bu bağ dokusuna gevşek şekilde bağlanan adiposit olarak adlandırılan hücrelerden meydana gelir [17]. Normal vücut ağırlığına sahip bir insanda, erkeklerde vücut ağırlığının %15-20'sini, kadınlarda ise vücut ağırlığının %20-25'ini adipoz doku oluşturmaktadır. Adipositler, lipogenez ve lipoliz olaylarının gerçekleşmesi için gerekli tüm donanıma sahiptir.

Adipoz dokunun, enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, fiziksel koruma, termogenez (ısı üretimi) fonksiyonlarının yanı sıra; adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden salgılanan peptid/protein yapılı moleküller (adipositokinler) aracılığıyla otokrin, parakrin ve endokrin etkileri de olduğu gösterilmiştir [18, 19]. Adipoz dokunun sadece enerji kaynağı olmayıp birçok sitokin ve yağ dokusu kaynaklı peptidleri salgılama yeteneği olan aktif bir organ olması; yeni metabolik belirteçlerin varlığını araştırmak için çalışmalara kaynak oluşturmaktadır [20]. Dünyada obezite ve bununla ilişkili çeşitli metabolik bozuklukların prevalansının giderek artması, metabolik etkilerinin yanı sıra aktif bir endokrin organ olarak kabul edilen adipoz dokuya olan ilginin daha da artmasına neden olmuştur [18].

Adipoz doku, bir bireyin enerji ihtiyacı ve tüketimine bağımlı olarak hücre sayısı ve büyüklüğü açısından hayat boyu hacimsel olarak değişkenlik göstermektedir [21-24]. Adipoz dokuyu anlamaya yönelik çalışmaların ilerlemesiyle bu dokunun sadece fazla enerjinin depolanmasını sağlayan bir kaynak olmadığı, aynı zamanda biyolojik olarak aktif bir endokrin sekreter organ olduğu anlaşılmıştır. Adipoz doku, ekstraselüler sıvıya salgıladığı sitokin, hormon ve peptid/protein yapılı çeşitli bileşikler aracılığı ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla diğer hücrelerle etkileşime girer. Adipoz doku, yetişkinlerde büyük ölçüde adiposit olarak adlandırılan lipid dolu hücrelerin bağ doku içerisine gevşek bağlarla bağlanması ile oluşur. Adipositlerin yanı sıra adipoz doku, fibroblast, lökosit, makrofaj ve preadiposit (henüz yağ ile dolmamış) gibi bazı yapısal hücreler de içerebilir.

Adipoz doku, hücrelerinin içerdiği lipid damlacıklarına göre uniloküler (beyaz) ve multiloküler (kahverengi) yağ dokusu olarak sınıflandırılır. Bu dokular morfolojik yapıları, anatomik yerleşimleri, fonksiyonları ve düzenlenmeleri açısından çeşitli farklılıklar gösterirler. Beyaz yağ dokusundaki adipositlerde çekirdek kenara itilmiştir ve çekirdeğin yakınında organelleri de içeren ince bir sitoplazmik bölüm bulunur. Bu hücreler tek ve büyük bir lipid damlacığı içerdiklerinden "taşlı yüzük" manzarası oluşturur ve hücre içi organel bulundurmaz. Kahverengi yağ

dokusunu meydana getiren adipositler ise, tipik olarak birçok küçük lipid damlacığından oluşur. Kahverengi yağ dokusunun hücreleri mikroskopik olarak bol miktarda küresel, oval ya da iplikli formda ve sıkı paketlenmiş mitokondri taşır, damarlanma ve sitokromların sıklığı nedeniyle çıplak gözle bakıldığında kahverengi olarak görünür ve bu şekilde adlandırılır.

Trigliseridler her iki yağ dokusu tarafından depolansa da beyaz yağ dokusu bu depoları organizmanın ihtiyacı doğrultusunda enerji eldesi için, kahverengi yağ dokusu ise ısı eldesi için kullanır. Organizmanın temel enerji deposu beyaz yağ dokusudur. Kahverengi yağ dokusu özellikle kış uykusuna yatan canlılarda vücut sıcaklığının düzenlenmesinde rol oynar. Kahverengi yağ dokusu, vücut sıcaklığını düzenlemek için sahip olduğu çok sayıda mitokondri ve bir mitokondriyal protein olan eşlenmemiş protein1'i (uncoupling protein1, UCP1) kullanır. UCP1, özellikle kahverengi adipoz doku hücrelerinde eksprese edilir ve mitokondri iç membranında lokalize olmuştur. UCP1 mitokondriden ayrılabilir ve ısı üretimini gerçekleştirir. Pek çok memelide kahverengi yağ dokusu gebelik sırasında ve perinatal yaşamda gelişir. Genellikle arteriyel damarlar ve hayati organların çevresinde lokalize durumda bulunur. Kahverengi yağ hücreleri sitoplazmalarında çok sayıda mitokondri ve UCP1 proteini içermeleri, yetişkinlerde çok az miktarlarda bulunmaları ve ısı düzenlenmesinde (termoregülasyon) görev almaları ile beyaz yağ dokusundan ayrılırlar [25, 26].

Beyaz yağ dokusu, yağ kütlesi içerisinde en fazla bulunan yağ dokusu tipidir ve aşırı obezite durumunda vücut ağırlığının yarısından fazlasını oluşturabilir. Kahverengi yağ dokusuna oranla daha az damar ve sinir dokusu içerir. Beyaz yağ dokusunun enerji dengesindeki önemi iyi bilinmekte ve metabolizması yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Beyaz yağ dokusu, viseral yağ (karın boşluğunda iç organlar etrafında yerleşmiş olan yağ; omental yağ) ve subkutan (deri altı) yağ olmak üzere iki kısımda incelenir. Viseral yağ toplam vücut yağının yaklaşık %10'unu oluşturur ve yaşlanma ile bu oran %20'lere kadar çıkabilir [27]. Viseral ve subkutan yağ doku arasında hücre büyüklüğü, kana yağ asidi salgılama, yağ depolama ve membran reseptörleri açısından farklılıklar bulunmaktadır [Çizelge 2.1]. Örneğin; tümör nekroz faktör alfa (TNF α)'nın viseral yağ dokusunda üretimi subkutan yağ dokusuna oranla 67 kat daha az [28]; interleukin-6'nın (IL-6) viseral yağ dokusundan salgılanması subkutan yağ dokusuna oranla 2-3 kat daha fazladır [29, 30].

Çizelge 2.1. Viseral ve Subkutan Adipoz Dokunun Karşılaştırılması. Bu çizelge [30]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

	Viseral Adipoz Doku	Subkutan Adipoz Doku
Hücre Büyüklüğü		Daha büyük
Adrenalin ve Noradrenaline bağlı lipolitik etki	Daha yüksek	
Adrenerjik $\beta 1$ ve $\beta 2$ reseptör mRNA'sı	Daha fazla	
Adrenerjik $\alpha 2$ reseptör sayısı		Daha fazla
Lipolitik aktivite	Daha yüksek	
İnsülin reseptör affinitesi		Daha fazla
İnsülin reseptör sayısı	Daha fazla	
Glukokortikoid reseptörü	Daha fazla	
IL-6 reseptör sayısı	2-3 kat daha fazla	
Leptin mRNA düzeyi		Daha fazla
IRS-1 protein düzeyi		Daha fazla
Depolanmış yağ miktarı		
PAI-1 Protein	Daha fazla	
	Daha fazla	

Gelişmiş bir kapiller ağına sahip olan yağ dokusu ve yağ hücreleri kan damarları ile yakın ilişki halindedir. Yağ dokusu kapillerleri iskelet kası kapillerlerine göre daha geçirgendir ve daha fazla lipoprotein lipaz içerir. Yağ doku hücreleri kendi aralarında, kapiller endotel ve damar düz kas hücreleri ile sürekli iletişim halindedir [21].

2.2. Adiposit (Yağ Hücresi)

Adipositler (yağ hücreleri) ve adipoz doku pasif enerji deposu olmanın yanı sıra, aktif bir metabolik endokrin organ olarak da görev yapar [30]. Yağ hücreleri, hamileliğin 15. haftasından sonra, mitoz ile çoğalarak fibroblastlardan preadipositlere dönüşür. Yaşamın ilk iki yılında preadipositlerden yağ hücreleri oluşur, büyüklük ve sayı olarak en çok bu

yıllarda değişime uğrarlar [31]. Ergenliğe kadar yağ hücre sayısı çoğalarak artmaya devam eder. Ergenlikten itibaren mitoz bölünme görülmez, yalnızca hücre büyüklüğünde değişim gözlenir. Bundan dolayı ergenlik öncesi obezite hiperplastik (hücre sayısı ve büyüklüğünde artış), ergenlik sonrası hipertrofik (hücre çapı ve hacminde artış). Yağ hücrelerinin çapı 20 – 200 µm arasındadır. Yağ hücresi çap olarak 20 kata kadar genişleyebilir, hacim olarak 1000 kata kadar artış gösterebilir [31, 32].

2.2.1. Adiposit (Yağ Hücresi) Fonksiyonları

Son 20 yıl içinde hücre kültür çalışmaları ve mikro analiz metodları ile adipoz hücre fonksiyonlarının moleküller mekanizmaları aydınlatılmaya başlanmıştır. İn vitro olarak preadipositlerden adipositlerin farklılaşması gerçekleştirilerek, adiposit fonksiyonları incelenebilmiştir. Bu amaçla geliştirilen 3T3-L1 adipoz hücre modeli, insülin ile stimüle edildiğinde, glukoz alımı belirlenebilen bir model hücre olarak adlandırılır. Bu hücrelerin, insülinle stimüle edilmeden önce ve edildikten sonra 2-deoksiglukoz alımı ölçümleri yapılarak fonksiyonu ölçülmektedir [31, 33].

Adipositler ve adipoz doku, pasif enerji deposu ve aktif metabolik bir endokrin organ olarak görev yapar [30, 32]. Adipositlere hormonlar ve sitokinler aracılığı ile gelen endokrin, parakrin ve otokrin sinyaller, adiposit membranında ve stoplazmasında çeşitli hormon ve sitokinlere ait reseptörler aracılığı ile iletilerek çeşitli fonksiyonlarda rol oynarlar [31]. Adiposit membranında bulunan reseptörler; hormon sitokin reseptörler (leptin, insülin, tiroid stimüle edici hormon (TSH), anjiotensin II gibi), adrenoseptörler ($\beta 1$, $\beta 2$, $\alpha 1$, $\alpha 2$ reseptörler), lipoprotein reseptörler (VLDL, LDL, HDL reseptörleri) ve stoplazmada bulunan nükleer reseptörler şeklinde sınıflandırılabilir [31]. Adipositlerde bu reseptörlerin uyarılması ile oluşan sinyaller aracılığı ile trigliserit depolanması veya depolanmış yağın, yağ asidi şeklinde kana verilmesi, hücreden hormon, ve bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanması sağlanır [30, 31].

Yağ hücresinde TSH, $TNF\alpha$, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama ($PPAR\gamma$), tiroksin ve glukokortikoid gibi maddeler proliferasyona neden olurlar. $PPAR\gamma$ adiposit ve diğer hücrelerde transkripsiyon faktörü olarak rol oynayan bir nükleer reseptördür [22]. $PPAR\gamma$, hücrede yağ asitleri, prostanooidler ve tiyazolidindionlar tarafından aktive edilir [22, 30, 31]. $PPAR\gamma$, adiposit farklılaşması ve vücut adipoz doku kitlesinin oluşmasında temel bir rol oynar ve insüline duyarlılığı regüle ederek tip 2 diyabetin güçlü bir belirleyicisi olarak rol oynar. Obezlerde $PPAR\gamma$, visceral adipoz dokuda subkutan adipoz dokuya göre artmıştır. $PPAR\gamma$ izoformlarından $PPAR\gamma 1$ birçok dokuda bulunurken; $PPAR\gamma 2$ yalnızca adipositlerde bulunur ve adipositlerin farklılaşmasının düzenlenmesinde görev alır. $PPAR\gamma 2$ izoformunda pro12Ala alleli tip II diyabet riskini azaltır ve bireyin zayıflamasını sağlar [22]. Yağ hücresinden salgılanan $TNF\alpha$, resistin

ve adiponektin, PPAR α 'ın transkripsiyonal olarak kontrolü altındadır ve beslenme ve obezite arasındaki ilişkiyi düzenler.

Adiposit membranında, diğer hücrelere göre daha fazla miktarda bulunan lipoprotein lipaz (LPL); apolipoprotein-E ve kolesterol ester transfer protein enzimleri aracılığıyla dolaşımdaki şilomikronlar ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerden (VLDL) yağ asidlerini kopararak hücre içine girmelerini kolaylaştırır. Obezlerde adiposit LPL aktivitesi, obez olmayanlara göre çok yüksektir. Bu yüzden yağ asidlerinin trigliserit halinde depolanması artmıştır [31].

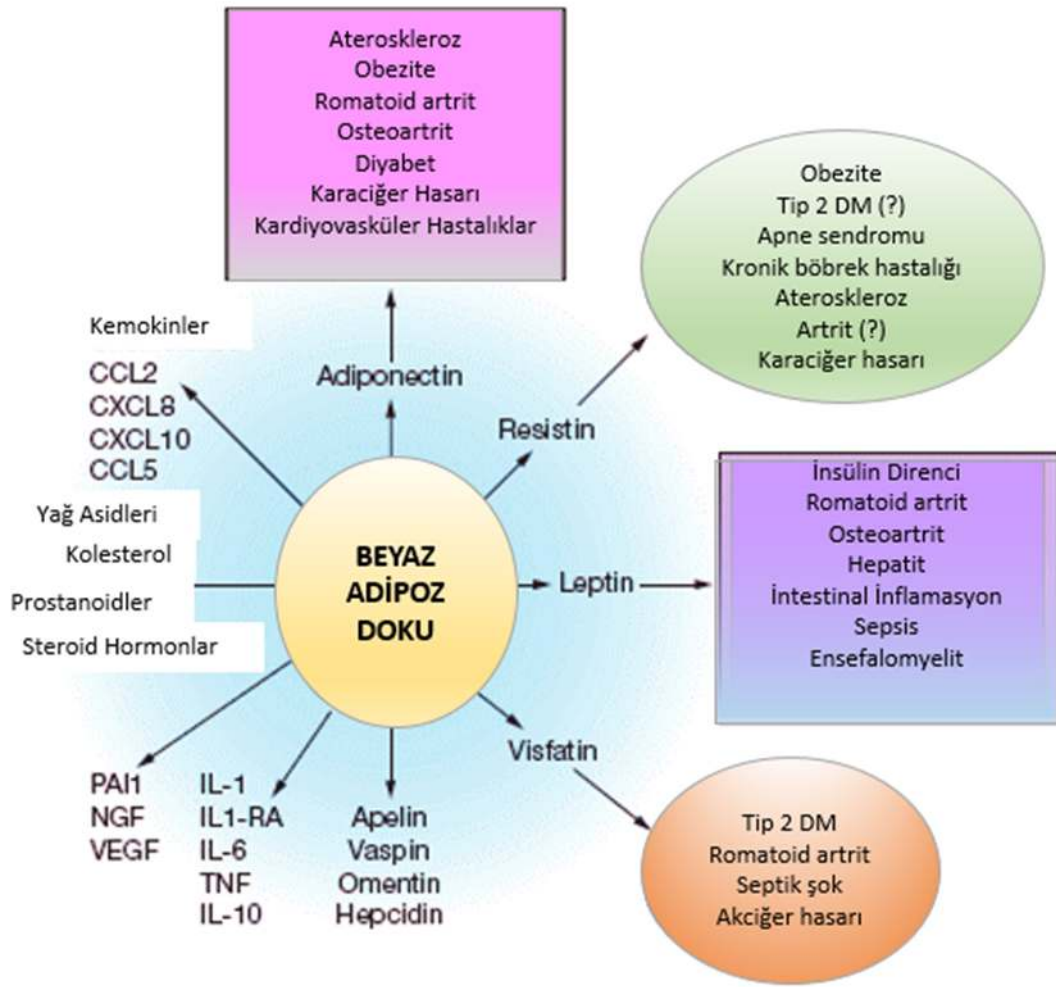
Adipositlerin 3 temel görevi vardır:

1. Metabolizma fazlası enerjiyi trigliseritlere çevirerek depolamak,
2. İhtiyaç durumunda depo trigliseritleri yağ asidine dönüştürerek kana vermek,
3. Sinirsel ve hormonal yolla metabolik kontrolü sağlamak.

Adipoz doku vücuttaki en büyük enerji kaynağıdır ve bu enerji, açlıkta ve ihtiyaç duyulduğunda hızla dolaşıma yağ asidleri şeklinde geçebilecek trigliserit halinde depolanmıştır. Adipositlerden bu yağ asidleri ve salgılanan hormon ve sitokinlerin dolaşıma geçişi hormonal sinyaller ile kontrol edilir. İnsülin, adrenalin, noradrenalin ve kortizol gibi maddeler adipositlere etki ederek adiposit fonksiyonlarını düzenler [34-36].

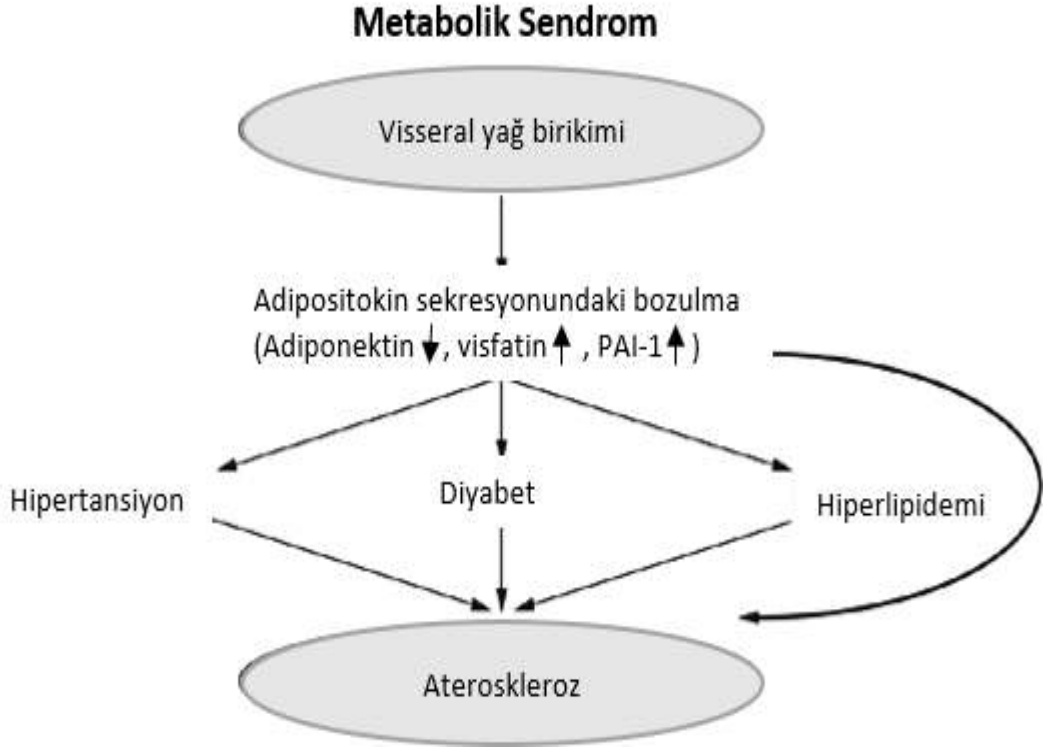
2.3. Adipositokinler (Adipokinler)

1994 yılında Friedman ve arkadaşları tarafından obezite geni ürünü olarak leptin'in keşfedilmesi ile daha sonrasında "adipositokinler (adipokinler)" olarak tanımlanacak ilk adipoz doku kökenli hormonal faktör belirlenmiştir [37]. Adipoz dokuda sentezlenip salınan moleküllere genel olarak "adipokinler" ya da "adipositokinler" adı verilmektedir. Hem yeni hem de var olan moleküllerin adipoz doku ya da adipositlerden salındığının gösterilmesi ile her yıl adipokinler sınıfı genişlemektedir. Adipokinlerin çoğu, hormon benzeri özellikler gösteren (bazıları sitokin olarak bilinen) peptid ya da protein yapıda, fizyolojik olarak aktif moleküllerdir [38-41] [Şekil 2.1].



Şekil 2. 1. Beyaz adipoz dokudan salınan çeşitli adipokinler, kemokinler, yağ asidleri, hormonlar ve rol oynadıkları çeşitli hastalıklar. Bu şekil, [41]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Adipositokinler, adipoz doku içerisinde lokal olarak etki gösterebildikleri gibi sistemik dolaşımla farklı organlara da ulaşabilmekte ve bu şekilde yiyecek alımı-vücut ağırlığının düzenlenmesi, insülin duyarlılığı, üreme, immünite, inflamasyon ve vasküler homeostaz üzerinde etkiler oluşturmaktadırlar [1, 2]. Dengesiz adipositokin üretiminin adipoz doku inflamasyonu, insülin direnci, kronik sistemik inflamasyon ve endotel fonksiyon bozuklukları ile ilişkili olduğu, ayrıca obezite ve tip 2 DM gibi metabolik bozukluklarda da rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [3, 42] [Şekil 2.2].



Şekil 2. 2. Dengesiz adipositokin üretimi ve bunun sonucunda meydana gelen çeşitli hastalıklar. Bu şekil, [42]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Adipositokinlerin kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkili metabolik hastalıkların gelişimindeki rolleri son yıllarda önemli bir araştırma konusu durumuna gelmiştir. Bilinen adipositokinler arasında leptin, adiponektin, rezistin, $TNF\alpha$, interlökin-1 (IL-1), IL-6, interlökin-8 (IL-8), plazminojen aktivatör inhibitör (PAI)-1, adipsin, transforme edici büyüme faktörü-alfa ($TGF-\alpha$), anjiyotensinojen, asilasyon stimüle edici protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-I), hepatik büyüme faktörü (HGF), prostasiklin (PGI_2), prostaglandin F_2 alfa ($PGF_2\alpha$) gibi bileşikler yer almaktadır [43]. Son zamanlarda yukarıda belirtilen klasik adipositokinlerin yanısıra, birkaç yeni adipositokin de tanımlanmıştır. Bunlar; omentin, visfatin, vaspın, nesfatin ve chemerin'dir. Bu yeni adipositokinlerin kan konsantrasyonları ile obezite ile ilişkili metabolik bozukluklar arasındaki bağlantı araştırılmaya başlanmıştır [43, 44] [Çizelge 2.2].

Çizelge 2.2. Perivasküler adipoz doku kökenli adipositokinler; fizyolojik ve vasküler düz kas hücreleri (VDKH) üzerine etkileri ve ilişkili kardiyometabolik hastalıklar. Bu çizelge, [43]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

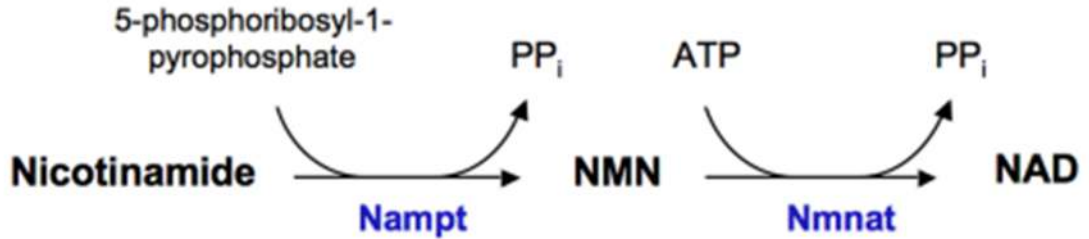
Adipokinler	Fizyolojik Etkileri	Vasküler Düz Kas Üzerine Etkiler	İlişkili Hastalıklar
Leptin	Pro-aterojenik Pro-inflamatuvar	Direkt vazodilatör VDKH proliferasyon/migrasyon ↑ VDKH proliferasyon ↓ Vasküler permeabilite ↑ TNF-α, IL-6, IL-12, ROS ↑ İndirekt vazokonstriktör	Obezite Hipertansiyon Ateroskleroz İnsülin Direnci
Adiponektin	Anti-aterojenik Anti-inflamatuvar	Direkt vazodilatör VDKH proliferasyon/migrasyon ↓ IFN-γ, IL-6, NF-κB, TNF-α, fagositöz, endotelial adezyon molekülleri ↓ IL-10, IL-1RA ↑	Obezite Hipertansiyon Ateroskleroz İnsülin Direnci Tıp 2 DM
Rezistin	Pro-aterojenik	VDKH proliferasyon/migrasyon ↑ Endotelial adezyon molekülleri ↑ TNF-α, IL-6, , NF-κB ↑	Ateroskleroz İnsülin Direnci Tıp 2 DM
Visfatin	Pro-aterojenik Pro-inflamatuvar	VDKH proliferasyon/migrasyon ↑ Endotel bağımlı vazodilatasyon ↑ TNF-α, IL-6, IL-8 ↑ Apoptoz ↓	Ateroskleroz İnsülin Direnci Tıp 2 DM
Omentin	Anti-aterojenik Anti-inflamatuvar	eNOS ↑ NF-κB ↓	Ateroskleroz Metabolik sendrom
Chemerin	Anti-aterojenik Anti-inflamatuvar	TNF-α ile oluşan VCAM-1 ekspresyonu ve monosit adezyonu ↓	Ateroskleroz
Nesfatin	Kontraktil	NO donörü ve SNP ile oluşan düz kas gevşemesini bozması	Hipertansiyon Obezite
Vaspin	Anti-aterojenik Anti-inflamatuvar	VDKH migrasyon ↓	Ateroskleroz Tıp 2 DM Obezite
Apelin	Anti-kontraktil Angiogenik	İskelet kasında glukoz utilizasyonu ↑ Anjiyotensin II'nin etkilerini antagonize etmek NO üretimi ↑	Obezite İnsülin Direnci
İnterlökinler (IL-1, IL-6, IL-8)		Endotelial proliferasyon ↑	Ateroskleroz
HGF		Endotelial proliferasyon ↑ VDKH'den sitokin salınımı ↑	Obezite
TNF-α ₁	Pro-inflamatuvar	Vazodilatör ROS ↑ Endotel fonksiyon bozukluğu ↑	Obezite Hipertansiyon Ateroskleroz Tıp 2 DM

HGF :hepatik büyüme faktörü, **VDKH**: vasküler düz kas hücresi, **ROS**: reaktif oksijen türleri, **IFN-γ**: interferon γ, **IL-1RA**: interlökin-1 reseptör antagonisti, **VCAM-1**: vasküler hücre adezyon molekülü-1, **SNP**: sodyum nitroprussid.

2.4. Visfatin / PBEF / Nampt

2.4.1. Visfatin Hakkında Genel Bilgiler

Visfatin 2005 yılında Fukuhara ve arkadaşları tarafından tanımlanan yeni bir adipositokindir. Temel olarak visceral adipoz (visceral fat) dokuda üretildiği için "visfatin" ismini almıştır [4]. Pre-B-hücre koloni-artırıcı faktör (PBEF) olarak da bilinen visfatin; lenfositlerden sekrete edilen yeni sitokin benzeri bileşiklerin araştırılması çalışmaları sırasında keşfedilmiştir. Yeni bulunan bu bileşiğin B-hücre farklılaştırıcı sitokin olarak rol oynadığı, B hücre maturasyonu üzerine interlekin-7 (IL-7) ve kök hücre faktörünün etkilerini artırdığı gösterilmiş ve bu nedenle PBEF olarak da adlandırılmıştır [5]. Visfatin'in, B hücre maturasyon indüksiyonu, nötrofil apoptoz inhibisyonu, lökosit aktivasyonu yaptığı ve çeşitli adezyon moleküllerinin yanı sıra TNF- α , IL-6, IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezinde de artmaya neden olduğu bildirilmiştir [45]. Visfatin'in etkilerine aracılık eden reseptör/reseptörler halen bilinmemekle birlikte, nikotinamid'den NAD sentezinde rol oynayan Nampt enzimiyle yapısal homoloji gösterdiği için, visfatin aynı zamanda "Nampt" olarak da adlandırılmaktadır [6, 16] [Şekil 2.3]. Bakteriler nikotinamiddan NAD sentezi sırasında nikotinamid mononükleotide (NMN) ihtiyacı olan (V-faktör bağımlı bakteriler) ve NMN'e ihtiyacı olmayanlar (V-faktör bağımsız bakteriler) şeklinde ikiye ayrılmaktadır. V-faktör bağımsız bir bakteri olan *Haemophilus ducreyi*'den "nadV" olarak isimlendirilen bir gen klonlanmış ve bu gen ürününün Nampt enzimatik aktivitesi ve memelilerdeki PBEF ile yapısal bir homoloji gösterdiği bildirilmiştir [46]. Sonrasında ise 2002'de Rongvaux ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada PBEF, NAD biyosentezinde rol oynayan Nampt olarak tanımlanmıştır [6].



Şekil 2. 3. Nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt)'in enzimatik aktivitesi. Bu şekil, [16]'nolu kaynaktan alınmıştır.

Visfatin/PBEF/Nampt 2005 yılında Fukuhara ve ark. tarafından yapılan çalışma ile visceral adipoz dokudan sentezlenen yeni bir adipositokin olarak adipositokinler sınıfına eklenmiştir [4].

2.4.2. Visfatin'in Kimyasal Yapısı

Visfatin'i kodlayan gen ilk kez periferik insan lenfositlerinden izole edilmiştir. Yedinci kromozomun uzun kolunda bulunan 11 ekzon ve 10 introndan oluşan bu gen tarafından kodlanan visfatin, 52 kDa ağırlığında 491 amino asitten oluşan bir polipeptittir. Homodimer yapıda olan visfatin'in her monomeri 19- β tabaka ve 13-a heliks'den meydana gelmekte ve üç domain

(A,B,C) içermektedir [47]. 219. konumda bulunan aspartik asid (Asp), Nampt'in nikotinamide olan substrat spesifitesinden sorumlu olan kısımıdır [48, 49]. Bu ilişki, Asp ile nikotinamidin amid grubu arasında oluşturulan hidrojen bağı aracılığı ile sağlanmaktadır.

Günümüze kadar visfatin'in iki farklı formu tanımlanmıştır; intraselüler formu (iNampt) NAD-bağımlı enzimlerin aktivitesinin sürdürülmesinde temel bir rol oynamakta ve besin alımına yanıt, maturasyon ve hayatta kalma (survival) gibi hücrel metabolizma olaylarının düzenlenmesinde görev almaktadır. Ekstraselüler formu (eNampt) ise hem adipoz doku hem de pek çok farklı hücre tipi tarafından sentezlenip ekstraselüler çevreye salınmakta ve bu şekilde endokrin/parakrin etkiler gösterebilmektedir. Ekstraselüler visfatin'in molekül ağırlığının intraselüler formuna göre çok az daha yüksek olduğu gösterilmiş ve post-translasyonel modifikasyonlara uğrayabileceği bildirilmiştir [50].

2.4.3. Visfatin'in Biyosentez, Sekresyonu ve Dağılımı

Visfatin'in sentez ve salgılanmasındaki mekanizmalar halen tam olarak anlaşılamamıştır. Visfatin üretiminin değişik dokularda çeşitli mekanik ve humoral faktörlerle lokal olarak kontrol edildiği düşünülmektedir. Visfatin için gösterilen bir sekresyon sinyal sekansı bulunmamasına karşın [47, 49] golgi aparatı, endoplazmik retikulum (ER) ya da mikroveziküllerden bağımsız bir yol aracılığı ile salgılanabildiği gösterilmiştir [49, 51]. Brefeldin A ve monensin gibi ER, golgi bağımlı protein sekresyonunu inhibe eden bileşikler varlığında visfatin sekresyonunda bir değişiklik olmadığının gözlenmesi, visfatin'in klasik olmayan bir yolak aracılığı ile salgılandığını ortaya çıkarmıştır [52]. Visfatin, kalp ve kan damarları gibi pek çok dokuda eksprese edilmektedir. İnsan visfatin'i, omurgasız yumuşakçalar, bakteriler, balıklar, fareler ve sıçanlar gibi diğer türlerin visfatin'i ile yüksek derecede benzerlik göstermektedir [49].

Visfatin, temel olarak visceral adipoz dokuda eksprese edildiğinin gösterilmesi sonucu bu ismi almıştır. Çeşitli çalışmalarda plazma visfatin konsantrasyonlarının visceral yağ kütlesi ile güçlü bir şekilde korele olduğu buna karşın, subkutan yağ kütlesi ile zayıf bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır [4, 53]. Bunun yanı sıra; obezite, insülin direnci ve diyabeti olan bir deneysel fare modelinde plazma visfatin düzeylerinin obezite gelişim sürecinde artış gösterdiği, bu duruma visceral adipoz dokudaki visfatin mRNA düzeylerindeki artmanın eşlik ettiği bildirilmiştir. Buna karşın karaciğer ve subkutan adipoz dokudaki visfatin mRNA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir [4].

Visfatin sadece adipositlerden değil, aynı zamanda lenfosit, monosit, makrofaj, nötrofil, hepatosit, iskelet kası ve pnömositlerde de sentezlenmektedir [45]. Yapılan bir çalışmada visfatin'in asıl kaynağının

lökositler, özellikle de granülositler olduğu bildirilmiştir [54]. Adipoz doku adipositler yanısıra makrofaj ve fibroblastları da içermektedir. Viseral yağ dokusundaki makrofajlardan salınan visfatin düzeylerinin obezite ile korele biçimde arttığı gösterilmiştir [55]. İnsan adipoz dokuları kullanılarak yapılan bir çalışmada, visfatin gen ekspresyon düzeyleri ile makrofaj spesifik CD68 ve TNF- α gen ekspresyon düzeyleri arasında ve viseral adipoz doku visfatin mRNA düzeyleri ile plazma total kolesterol ve trigliserid düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar olduğu bildirilmiştir [56].

Plazma visfatin düzeylerinin sağlıklı kişilerde 15-50 ng/ml arasında olduğu [57], obezite, tip 2 DM, koroner arter hastalıkları, ateroskleroz ve metabolik sendrom gibi değişik klinik durumlarda yükseldiği [4, 58] bildirilmiştir. Bununla birlikte bu konudaki çalışmaların sonuçları arasında genel olarak bir tutarsızlık söz konusudur; bazı çalışmalarda söz konusu klinik durumlarda visfatin düzeylerinin sağlıklı gönüllülerden farklı olmadığı ya da daha düşük olduğu gösterilmiştir [59]. Benzer şekilde viseral yağ birikimi olan obez insanların plazma visfatin düzeylerinin, subkütan yağ birikimi olan kişilere göre daha yüksek olduğu bildirilmiş [60] ancak Berndt ve ark.'nın [61] çalışmasında visfatin mRNA ekspresyon düzeyleri açısından subkütan yağ birikimlilerle viseral yağ birikimliler arasında fark olmadığı saptanmıştır. Diğer taraftan, visfatin monosit/makrofajları aktive ederek direkt olarak vasküler hücrelerle etkileşen çok geniş bir hücre serisi tarafından salındığı için, sistemik dolaşımdaki visfatin'in yanısıra, lokal olarak sentezlenen visfatin'in de vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde parakrin bir etki oluşturabileceği düşünülebilir. Nitekim bu görüş ile uyumlu şekilde, koroner arter hastalığı olan kişilerde plak ruptur bölgelerinde visfatin ekspresyonunun arttığı ve visfatin'in potansiyel olarak plak destabilizasyonunda rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [62]. Deneysel hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların perivasküler yağ dokusunda bulunduğu [8] ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır.

2.4.4. Visfatin'in Fizyopatolojik Etkileri

Visfatin, fizyolojik etkilerini enzimatik ya da nonenzimatik (sitokin benzeri) mekanizmalar aracılığı ile göstermektedir. Visfatin'in sitokin benzeri etkilerini hangi mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştirdiği ise tam olarak bilinmemektedir [49]. Bazı çalışmalarda visfatin'in insülin reseptörü için bir ligand olabileceği bildirilmesine karşın [4, 63], diğer çalışmalarda interferon ile indüklenen transmembran protein 3'ün visfatin için bir membran reseptörü olabileceği gösterilmiştir [49]. Ancak visfatin için gerçek bir reseptör henüz keşfedilmemiştir. Pek çok çalışmada visfatin'in fizyolojik etkilerini temel olarak enzimatik mekanizmalar aracılığı ile gösterdiği bildirilmiştir [7, 50, 64]. Visfatin; inflamasyon, ateroskleroz, insülin duyarlılığı, kanser, hücre büyümesi, immünite, kardiyovasküler sistem ve vasküler homeostaz üzerinde çeşitli fizyopatolojik etkiler oluşturmaktadır.

2.4.4.1. Vasküler İnflamasyon ve Aterosklerozdaki Rolü

PBEF olarak da bilinen visfatin'in B hücre maturasyonunu uyardığı ve nötrofil apoptozunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Son yıllarda çeşitli hücre tipleri ve dokular üzerinde visfatin'in proinflamatuvar özellikleri olduğunu bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Visfatin'in bir inflamasyon belirteci (marker) olabileceği düşünülmektedir. İnsan monositleri ile yapılan bir çalışmada visfatin'in doza bağımlı şekilde IL-1 β , TNF- α ve IL-6 sentezini, yüksek konsantrasyonlarda ise antiinflamatuvar sitokinlerden interlökin-10 (IL-10) ve IL-1Ra (interlökin-1 reseptör antagonisti) ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte visfatin monositlerde, T hücre aktivasyonunda ko-stimulan olarak rol oynayan intraselüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), CD40 ve CD80'in yüzey ekspresyonunu da artırmaktadır [65]. Endotoksemili fareler ile yapılan bir çalışmada Nampt enzim inhibitörü APO866 ile visfatin'in enzimatik inhibisyonu sonrası inflamatuvar hücrelerde intraselüler NAD ve dolaşımdaki TNF- α düzeylerinde bir azalmanın gözlenmesi, inflamatuvar hücrelerdeki sitokin sentezinde visfatin'in enzimatik rolüne işaret etmektedir [66]. Lipopolisakkarit ile inflamatuvar yanıt oluşturulan nötrofillerde visfatin sentez ve salınımının arttığı ve visfatin'in apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sepsisli hasta nötrofillerinde de, visfatin ekspresyonunun arttığı ve visfatin'in bu hastalarda nötrofil apoptozunda gecikmeye neden olduğu bildirilmiştir [67]. Serum visfatin düzeylerinin dolaşımdaki interlökin-6 (IL-6), C-reaktif protein (CRP) ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi inflamatuvar markerlar ile pozitif korelasyon gösterdiği [65] ve visfatin düzeylerinin osteoartrit, akut akciğer hasarı, inflamatuvar barsak hastalığı, Crohn's hastalığı, infeksiyonla indüklenen erken doğum, sepsis ya da sedef hastalığı gibi inflamatuvar durumlarda arttığı bildirilmiştir [16].

Ateroskleroz; CRP, proinflamatuvar sitokinler, metalloproteinazlar, adezyon molekülleri ve selektinler gibi inflamatuvar belirteçlerin kronik artışıyla karakterize, inflamatuvar bir hastalıktır [68]. Kardiyovasküler hastalıklar kapsamında ele alındığında, visfatin'in düşük derecede kronik bir inflamasyon şeklinde karakterize edilen aterosklerozda bir marker olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür. Periaortik ve perikoronar yağ dokusundaki visfatin ekspresyonundaki artma ile koroner ateroskleroz gelişimi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu da perivasküler visfatin'in aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli bir parakrin rol oynayabileceğine işaret etmektedir [8].

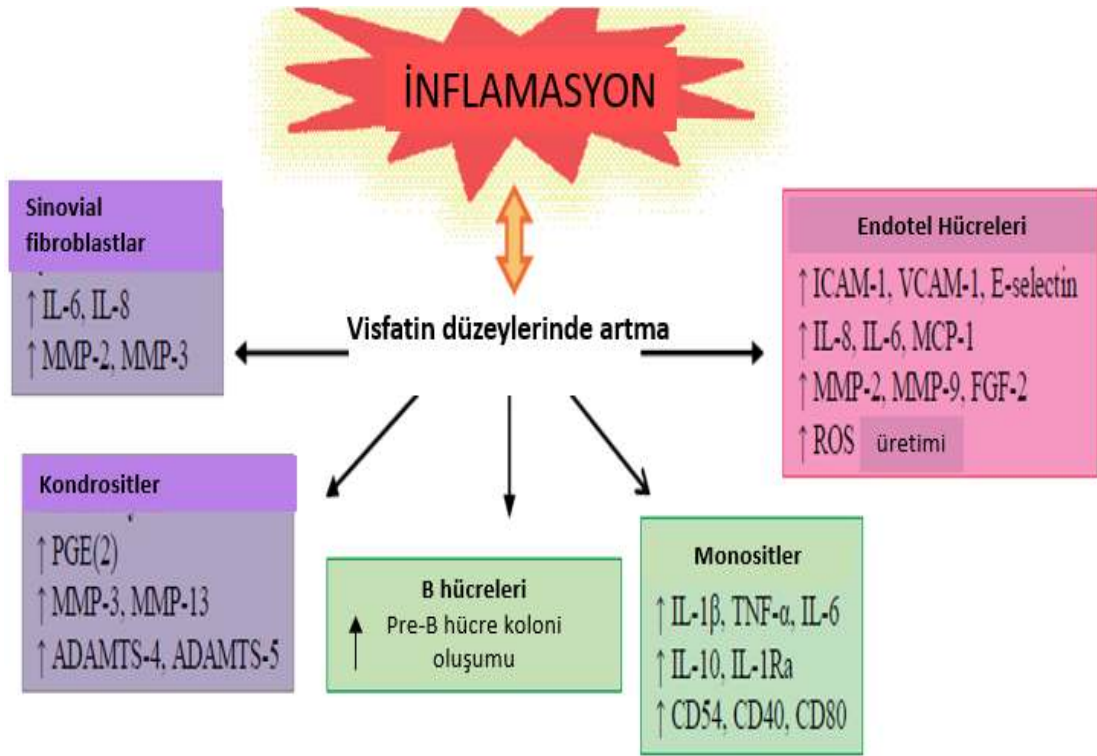
Visfatin'in endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, monosit ve makrofajlar gibi farklı hücre tiplerini aktive ederek vasküler inflamasyonu direkt olarak tetikleyebileceği bildirilmiştir. Visfatin'in insan umbilikal ven endotel hücre kültürlerinde inflamasyonla ilişkili transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa-B (NF- κ B)'yi aktive ettiği ve lökosit göçü ve erken proaterosklerotik olaylarda anahtar moleküller olan ICAM-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ya da E-selektin gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Visfatin; IL-6, IL-8 ya da

MCP-1 gibi çeşitli kemokin ve sitokinlerin endotel hücrelerinden salınımını artırmakta ve bu şekilde insan THP-1 monositlerinin endotel hücrelere adezyonunu kolaylaştırmaktadır. Visfatin ile indüklenen endotel hücre inflamasyonunda fosfoinositol-3 kinaz (PI3K), hücre içi reaktif oksijen türleri, mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK), ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK ½) ve p38'in rol oynayabileceği bildirilmiştir [49].

İnsan vasküler düz kas hücre kültürlerinde visfatin'in sırasıyla ERK ½ ve NF-κB'yi aktive ettiği ve bu şekilde vasküler hasar ve endotel fonksiyon bozukluğunda gözlenen proinflamatuvar maddelerin oluşumunda önemli bir enzim olan indüklenabilir nitrik oksid sentazın (iNOS) stimüle olduğu gösterilmiştir. Visfatin'in insan vasküler düz kas hücrelerindeki bu pro-inflamatuvar etkisine insülin reseptörünün aracılık etmediği, ancak Nampt intrinsik aktivitesiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir; visfatin'in pro-inflamatuvar etkisi farmakolojik Nampt inhibitörü olan APO866 ile önlenmektedir [69].

Visfatin aynı zamanda monositler üzerinde direkt etkisi ile de vasküler inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Visfatin periferik mononükleer hücreler tarafından TNF-α ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sentez ve salınımını artırmaktadır [62]. Visfatin bu şekilde makrofaj sağkalımını kolaylaştırarak vasküler inflamasyonun devam etmesine katkıda bulunmaktadır [70].

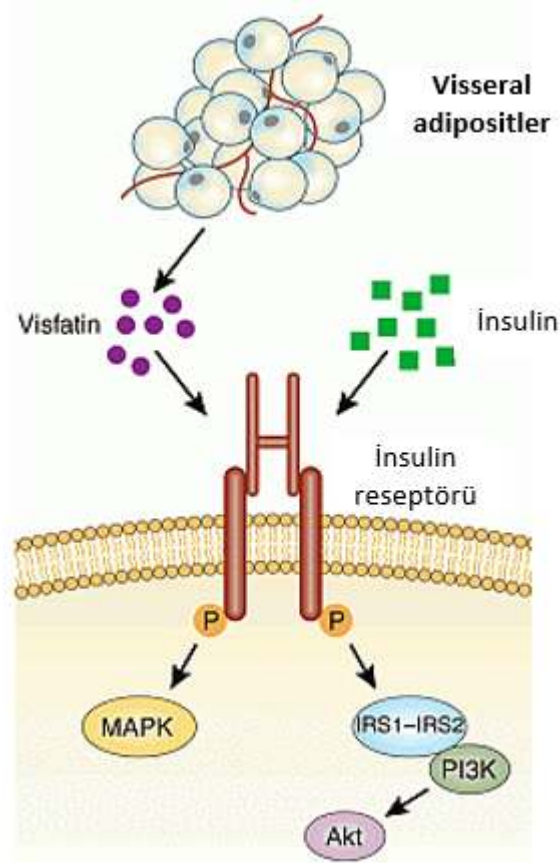
Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstraselüler matriks degradasyonuna aracılık eden ve aterosklerotik plak fragilitesi ve yıkımını kolaylaştıran önemli bir enzim grubudur. Visfatin'in endotel hücreleri ve monositlerde matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyon ve aktivitesini indüklediği gösterilmiştir. Koroner arter hastalığında plak ruptur bölgelerinde yüksek düzeyde visfatin ekspresyonunun olduğu ve visfatin'in potansiyel olarak plak destabilizasyonunda rol oynayabileceği bildirilmiştir [62]. Visfatin'in aynı zamanda aterosklerotik plakların vasküler düz kas hücrelerinde de bulunduğu tespit edilmiştir [70]. Bu bulgulara dayanarak visfatin'in bu plakların dayanıksızlığıyla (weakening) ilişkili bir molekül olabileceği öne sürülebilir. Dolaşımda bulunan ya da lokal olarak sentezlenen visfatin; sitokin ve kemokin salınımı, makrofaj sağkalımı, endotel hücrelere lökosit göçü, vasküler düz kas ve endotel hücre inflamasyonu ve matriks degradasyonunu indükleyerek aterosklerotik lezyonların gelişimine ve plak rüptürüne katkıda bulunabilir. Visfatin, inflamatuvar yanıtlarda rol oynayabileceği için başta ateroskleroz olmak üzere obezite ile ilişkili komplikasyonlarda potansiyel bir terapötik hedef olabilir [16, 71] [Şekil 2.4].



Şekil 2. 4. Visfatin'in inflamasyondaki rolü. Bu şekil, [71]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

2.4.4.2. Visfatin, İnsülin ve Glukoz İlişkisi

Visfatin'in insülin mimetik etkilere sahip olduğu ilk kez Fukuhara ve ark. tarafından yapılan çalışmada ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmada visfatin'in insülin reseptörünü, insülin den farklı bir bölgeye bağlanarak aktive ettiği bildirilmiştir. Visfatin, insülin ile benzer reseptör afinitesine sahip olmakla birlikte plazma konsantrasyonları insüline oranla 40-100 kat daha düşüktür [45]. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise visfatin'in insülin reseptörleri üzerine olan etkilerine yönelik olarak çelişkili sonuçlar bildirilmiştir [50, 72, 73] [Şekil 2.5].



Şekil 2.5. Visfatin'in insülin reseptörüne farklı bir bölgeden bağlanması. Bu şekil, [73]'nolu kaynaktan alınmıştır.

Biyokimyasal çalışmalar visfatin'in insülin sinyal ileti yolağını aktive ederek glukoz kullanımı üzerinde oldukça aktif olduğunu göstermiştir. Deney hayvanlarında plazma visfatin düzeylerinde 39 pikomol'ük azalma, plazma glukoz düzeylerinde 10-20 mg/dL'lik artışa yol açmaktadır. Bu veriler visfatin'in, plazma glukoz düzeylerini düşürmede fizyolojik bir role sahip olduğunu destekler niteliktedir. Ayrıca hücre kültürü çalışmalarıyla visfatin'in adiposit ve miyositlerde glukoz uptake'ni arttırdığı ve hepatositlerde glukoz salınımını baskıladığı gösterilmiştir. Dolayısıyla visfatin, bu etkileriyle insüline benzerlik göstermektedir. Ayrıca, dolaşımdaki visfatin düzeylerinin hiperglisemiyle paralel olarak arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, glukoz homeostazında visfatin'in patofizyolojik rolüne yönelik veriler sınırlıdır. Visfatin'in insülin mimetik ve plazma glukoz düzeylerini düşürücü etkisinin gösterildiği çalışmalarda, visfatin'in biyolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır [74]. Visfatin geni mutasyonlu farelerde kontrol grubuna göre glukoz ile stimüle edilen insülin sekresyonunun azaldığı ve plazma glukoz düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Ancak plazma visfatin düzeyleri ile insülin duyarlılığı, açlık insülin düzeyleri ve açlık plazma glukoz konsantrasyonları arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır [75]. Ayrıca obez kimselerde dolaşımdaki visfatin düzeylerine yönelik yapılan çalışmaların sonuçları da çelişkilidir [47, 76].

Son dönemde yapılan çalışmalar, PBEF/Nampt/visfatin'in pankreatik β -hücre fonksiyonunda önemli bir rolünün olabileceğine işaret etmektedir. Visfatin'in pankreatik β -hücre dizilerinde ERK1/2 ve PI3K/Akt aracılı yollar ile palmitat ile oluşturulan apoptozu inhibe ettiği ve β -hücre proliferasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir. Visfatin'in β -hücreleri üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır ancak, enzimatik aktivitesinin daha çok rol oynadığı üzerinde durulmaktadır. Nampt aktivitesi ile oluşan NMN'nin insülin transkripsiyonunda rol oynayan pankreatik duodenal homeobox-1 (PDX-1) ekspresyonunu artırabileceği bildirilmiştir. Visfatin'in β -hücreleri üzerinde zararlı mı, yararlı mı etkiler oluşturacağı henüz tam olarak bilinmemektedir. Düşük fizyolojik konsantrasyonlarda yararlı etkiler oluşturabileceğine dair bazı kanıtların olmasına karşın, daha yüksek patolojik konsantrasyonlarda zararlı etkiler oluşturabileceği ileri sürülmüştür [77].

2.4.4.3. Visfatin ve SIRT1 ilişkisi

Sirtuinler olarak adlandırılan Sessiz Enformasyon Düzenleyici 2 (Silent Information Regulator2/SIR2) protein ailesi [78], bakterilerden insanlara kadar tüm organizmalarda bulunan uzun yaşam proteinlerinin iyi bilinen bir grubudur [49]. Sirtuinler sınıf III histon deasetilaz grubundandır ve aktiviteleri için NAD'a ihtiyaç duymaktadır [79]. Evrimsel süreç boyunca korunan sirtuinler, NAD bağımlı deasetilaz ve ADP-ribozil transferaz aktivitesi için gerekli olan çekirdek domain adı verilen yapısal bir motif ile karakterizedirler. İnsanlarda 7 çeşit sirtuin (SIRT 1-7) proteini vardır [78]. Bunlardan SIRT1, çekirdek ve stoplazmada lokalize olmakta [79] ve memelilerde deasetilaz aktivitesi ile beslenme değişiklikleri ve çevresel uyarılara karşı biyolojik cevabın oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. SIRT1, açlığa yanıt olarak deasetilaz aktivitesiyle karaciğerde glikoneogenezi arttırmakta, glikolizi baskılamakta ve yağ asidi oksidasyonunu uyarmaktadır. Yağ dokusunda serbest yağ asidi mobilizasyonunu uyardığı, iskelet kasında ise yağ asidi oksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir [78]. Çeşitli çalışmalarda, özellikle SIRT1'in farklı dokularda beslenme değişikliklerine bağlı olarak metabolik yanıtı düzenleyebileceği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, SIRT1'in yaşlanma ile ilişkili patofizyolojik değişiklikleri geciktirdiği, T2DM ve Alzheimer hastalığı gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıklardan koruduğuna dair kanıtlar da bulunmaktadır [80].

Dimerik yapıda olan Nampt, intraselüler ve ekstraselüler olmak üzere 2 şekilde bulunmaktadır. eNampt, adipositlerden iNampt'a göre yaklaşık iki kat daha fazla sentez edilip salgılanmakta ve bu durum aktivitesinin adipositler tarafından sıkı bir şekilde düzenlendiğini düşündürmektedir. Buna karşın eNampt'ın asıl kaynağı tam olarak bilinmemektedir. eNampt, NMN'nin ekstraselüler sentezini sağlamak ve dokular tarafından dolaşımdan alınarak NAD sentezi için kullanılmaktadır [80]. SIRT1, aktivasyonu için NAD'a ihtiyaç duymaktadır. NAD biyosentezinin sistemik olarak düzenlenmesinde başlıca Nampt rol oynamakta [78] ve bu şekilde sentezlenen NAD sayesinde, SIRT1 proteini aktivitesini

gösterebilmektedir. Memelilerde NAD sentezindeki hız kısıtlayıcı bir enzim olan Nampt'ın (visfatin) kardiyak myositlerde ekspresyon oranındaki artmanın, intraselüler NAD miktarını arttırdığı bildirilmiştir [81]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, pankreatik β hücreleri, VDKH, myoblastlar, kardiyak myositler ve granülositler gibi hücrelerde de SIRT1 ve Nampt arasında sıkı bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir [78].

Nampt-SIRT1 yolağının; çeşitli metabolik yanıtlar, hücre farklılaşması ve ömrü, hücre ölümü ve diğer önemli biyolojik olayların düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Yapısal olarak az miktarda iNampt içeren dokular (özellikle pankreatik β hücreleri ve nöronlar) yeterli NMN üretemedikleri için eNampt tarafından sentezlenen dolaşımdaki NMN'e ihtiyaç duymaktadırlar [80]. Yaşlanma ile birlikte azalan sistemik NAD biyosentezi sonucu, özellikle az miktarda iNampt içeren pankreatik β hücreleri ve nöronlar fonksiyonlarını tam olarak yerine getirememektedirler [78]. Bu durumda, insülin sekresyonu ve santral metabolik yanıtlarda değişiklikler meydana gelmekte ve diğer periferik doku ve organların fizyolojilerinin bozulması ile tüm vücut etkilenebilmektedir [82]. Pankreatik β hücrelerinin etkilenmesi ile T2DM, nöronların etkilenmesi ile demans ile seyreden hastalıklar ve diğer doku ve organların etkilenmesine bağlı olarak da yaşlanma ile ilişkili diğer komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir [78].

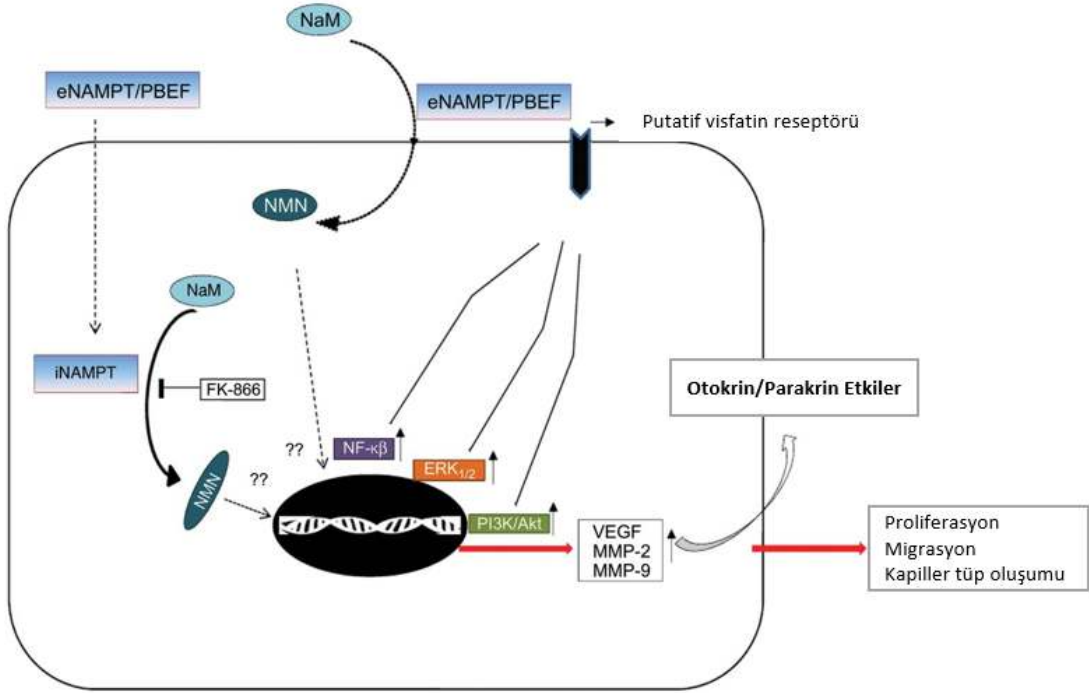
2.4.4.4. Visfatin ve Kanser

Visfatin ekspresyonunun çeşitli kanser tiplerinde arttığı bildirilmiştir [83]. Visfatin (özellikle iNampt) ekspresyonu başlıca kolorektal kanserlerde artmaktadır [84, 85]. Farklı tümör hücre kültürleri ile yapılan çalışmalarda visfatin ekspresyonu artmış olan hücrelerin apoptoza ve kemoterapötik ajanlara daha dirençli olduğu gösterilmiştir [83].

Tümörlerde kronik inflamasyonun varlığı kanser progresyonu ve kemoterapötiklere direnç bakımından önem taşımaktadır [83]. Pankreatik adenokarsinom hücre kültürleri ile yapılan bir çalışmada, IL-1 ile visfatin ekspresyonunun indüklendiği gösterilmiştir [86]. Kanser progresyonunda önemli bir rolü olan anjiogenez, solid tümörlerin santral bölgesinde gelişen hipoksi ile tetiklenmektedir [83]. MCF7 meme kanser hücre kültüründe, hipoksinin visfatin mRNA ve protein seviyesini artırdığı ve visfatin geninin, hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa (HIF-1 α) ile indüklendiği bildirilmiştir [87].

SIRT1, aktivasyon için NAD'a ihtiyaç duymakta [81] ve visfatin/Nampt, NAD biyosentezinin sistemik olarak düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır [78]. Visfatin ekspresyonunun insan prostat kanser hücrelerinde SIRT1 ile birlikte arttığı, visfatin inhibe edildiğinde ise bu hücrelerde hücre büyümesi, invazyon ve koloni oluşumunun anlamlı bir şekilde baskılandığı bildirilmiştir [88]. SIRT1 deasetilaz aktivitesi ile birlikte

visfatin ekspresyonundaki artışın, bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün transkripsiyonel aktivitesini baskılayarak tümör hücrelerini ölümden koruduğu da gösterilmiştir [89]. Visfatin aynı zamanda meme ve prostat kanser hücrelerinde, tümör metastazı ve anjiogeneizde önemli rol oynayan MMP-2 ve MMP-9 ile vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) ekspresyonunu da arttırmaktadır. Visfatin ekspresyonundaki artmanın tümör progresyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir [90-92] [Şekil 2.6].

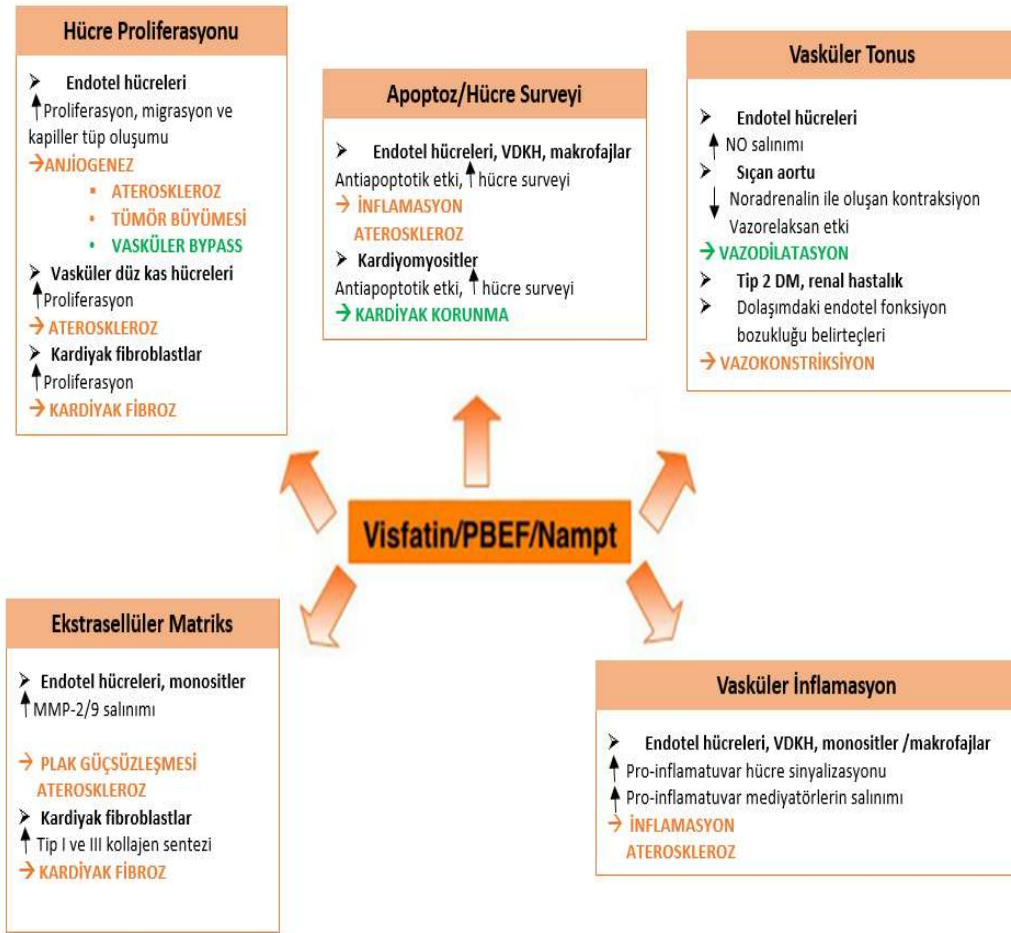


Şekil 2.6. Visfatin ve endotelial anjiogeneiz. Bu şekil, [92]'nolu kaynaktan alınmıştır.

Visfatin'in kanser tedavisi için yeni bir terapötik hedef olabileceği de giderek ilgi çeken tartışma konularından biridir [93]. Nampt aktivitesinin inhibisyonu, tümör büyümesini destekleyen yeni damar oluşumunu kısıtlayabilir. Nampt inhibitörleri olan FK866 (APO866) ve CSH-828 bu alanda çeşitli klinik araştırmalarda kullanılmaktadır [94, 95].

2.4.4.5. Visfatin'in Kardiyak Etkileri

Visfatin'in kardiyovasküler fonksiyonlar üzerinde direkt etkilerini inceleyen çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bunların bir kısmında visfatin'in myokardiyal fibroz patogeneğinde rol oynadığı bildirilmiş, bazı çalışmalarda ise potansiyel kardiyoprotektif özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür [16] [Şekil 2.7].

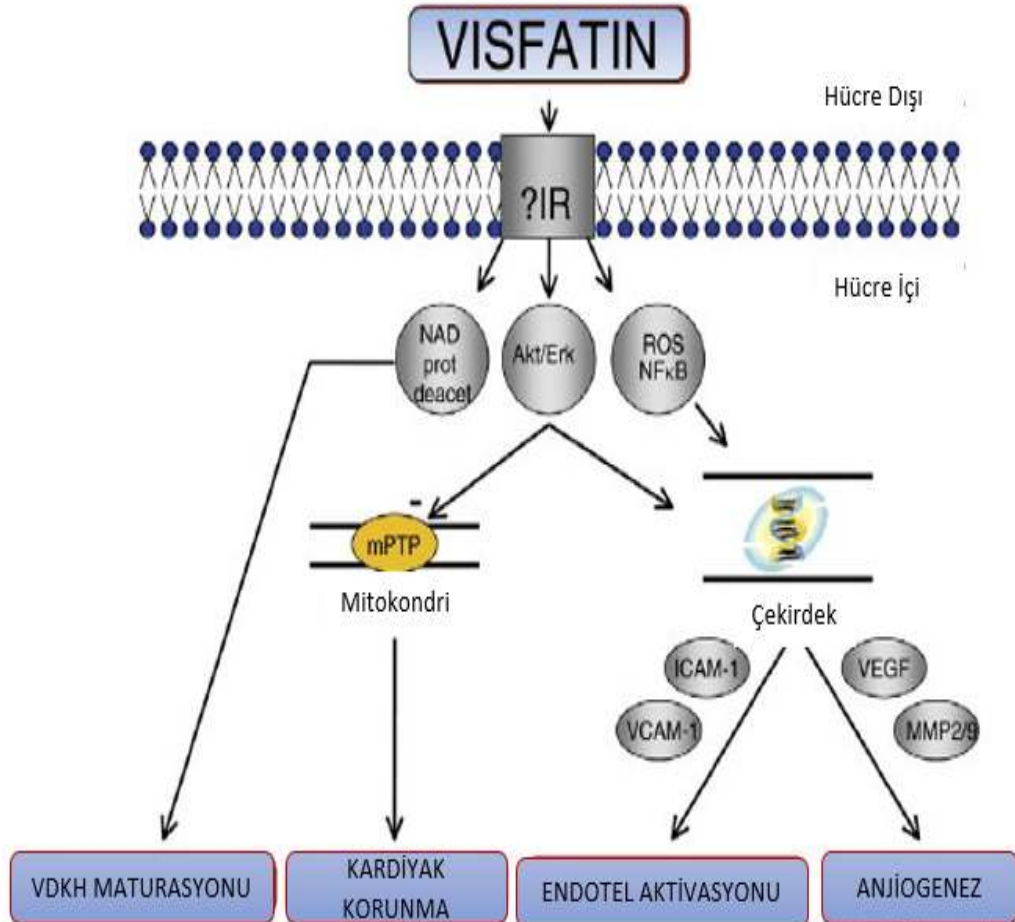


Şekil 2. 7. Visfatin/BREF/Nampt'in kardiyovasküler sistemdeki başlıca etkileri. Bu şekil, [16]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Kardiyak fibroblastların proliferasyonu ve ekstraselüler matris fazlalığı myokardiyal fibrozun temelini oluşturmaktadır. İn vitro çalışmalarda visfatin'in kardiyak fibroblast hücre kültürlerinde DNA sentezini ve proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Kardiyak fibroblast hücrelerinde visfatin ile prokollajen I ve II'nin ekspresyonu ve protein düzeylerinin artması bu kollajenlerin salınımında artmaya neden olmuştur. Kardiyak fibroblastların visfatin ile stimülasyonu, Akt/protein kinaz B (PKB), MAPK p38 ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) aktivasyonuna neden olmaktadır [96]. Visfatin'in periadventisiyal ve apikal epikardiyal adipoz dokuda eksprese edilmesi, hem lokal olarak üretilen hem de dolaşımdaki visfatin'in myokardiyal fibrozisi indükleyerek zararlı bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir [8].

Bu bulguların aksine, visfatin'in myokardiyal reperfüzyonda direkt kardiyoprotektif etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Farelerde oluşturulan deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde reperfüzyon sırasında intravenöz bolus şeklinde visfatin uygulanması infarkt alanında yaklaşık % 20'lik bir azalma ile sonuçlanmıştır [66]. Diğer bir çalışmada

hipoksi ve reperfüzyona maruz bırakılan fare kardiyomyositlerinde reperfüzyon sırasında visfatin uygulanmasının, oksidatif stres ile mitokondriyal permeabilite geçiş poru'nun (mPTP) açılmasını ve bu şekilde hücre ölümünü geciktirdiği gösterilmiştir [Şekil 2.8]. Spesifik olmayan bir mitokondriyal kanal olan mPTP, reperfüzyonun ilk dakikalarında kardiyomyosit hücrelerinde ölüme neden olmaktadır [97, 98].



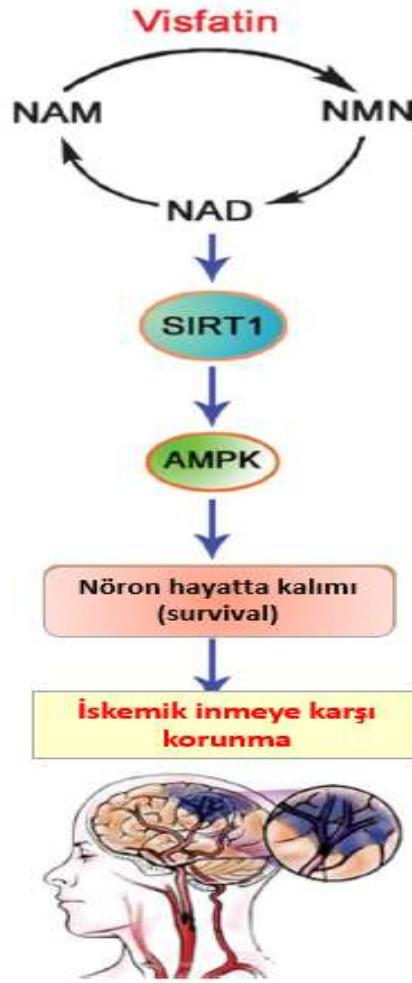
Şekil 2.8. Visfatin'in kardiyovasküler etkilerinde rol oynayan sinyal ileti yolları. Bu şekil, [98]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Visfatin'in iskemik zedelenmeye karşı kardiyomyositleri hangi mekanizma ile koruduğu anlaşılamamıştır. Ekstraselüler visfatin'in Nampt aktivitesi aracılığı ile hücre içi NAD^+ düzeylerini yükselterek oksidan strese karşı kardiyomyositlerin direncini artırabileceği öne sürülmektedir. Visfatin'in kalpte iskemi reperfüzyon zedelenmesinde potansiyel rolünü belirlemek için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır [16].

2.4.4.6. Visfatin ve İskemik İnme

İskemik inme, genellikle karotis ve intrakraniyel aterosklerotik lezyonların neden olduğu beyin arteriyel kan akımında akut blokaj sonucu meydana gelmektedir [99]. İskemik kalp hastalığı ve iskemik inmenin altında yatan patofizyolojik mekanizmaların çoğu benzer olmasına karşın, kardiyak doku ve santral sinir sistemi arasındaki farklılıklar her iki hastalığın progresyonunu ve sonuçlarını farklı şekilde etkileyebilmektedir. İskemik kalp hastalığı ile karşılaştırıldığında visfatin'in iskemik inmedeki rolü daha az çalışılmıştır. Plazma visfatin düzeylerinin iskemik inmeli hastalarda arttığı gösterilmiş ve hastalıkla ilişkili bağımsız bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür. Plazma visfatin düzeylerinin ciddi travmatik beyin hasarı olan kişilerde kontrol grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiştir [100].

Visfatin'in nöronlarda glial hücrelere göre daha fazla eksprese edilmesi, nöronların biyolojik fonksiyonlarında visfatin'in rolüne işaret etmektedir. Visfatin'in *in vivo* ve *in vitro* modellerde nöroprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir [99]. Orta serebral arter oklüzyonu ile beyinde iskemi oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir çalışmada, artmış visfatin ekspresyonu olan grupta infarkt alanında anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir [99]. Diğer bir çalışmada ise, primer kortikal nöron kültürlerinde visfatin ekspresyonu arttırılmış hücrelerin oksijen-glukoz kısıtlaması sonrası daha uzun yaşadıkları gözlemlenmiştir [101]. Zhang ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada ise visfatin geni silinmiş fareler kullanılarak visfatin'in serebral iskemide nöroprotektif rol oynadığı gösterilmiştir; yabanıl farelere göre visfatin geni silinmiş farelerde dejeneratif nöronların daha yüksek düzeyde olduğu gözlemlenmiştir [102]. Visfatin, nöronal apoptoz ve nekroz inhibisyonu aracılığı ile serebral iskemide endojen bir nöroprotektif ajan gibi davranmakta ve bu etkilerini SIRT-1 bağımlı adenosin monofosfat aktive edici protein kinaz (AMPK) yoluyla üzerinden gerçekleşmektedir [49, 99] [Şekil 2.9].



Şekil 2.9. Visfatin'in iskemik inmedeki koruyucu rolü için öne sürülen mekanizmalar. Bu şekil, [101]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

2.4.4.7. Visfatin ve İskemik Kalp Hastalığı

İskemik kalp hastalığı genellikle koroner arterlerdeki ateroskleroza bağlı olarak kalp kasına gelen kanın azalmasıyla karakterize bir hastalıktır. Çok sayıda klinik çalışmada plazma visfatin düzeyleri ve iskemik kalp hastalığı arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Koroner arter hastalığı bulunan hastalarda plazma ve abdominal adipoz doku visfatin düzeylerinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve koroner arter hastalığı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir [103-106]. Ayrıca asemptomatik koroner arter hastalığı bulunan hastalarda da plazma visfatin düzeylerinde artma saptanmıştır [107]. Bu sonuçlar plazma visfatin düzeylerinin koroner arter hastalığının güçlü bir belirteci (biomarker) olabileceğine işaret etmektedir. Çeşitli çalışmalarda, visfatin'in kardiyomyositlerde önemli bir sağkalım düzenleyicisi olabileceği ve iskemi sırasında gözlenen visfatin düzeylerindeki artmanın kardiyomyosit sağkalımını sağlayan kompensatuvar bir mekanizma olabileceği bildirilmiştir [81, 108-110].

2.4.4.8. Visfatin ve Hipertansiyon

Obezite, endotel ve renal fonksiyon bozuklukları ile ilişkili olduğu için hipertansiyon gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir [111]. Visfatin düzeylerinin obezitede arttığı bildirilmiştir [78]. Metabolik bozukluklara sahip hafif derecede obez hipertansif sıçanlarda yapılan bir çalışmada, plazma visfatin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ve vücut ağırlığı, yağ dokusu ağırlığı ve plazma lipid düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır [112]. Buna karşın obezitenin eşlik etmediği bir deneysel hipertansif sıçan modeli olan spontan hipertansif sıçanlarda visfatin düzeylerinin plazma glukoz, lipid, insülin ve yağ doku ağırlığı ile korele olmadığı bildirilmiştir [113]. Yeni hipertansiyon teşhisi almış 33 erkek hastada yapılan bir çalışmada ise plazma visfatin düzeylerinin kan basıncı, insülin direnci ve inflamasyon ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir [114].

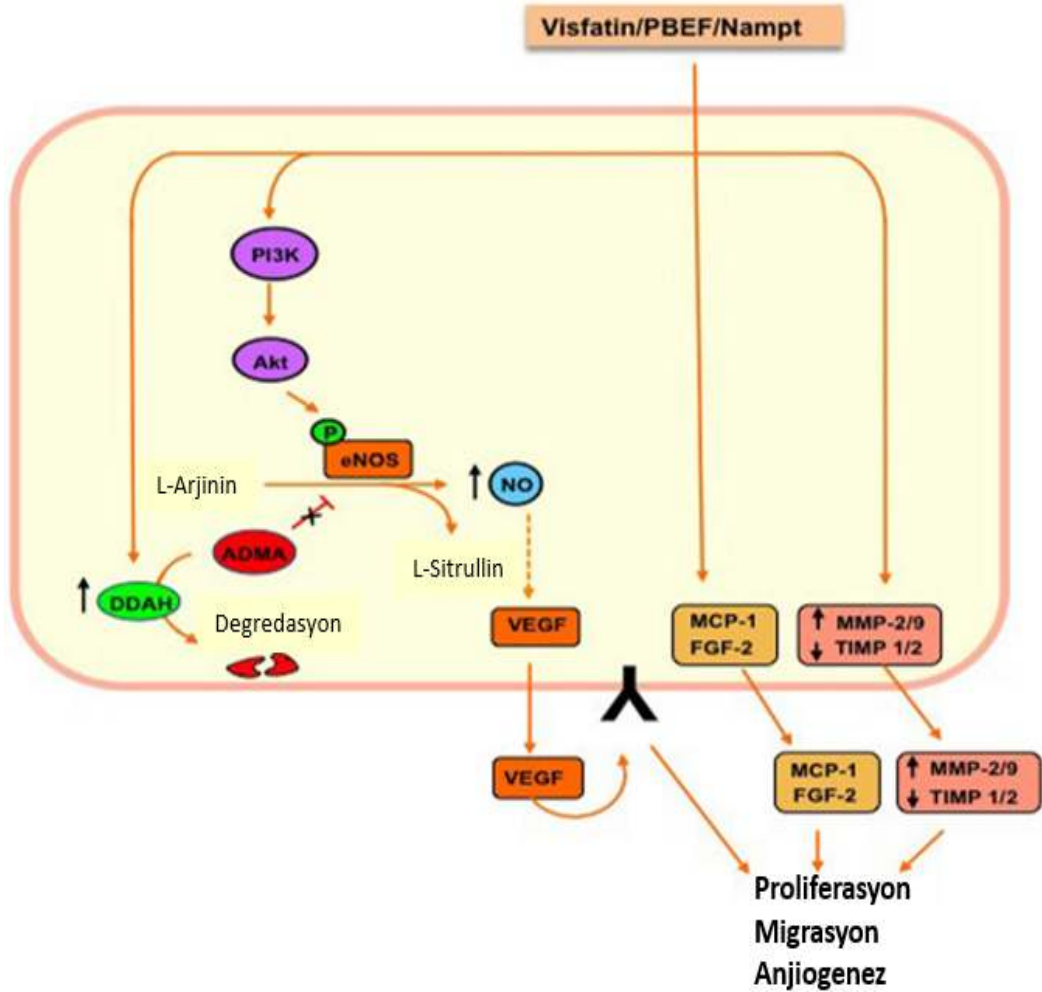
2.4.4.9. Vasküler Hücre Proliferasyonu Üzerine Etkileri Endotel Hücreleri Üzerine Etkileri:

Visfatin'in endotel hücrelerinde eksprese edildiğinin bildirilmesine karşın bu hücrelerden salgılandığına dair bir kanıt bulunmamaktadır [9, 49]. Visfatin'in pro-anjiogenik bir molekül olduğu bildirilmiştir. Anjiogeneze için önemli bir faktör olan hipoksi ile visfatin gen transkripsiyonunun aktive edildiği gösterilmiştir [115]. Visfatin'in insan umbilikal ven endotel hücre kültürlerinde konsantrasyon bağımlı bir şekilde hücre proliferasyonu, migrasyon ve kapiller benzeri tüp oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir [9, 115, 116]. İn vivo çalışmalarda visfatin'in fonksiyonel yeni damar üretimini indüklediği saptanmıştır [115]. Ayrıca deneysel olarak tek taraflı ekstremite iskemisi oluşturulan farelere visfatin içeren plazmid enjeksiyonu, visfatin uygulanmamış farelerle karşılaştırıldığında ekstremite perfüzyonunda düzelme oluşturmuştur [9].

Visfatin'in endotel hücrelerdeki proliferatif etkilerinin en azından bir kısmından endotel proliferasyonu ve yeni damar oluşumunda anahtar bir molekül olan VEGF'nin sorumlu olabileceği bildirilmiştir [92]. Visfatin aynı zamanda VEGF'nin anjiogenik etkilerine aracılık eden VEGF reseptör 2'yi upregüle etmektedir [92, 117].

NO, anti-trombotik ve anti-inflamatuar etkileri olan önemli bir moleküldür. Visfatin'in insan endotel hücrelerinde pro-anjiogenik etkisinde eNOS ekspresyonu ve aktivitesindeki artma ile gerçekleşen NO artışının rol oynadığı öne sürülmüştür [9]. Bunun yanı sıra visfatin'in eNOS inhibitörü L-arjinin analoğu asimetrik dimetil arjinini (ADMA) hidroliz eden bir enzim olan dimetilarginin dimetilaminohidrolazı (DDAH) aktive ettiği gösterilmiştir [116]. Ayrıca visfatin ekstraselüler matriks degradasyonu ile anjiogenezi kolaylaştıran enzimler olan MMP-2 ve MMP-9'un ekspresyonu, protein düzeyleri ve aktivitesini artırmakta, MMP doku inhibitörleri TIMP-1 ve 2 düzeylerini ise azaltmaktadır [92]. Visfatin ile oluşan anjiogeneze hem MCP-1

[118], hem de fibroblast büyüme faktörü-2'nin (FGF-2) [119] aracılık ettiği bildirilmiştir [Şekil 2.10].



Şekil 2.10. Visfatin/BREF/Nampt ile indüklenen endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonuna aracılık eden temel sinyalizasyon yolları. Bu şekil, [16]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Visfatin ile indüklenen endotel hücre proliferasyonuna aracılık eden sinyalizasyon molekülleri arasında PI3K/Akt ve MAPK'lardan ERK 1/2'nin de rol oynayabileceğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır [92, 115, 118, 119].

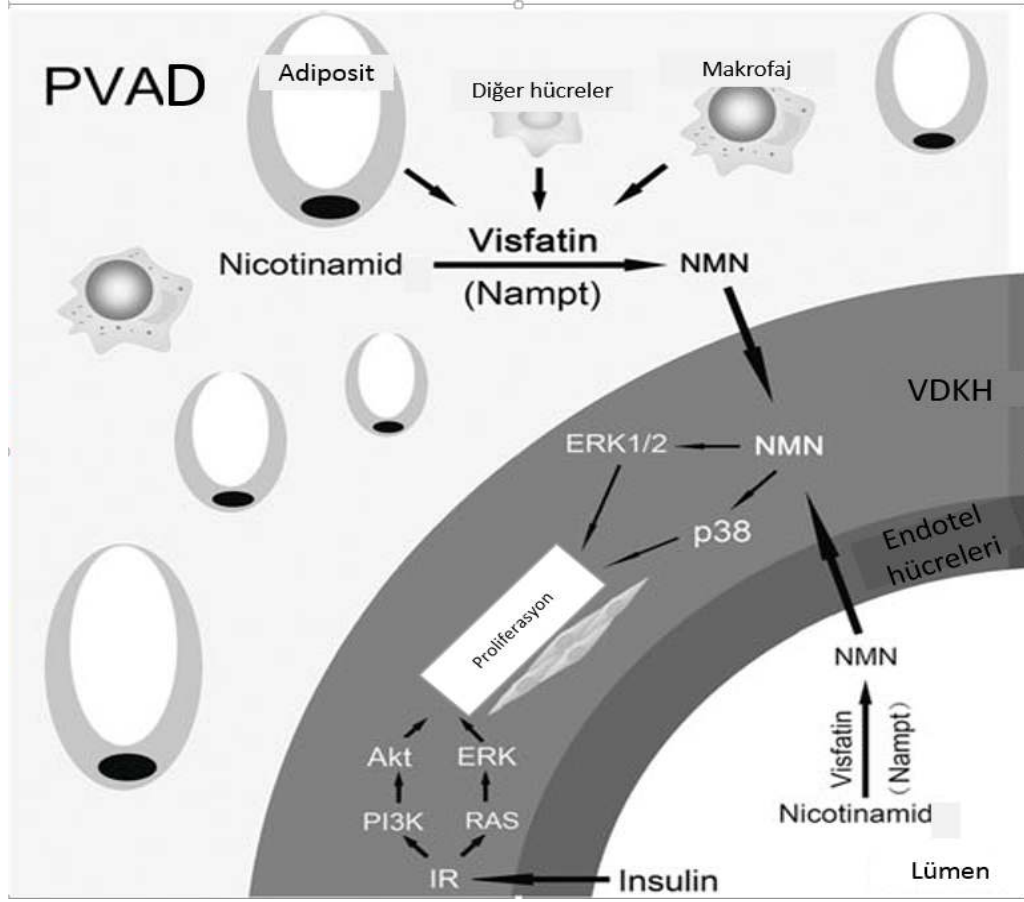
Visfatin'in proanjiogenik özellikleri ile makrovasküler periferik ekstremiteler iskemisi gibi kan akımının kısıtlanmasıyla karakterize patolojik durumlarda potansiyel bir terapötik ajan olabileceği öne sürülebilir. Diğer yandan visfatin, iskemik kalp hastalığı, diyabet ya da ateroskleroz gibi klinik durumlarda anjiogenezin düzenlenmesi ile ilişkili bozukluklarda da rol

oynayabileceği için bu hastalıklarda da yeni bir farmakolojik hedef durumuna gelebilir [119].

Vasküler Düz Kas Hücreleri Üzerine Etkileri:

Vasküler düz kas hücrelerinden visfatin sekresyonuna dair bir kanıt olmamasına karşın, dolaşımdan gelen ya da perivasküler adipoz dokudan (PVAD) salınan visfatin'in bu hücreleri etkileyebileceği bilinmektedir. PVAD, hemen hemen tüm kan damarlarını çevreleyen adipoz dokudur. PVAD'ın lokalizasyona bağlı olarak farklı oranlarda hem kahverengi hem de beyaz adipoz dokudan oluştuğu gösterilmiştir [120]. Örneğin, farelerde koroner arter ve torasik aort etrafındaki PVAD'ın temel olarak kahverengi adipoz doku, iliofemoral arterler etrafındaki PVAD'ın her iki tip adipoz dokuyu da eşit oranda, abdominal aort ve mezenter arterler etrafındaki PVAD'ın ise temel olarak beyaz adipoz doku içerdiği bildirilmiştir [121]. Benzer şekilde Sprague Dawley sıçanlarda torasik aort etrafındaki PVAD'ın temel olarak kahverengi adipoz doku, abdominal aort ve mezenter arter etrafındaki PVAD'ın ise büyük ölçüde beyaz adipoz dokudan oluştuğu gösterilmiştir [7]. İnsanlarda aort ve onun ana dalları olan subklavyen, karotis, interkostal ve renal arterlerin etrafındaki PVAD'ın temel olarak kahverengi yağ dokusu içerdiği gösterilmiştir [121]. Koroner arterleri içeren çalışmaların sonuçları çelişkilidir; bazı çalışmalarda koroner arter etrafındaki PVAD'ın temel olarak beyaz, diğer çalışmalarda ise kahverengi adipoz dokudan oluştuğu bildirilmiştir [122]. PVAD, yüksek oranda adiposit yanısıra preadiposit, endotel hücre, fibroblast, lökosit ve makrofajlar gibi diğer hücreleri de içermektedir. Bu nedenle PVAD'ın kardiyovasküler sistemde önemli etkileri olabileceği ileri sürülmüştür [49]. PVAD tarafından çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör bileşiklerin salındığının gösterildiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır [123, 124]. Visfatin'in PVAD'da subkutan adipoz dokuya göre 3.7, viseral adipoz dokuya göre ise 1.8 kat daha fazla oranda eksprese edildiği bildirilmiştir. Aynı zamanda visfatin PVAD'dan da salgılanabilmektedir [7].

Vasküler düz kas hücre proliferasyonu, aterosklerotik lezyon gelişiminde önemli bir faktördür. Visfatin, endotel hücreleri yanısıra vasküler düz kas hücreleri için de bir büyüme faktörü olarak rol oynayabilir. Visfatin içeren perivasküler yağ dokularının Nampt enzimatik aktivitesi aracılığı ile sıçan aort düz kas hücre kültürlerinde DNA sentezi ve hücre proliferasyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada visfatin'in proliferatif etkisi Nampt reaksiyonunun son ürünü tarafından taklit edilmiş ve Nampt blokörü FK866 (ya da APO866) ile önlenmiştir. Vasküler düz kas hücre kültürlerinde visfatin ile oluşan proliferasyona ERK ½ ve p38 MAPK aktivasyonu aracılık etmektedir [7] [Şekil 2.11]. Visfatin'in vasküler düz kas hücrelerinde büyümeyi indükleyici etkisi, aterosklerotik lezyon gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 2.11. Visfatin'in kan damarları üzerindeki parakrin ve endokrin etkileri. Bu şekil, [7]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Vasküler düz kas hücrelerinde visfatin ekspresyonunun azalmasının apoptozu artırdığı, aşırı ekspresyonunun ise hücre sağkalımını kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Vasküler düz kas hücrelerinin maturasyonu için gerekli bir protein grubu olan sirtuinlerden SIRT1'in deasetilaz aktivitesi, aşırı visfatin ekspresyonu ile artmaktadır. Visfatin aşırı ekspresyonu SIRT1 bağımlı bir mekanizma aracılığı ile p53 proteininin yıkımını artırarak vasküler düz kas hücrelerinin sağkalımını uzatmaktadır. Bu bulgulara dayanarak endojen visfatin'in, düzenleyici proteinlerin yarı ömürlerinin regülasyonunda önemli bir rol oynayabileceği söylenebilir. Dolayısıyla visfatin ile SIRT1 arasındaki ilişkiler oldukça ilgi çekmektedir. SIRT1 kromatinle ilişkili proteinler, transkripsiyon faktörleri, hücre savunmasında gerekli düzenleyici moleküller, metabolizma ve sağkalım üzerinde modifiye edici etkilerle hücre ömrünü uzatabilir. SIRT1'in deasetilaz fonksiyonu NAD^+ bağımlıdır, sağkalım üzerine etkisi de NAD^+ metabolizmasıyla ilişkilidir. Ayrıca insan vasküler düz kas hücrelerinde SIRT1 aktivitesinin visfatin aktivitesine bağımlı olduğu gösterilmiştir. Dahası, yaşlı (aging) vasküler düz kas hücrelerinde artan SIRT1 ekspresyonunun, sadece artmış visfatin'in ekspresyonu durumunda hücre sağkalımında uzamaya yol açabileceği gösterilmiştir. Bu sonuçlar SIRT1'in vasküler düz kas hücrelerinde yaşlanmayı geciktirebileceğini ancak SIRT1'in bu etkisinin visfatin ile kontrol edildiğini ortaya koymaktadır. Buna

karşın *in vivo* koşullarda visfatin'in yaşlanmaya karşı (anti-aging) bir etkisinin olup olmadığı henüz bilinmemektedir [49].

2.4.4.10. Vasküler Tonus ve Reaktivite Üzerine Etkileri

Visfatin direkt olarak vasküler kontraktileti etkileyebilir ancak, visfatin'in vasküler tonusun düzenlenmesi üzerine direkt etkilerini gösteren çalışmaların sayısı oldukça kısıtlıdır. Ayrıca bu çalışmalardan elde edilen bulgular da oldukça çelişkilidir; *in vitro* çalışmalarda visfatin'in insan umbilikal veni ve koroner endotel hücrelerinde eNOS ekspresyonu ve aktivitesini stimüle ederek NO üretiminde ve sGMP oluşumunda artmaya neden olduğu gösterilmiştir [9]. Benzer şekilde, visfatin'in izole sıçan aortu ve mezenterik arterinde eNOS aktivasyonu ile gevşetici etki oluşturduğu bildirilmiştir [10]. Bu bulgularla zıt olarak, tip 2 DM ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda brakial arterin akım aracılı gevşemesi (FMD) ile plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, bu hastalarda renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalma ile birlikte FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğunda düzelme olduğu saptanmıştır [13]. Yakın zamanda gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında Namp1 aktivitesi aracılığıyla endotel bağımlı gevşemelerde bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir [14]. Tüm bu çelişkili sonuçlar visfatin'in vasküler dokuda fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların net bir şekilde ortaya konulabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğuna işaret etmektedir.

2.5. Hipotez

Bildiğimiz kadarıyla visfatin'in insanlarda KABG olarak sık bir şekilde kullanılan sol ITA preparatlarında fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar'ın belirlenmesine ilişkin herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu projede visfatin'in diğer bazı damarlarda olduğu gibi insan ITA preparatlarında da fonksiyonel etkiler oluşturabileceği hipotezi araştırılmış ve visfatin'in insan ITA preparatlarındaki olası fonksiyonel etkilerinde rol oynayan mekanizma/lar'ının incelenmesi hedeflenmiştir. Bu şekilde visfatin'in çeşitli vasküler dokulardaki etkilerine yönelik çelişkili sonuçlara açıklık getirilmeye çalışılmıştır. Ayrıca elde edilecek sonuçlarla, dolaşımdaki visfatin konsantrasyonlarının ITA greftleri üzerindeki olası etkilerine yönelik literatürdeki ilk verilerin elde edilerek, kalp damar cerrahisi kliniğine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

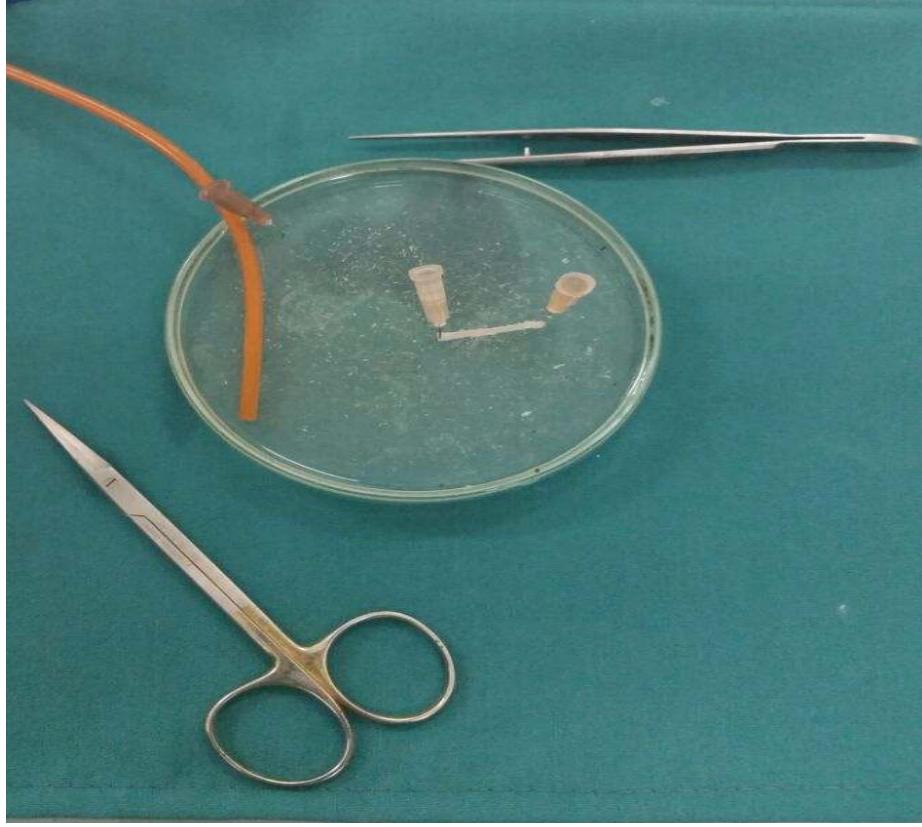
GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzole ITA Örneklerinin Elde Edilişi ve Deney İçin Hazırlanışı

Deney gruplarındaki hastalar kalp-damar cerrahisi tarafından KABG operasyonuna alındığında, cerrahisi sırasında kullanılan ITA'dan artan (redundant) damar örnekleri 4°C'deki %95 O₂ ve %5 CO₂ içeren gaz karışımı ile tamponlanmış fizyolojik tuz solüsyonuna (PSS) konularak hızlı bir şekilde laboratuvar ortamına taşındı [Şekil 3.1]. Artere zarar verilmeden etrafındaki bağ dokusu temizlendikten sonra [Şekil 3.2], 3-4 mm genişliğinde halkalar şeklinde kesildi [Şekil 3.3] ve hazırlanan preparatlar, içerisinde PSS bulunan (mM: NaCl 118, KCl 5, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5 ve glukoz 11.2) 20 ml'lik organ banyolarına asıldı [Şekil 3.4]. Banyolardaki solüsyonun sıcaklığı sürekli ölçüm yapan bir termometre aracılığıyla 37°C olacak şekilde sabit tutuldu. Solüsyon pH'sı 7.4 olacak şekilde %95 O₂-%5 CO₂ ile deney boyunca gazlandırıldı. ITA halkaları daha önceden belirlenen 2 g istirahat gerilimi altında her 15 dakikada (dk.) bir yıkanarak 60 dk. boyunca dinlendirildi. ITA yanıtları bilgisayar bazlı bir veri toplama sistemine (MP-35, Commat Ltd., Ankara) bağlı izometrik transdüserler (FDT10, Commat Ltd., Ankara) aracılığıyla kaydedildi. İzole organ banyolarında insan arteriyel halka preparatının temsili şekli aşağıda verildi [125] [Şekil 3.5]. İlaç konsantrasyonları banyo solüsyonunda oluşan molar konsantrasyonları olarak ifade edildi.



Şekil 3.1. KABG sırasında temin edilen rudimenter insan ITA segmentini içeren cerrahi preparat.



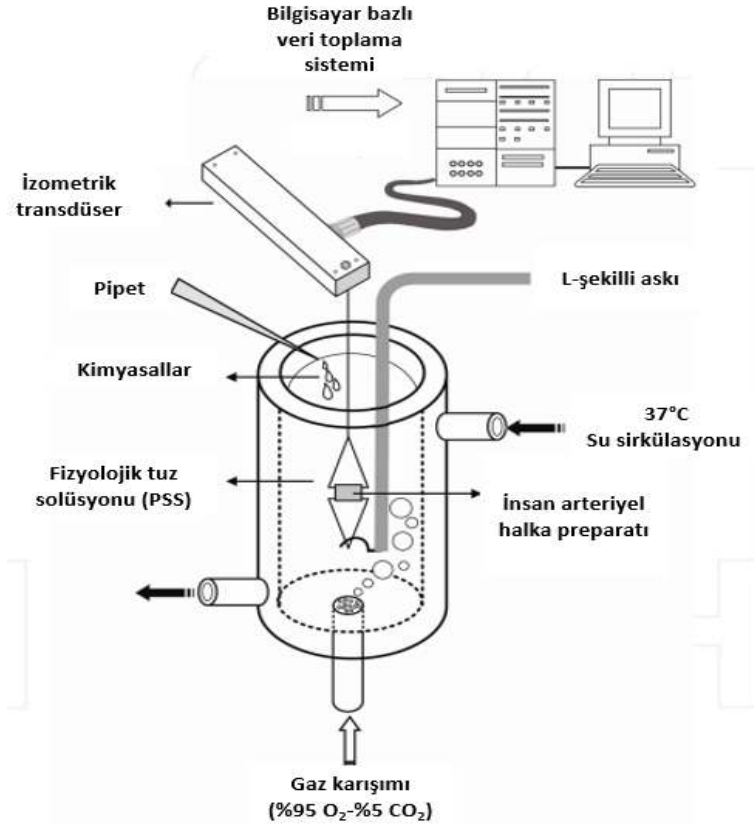
Şekil 3.2. Çevre dokulardan temizlenmiş olan insan ITA segmenti.



Şekil 3.3. Halka şeklinde hazırlanmış insan ITA preparatları.



Şekil 3.4. İzole organ banyosuna asılmış insan ITA preparatları ve kayıt sistemi.



Şekil 3.5. İzole organ banyolarında insan arteriyel halka preparatının temsili şekli. Bu şekil, [125]'nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

3.2. İzole Organ Banyosunda İn Vitro Deneyler

Deneyler endoteli sağlam ve zedelenmiş ITA halkalarında gerçekleştirildi. Endotel sağlamlığı 1 saatlik dinlenme periyodundan sonra submaksimal konsantrasyonda (10^{-6} M) fenilefrinle (PHE) kasılan dokuların 10^{-6} M asetilkoline (ACh) gevşeme yanıtlarına bakılarak test edildi. Asetilkoline %60 ve üzeri gevşeme yanıtı veren dokuların endoteli sağlam kabul edildi. Endoteli zedelenmiş halkalar elde etmek için ise, halkaların intimal yüzeyi ucuna pamuk sarılmış ince bir pensetle hafifçe ovuşturuldu. Endotel hasarı PHE (10^{-6} M) ile kasılmış dokularda ACh'nin (10^{-6} M) gevşeme yanıtı oluşturmaması ile teyid edildi.

Deneylerin ilk aşamasında ITA halkalarında visfatin'in ve deneylerde kullanılan maddelerin çözücülerinin bazal damar tonusu üzerindeki zamana bağımlı etkileri incelendi. Visfatin'in insanlardaki plazma konsantrasyonu 0.05-0.25 nM aralığında [6] olduğu için bu çalışmada konsantrasyon-yanıt eğrileri oluşturulacak deneylerde visfatin'in plazma konsantrasyonu ve katlarını içerecek şekilde 10^{-12} - 10^{-7} M aralığındaki konsantrasyonları kümülatif olarak uygulandı. Visfatin inkübasyonu ile yapılan deneylerde ise visfatin'in ortalama plazma konsantrasyonu ile bunun 10 ve 100 katına karşılık gelen konsantrasyonları (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) kullanıldı.

Deneylerin ikinci aşamasında visfatin'in çeşitli endojen ajanlarla oluşan kasılma yanıtları üzerindeki etkileri incelendi. Bu amaçla ITA halkalarında anjiotensin II (ANG II, 10^{-11} - 10^{-6} M), endotelin-1 (ET-1, 10^{-11} - 10^{-6} M), noradrenalin (NA, 10^{-10} - 10^{-4} M) ve fenilefrin (PHE, 10^{-10} - 10^{-4} M) ile konsantrasyon yanıt eğrileri elde edildikten sonra halkalar 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübe edildi ve yukarıda sayılan ajanlarla konsantrasyon-yanıt eğrileri tekrar oluşturuldu.

Deneylerin üçüncü aşamasında visfatin'in endotel-bağımlı ve endotel-bağımsız gevşemeler üzerindeki etkisi incelendi. Submaksimal konsantrasyonda PHE ile ön kasılma oluşturulan ITA halkalarında endotel-bağımlı gevşeme oluşturan ACh (10^{-10} - 10^{-5} M) ve endotel-bağımsız gevşeme oluşturan sodyum nitroprussid'e (SNP, 10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrileri 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesinde ve sonrasında oluşturuldu.

Deneylerin dördüncü aşamasında visfatin'in gevşetici etkisi incelendi. ITA halkalarına önceden 10^{-6} M PHE verilerek submaksimal kasılma yanıtı elde edildi. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında kümülatif uygulanan visfatin'e (10^{-12} - 10^{-7} M) konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları kaydedildi. Daha sonra dokular yapısal ve indüklenabilir nitrik oksid sentaz (NOS) izoformlarının blokörü olan N ω -nitro-L-arginin metilester (L-NAME, 10^{-4} M) ile 20 dk., siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile 20 dk. ve

spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODC (5x10⁻⁵ M) ile 20 dk. inkübe edildikten sonra PHE ile kasılan ITA halkalarında visfatin konsantrasyon yanıt eğrileri tekrar elde edildi ve bu şekilde visfatin'in vazodilatör etkisinde prostanoidler, guanilat siklaz ve NO'nun rolleri değerlendirildi. Ayrıca visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında endotel bağımlı hiperpolarizan faktör'ün (EDHF) rolünü araştırmak için 40 mM potasyum klorür (KCl) içeren fizyolojik tuz solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları üzerinde visfatin'in etkileri L-NAME (10⁻⁴) ve indometazin (10⁻⁵ M) varlığında büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (BK_{Ca}) kanal blokörü karibdotoksin (10⁻⁷ M) ve küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (SK_{Ca}) kanal blokörü apamin (10⁻⁷ M) kombinasyonu ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrası incelendi. 40 mM KCl içeren fizyolojik tuz solüsyonu, yukarıda içeriği verilen PSS'nin KCl değeri 40 mM, NaCl değeri 83 mM ve diğer kimyasalların konsantrasyonları aynı kalacak şekilde hazırlandı.

Visfatin'in fonksiyonel etkilerinin gözlemlendiği deneyler, etkinin visfatin'e özgünlüğünü test etmek için Namppt inhibitörü FK866 (10µM) ile 20 dk. inkübasyon sonrasında tekrarlanarak karşılaştırıldı.

Deneylerde kullanılan maddelerin çözücülerini kullanılarak damar yanıtlarındaki zaman bağımlı olası değişiklikler incelendi. Deneyler arasında dokular 60 dk. dinlendirildi. Her bir deney grubu en az 6 ITA halkasında gerçekleştirildi. Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilerek 03/02/2012 tarih ve 44 no'lu kararı ile onaylanmıştır.

3.3. Deneylerde Kullanılan İlaçlar

Deneylerde kullanılan PHE, ANG II, NA, ET-1, visfatin, ACh, SNP, L-NAME, ODC, indometazin, apamin, karibdotoksin, FK866 ve PSS hazırlamak için kullanılan kimyasal maddeler Sigma kimyasal'dan (St. Louis, Mo.), elde edildi. PHE, ANG II, NA, ET-1, visfatin, ACh, SNP, L-NAME, apamin, karibdotoksin ve FK866 distile suda, indometazin etanolde ve ODC dimetilsülfoksit içerisinde çözüldü.

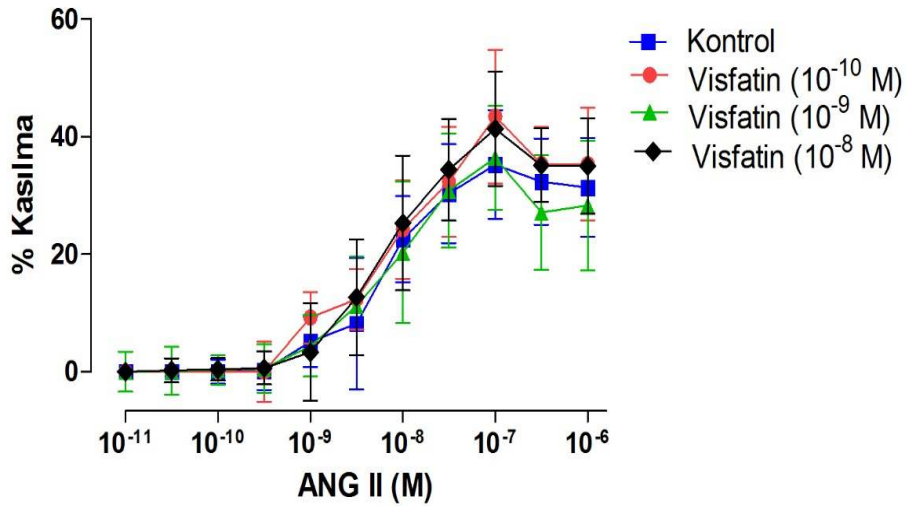
3.4. İstatistiksel Analiz

Tüm değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edildi. Etkin konsantrasyon 50 (Effective concentration 50; EC₅₀) değerleri lineer regresyon analizi ile maksimum yanıtın (E_{max}) %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonu olarak hesaplandı. Duyarlılık pD₂, EC₅₀ değerinin negatif logaritması (-Log EC₅₀) olarak verildi. Sonuçların istatistiksel analizi Student t-testi, tekrarlayan ölçümler için ANOVA ve posthoc testler kullanılarak yapıldı. p değerleri 0.05'in altında bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

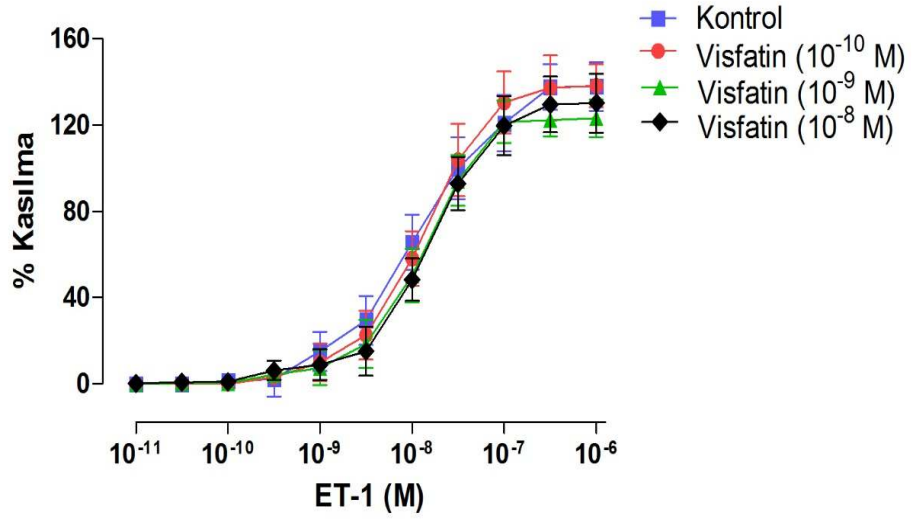
BULGULAR

Submaksimal konsantrasyonda uygulanan PHE (10^{-6} M) ile insan ITA halkalarında oldukça stabil ve sürekli kasılma yanıtları oluştu. Ön deneylerde, çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda visfatin'in ve deneylerde kullanılan maddelerin çözücülerinin insan ITA halkalarında bazal tonus üzerinde anlamlı bir etkilerinin olmadığı saptandı.

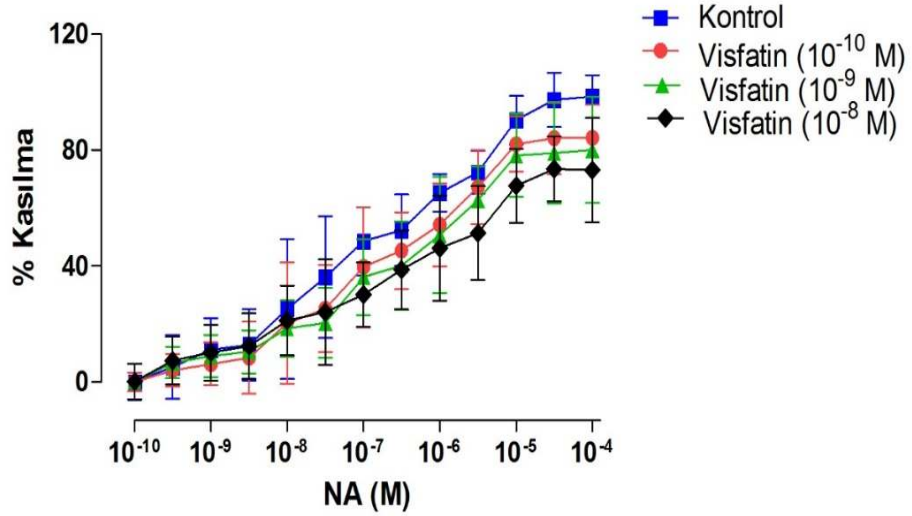
Ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübe edilen insan ITA preparatlarında ANG II (10^{-11} - 10^{-6} M) [Şekil 4.1], ET-1 (10^{-11} - 10^{-6} M) [Şekil 4.2], NA (10^{-10} - 10^{-4} M) [Şekil 4.3] ve PHE (10^{-10} - 10^{-4} M) [Şekil 4.4] ile oluşturulan kasılma yanıtları visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi.



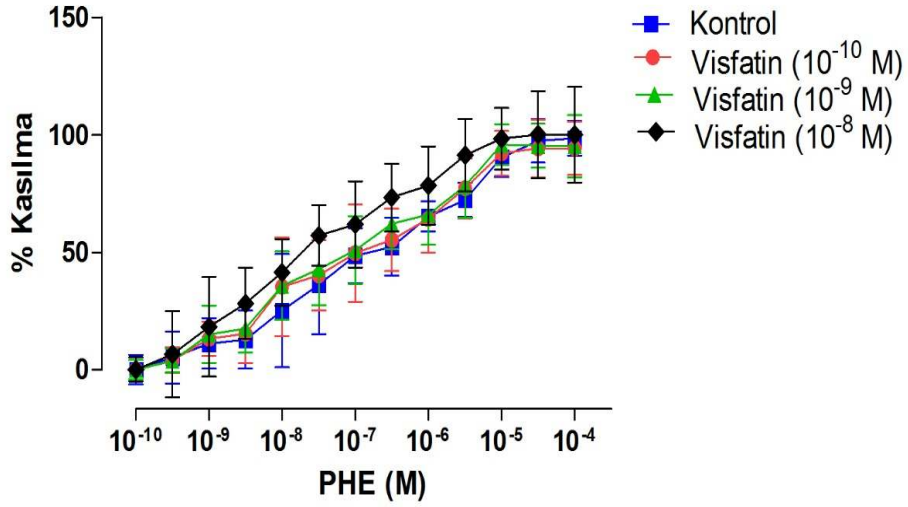
Şekil 4.1. Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ANG II (10^{-11} - 10^{-6} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi. (n=6, tüm gruplar için). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir.



Şekil 4.2. Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ET-1 (10^{-11} - 10^{-6} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi. (n=8, tüm gruplar için). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir.



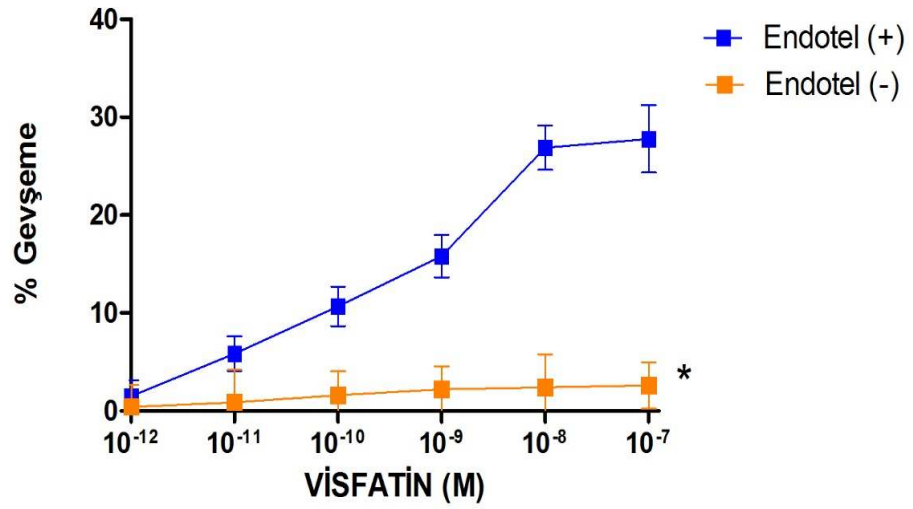
Şekil 4.3. Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan NA (10^{-10} - 10^{-4} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi. (n=6, tüm gruplar için). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir.



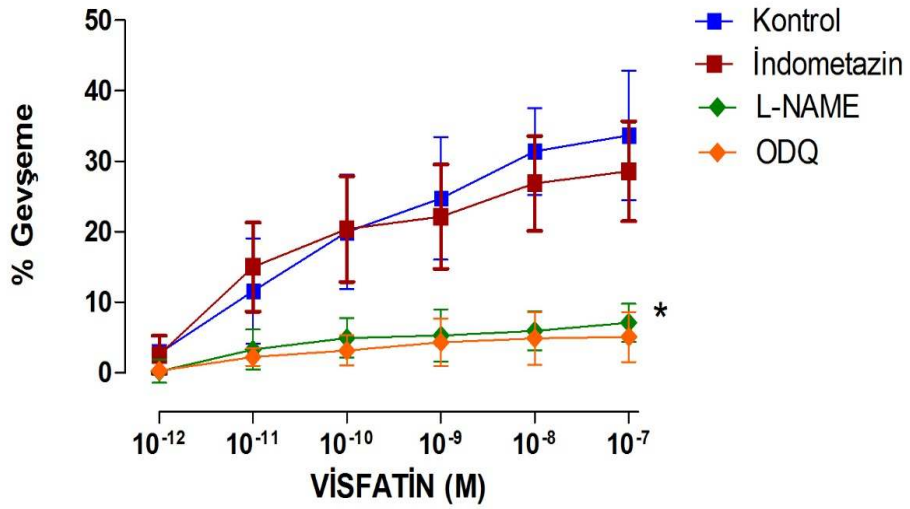
Şekil 4.4. Endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan PHE (10^{-10} - 10^{-4} M) ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi (n=6, tüm gruplar için). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir.

PHE (10^{-6} M) ile önceden kasılan insan ITA halkalarında visfatin (10^{-12} - 10^{-7} M) konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturdu. Visfatin'in gevşetici etkisi endoteli sağlam ITA halkalarında, endoteli zedelenmiş ITA halkalarına göre anlamlı olarak ($p < 0.05$) daha yüksek bulundu [Şekil 4.5]. Visfatin'in endoteli sağlam ve zedeli ITA halkalarında E_{max} değerleri sırasıyla $\%27.78 \pm 3.44$ ve $\%2.61 \pm 2.38$, pD_2 değerleri ise 9.06 ± 0.21 ve 11.08 ± 0.92 olarak bulundu.

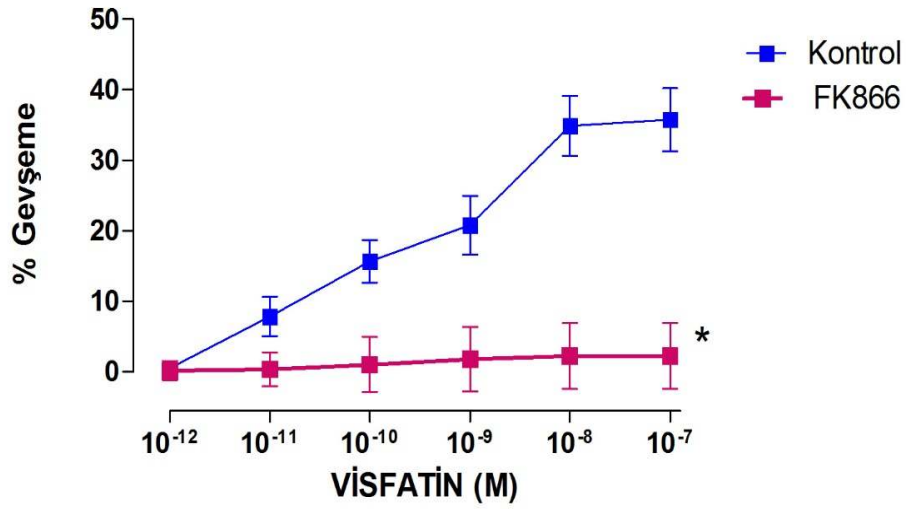
Dokuların 20 dk. süreyle siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile inkübasyonu visfatin'e gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmazken (E_{max} : $\%28.59 \pm 7.08$ vs. $\%33.67 \pm 9.20$ sırasıyla indometazin varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p > 0.05$), NOS blokörü L-NAME (10^{-4} M) ile inkübasyonu visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlandı (E_{max} : $\%7.10 \pm 2.68$ vs. $\%33.67 \pm 9.20$ sırasıyla L-NAME varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p < 0.05$). Spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ (5×10^{-5} M) da visfatin'e gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalma oluşturdu (E_{max} : $\%5.11 \pm 3.54$ vs. $\%33.67 \pm 9.20$ sırasıyla ODQ varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p < 0.05$) [Şekil 4.6]. Nampt inhibitörü FK866 ($10 \mu M$) da visfatin'e gevşeme yanıtlarını neredeyse tamamen bloke etti. (E_{max} : $\%2.24 \pm 1.70$ vs. $\%35.77 \pm 4.44$ sırasıyla FK866 varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p < 0.05$) [Şekil 4.7].



Şekil 4.5. Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam (+) (n=11) ve zedeli (-) (n=10) insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları. (*: $p<0.05$, endoteli sağlam (+) grup ile karşılaştırıldığında). Sonuçlar submaksimal PHE ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

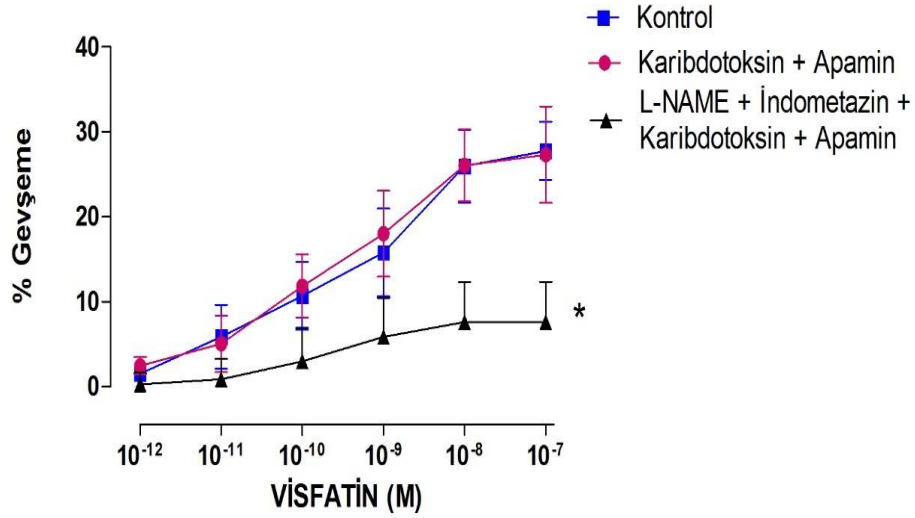


Şekil 4.6. Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=15) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M, 20 dk., n=14), NOS blokörü L-NAME (10^{-4} M, 20 dk., n=10) ve spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ (5×10^{-5} M, 20 dk., n=10) inkübasyonunun etkisi. (*: $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.) Sonuçlar submaksimal PHE ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.



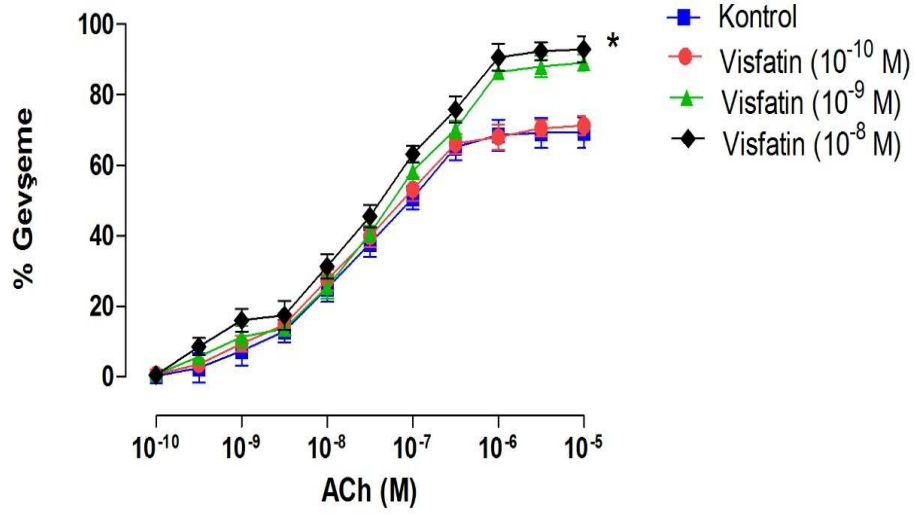
Şekil 4.7. Submaksimal (10^{-6} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=11) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde Nampt inhibitörü FK866 (10µM, 20 dk., n=11) inkübasyonunun etkisi. (*: $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında). Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

İnsan ITA halkalarının 30 dk. süre ile BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin (10^{-7} M) ve SK_{Ca} kanal blokörü apamin (10^{-7} M) kombinasyonu ile inkübasyonu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmazken (E_{max} : $\%27.33 \pm 5.68$ vs. $\%27.77 \pm 3.44$ sırasıyla karibdotoksin + apamin varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p>0.05$); NOS blokörü L-NAME (10^{-4} M), siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M), BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin (10^{-7} M) ve SK_{Ca} kanal blokörü apamin (10^{-7} M) kombinasyonu varlığında visfatin ile oluşan gevşeme yanıtları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (E_{max} : $\%7.60 \pm 4.71$ vs. $\%27.77 \pm 3.44$ sırasıyla L-NAME + indometazin + karibdotoksin + apamin varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p<0.05$) [Şekil 4.8].

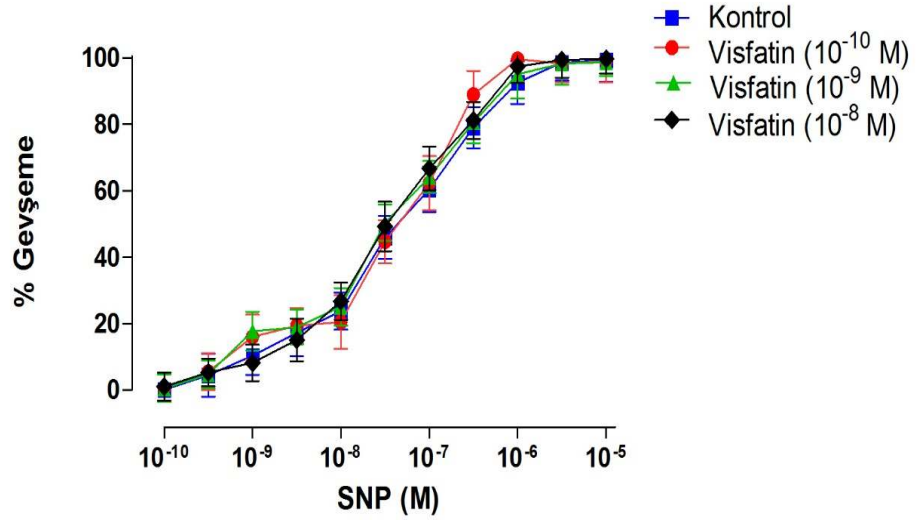


Şekil 4.8. 40 mM KCl ile kasılmış endoteli sağlam insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-12} - 10^{-7} M, n=11) uygulanan visfatin'in oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin + SK_{Ca} kanal blokörü apamin (10^{-7} M, 30 dk., n=11 her iki blokör için) inkübasyonu ile L-NAME (10^{-4} M) + indometazin (10^{-5} M) + karibdotoksin (10^{-7} M) + apamin (10^{-7} M) (30 dk., n=11) inkübasyonunun etkisi. (*: p<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübe edilen insan ITA halkalarında ACh (10^{-10} – 10^{-5} M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin inkübasyonları ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken, 10^{-10} M visfatin inkübasyonu ile değişmedi [Şekil 4.9] [Çizelge 4.1]. PHE (10^{-6} M) ile ön kasılma oluşturulan insan ITA halkalarında endotel-bağımsız gevşeme oluşturan SNP'ye (10^{-10} – 10^{-5} M) gevşeme yanıtları ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmedi [Şekil 4.10] [Çizelge 4.1].



Şekil 4.9. İnsan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ACh (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi (n=10, tüm gruplar için). (*: $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında). Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.



Şekil 4.10. İnsan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan SNP (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi (n=10, tüm gruplar için). Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1. 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk inkübasyonlar öncesi (kontrol) ve sonrasında ACh ve SNP için E_{max} (%) ve pD_2 değerleri.

	ACh		SNP	
	E_{max} (%)	pD_2	E_{max}	pD_2
Kontrol	69.32 ± 4.37	7.58 ± 0.09	99.21 ± 6.41	7.28 ± 0.10
Visfatin (10^{-10} M) ink.	71.23 ± 2.67	7.63 ± 0.06	99.02 ± 6.46	7.25 ± 0.11
Visfatin (10^{-9} M) ink.	89.10 ± 2.31*	7.32 ± 0.05*	98.72 ± 4.18	7.35 ± 0.01
Visfatin (10^{-8} M) ink.	92.95 ± 3.65*	7.30 ± 0.06*	99.73 ± 4.52	7.39 ± 0.01

*: $P < 0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

TARTIŞMA

Bu çalışma, bildiğimiz kadarı ile KABG cerrahisine giren hastalardan elde edilen ITA preparatlarında visfatin'in fonksiyonel etkileri ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların belirlendiği ve karşılaştırıldığı literatürdeki ilk çalışmadır. Bu amaç doğrultusunda çalışmada visfatin'in bazal tonus üzerine olan etkileri, çeşitli ajanlar ile kasılma yanıtları üzerine olan etkileri, direkt gevşetici etkileri ve visfatin'in ITA preparatlarında direkt gevşetici etkisinde rol oynayan mekanizmalar değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda visfatin'in ve deneylerde kullanılan diğer maddelerin çözücülerinin insan ITA halkalarında bazal tonus üzerinde anlamlı bir etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. Endoteli sağlam insan ITA halkalarına kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan anjiyotensin II (10^{-11} - 10^{-6} M), endotelin-1 (10^{-11} - 10^{-6} M), noradrenalin (10^{-10} - 10^{-4} M) ve fenilefrin (10^{-10} - 10^{-4} M) ile oluşan kasılma yanıtları, farklı konsantrasyonlarda uygulanan visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir [Şekil 4.1-4.4]. Visfatin'in insanlardaki plazma konsantrasyonu 0.05 - 0.25 nM aralığındadır [7]. Inkübasyon için seçilen visfatin konsantrasyonları ortalama plazma konsantrasyonu (10^{-10} M) ile bunun 10 (10^{-9} M) ve 100 (10^{-8} M) katına karşılık gelen konsantrasyonlardır. Çalışmamızda visfatin'in insan ITA preparatlarında gerek insanlarda bildirilen ortalama plazma konsantrasyonda gerekse bundan çok daha yüksek konsantrasyonlarda, yukarıdaki belirtilen ve çoğu insanda endojen olarak mevcut olan vazokonstriktör ajanlarla oluşan kasılma yanıtlarını *in vitro* koşullarda anlamlı olarak değiştirmedeği saptanmıştır. Bizim bulgularımızla uyumlu olarak Vallejo ve ark.'larının [14] yaptığı çalışmada da sıçan mezenterik arterlerinde kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 3×10^{-5} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtlarının, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında anlamlı olarak değişmediği gösterilmiştir. Diğer taraftan sıçan torasik aortu kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise, bizim bulgularımızla zıt olarak, endoteli sağlam torasik aort preparatlarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtlarının 100 ng/mL visfatin inkübasyonu sonrasında anlamlı olarak azaldığı, buna karşın endoteli zedeli preparatlarda ise yanıtların değişmediği bildirilmiştir [10]. Bu konuda yapılan az sayıda çalışmada elde edilen sonuçlar arasındaki farklılığın nedeni bilinmemekle birlikte farklı çalışmalarda kullanılan damar preparatlarının elde edildiği türler ve/veya kullanılan vazokonstriktör ajanların konsantrasyonlarındaki farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan literatürde ilk defa bu çalışmada birden fazla ve çoğu endojen olarak insan vücudunda bulunan vazokonstriktör ajanın insan ITA preparatlarında oluşturdukları kasılma yanıtları üzerine visfatin'in etkisi değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada submaksimal konsantrasyonda uygulanan PHE, insan ITA halkalarında stabil, tekrarlanabilir ve sürekli bir kasılma yanıtı oluşturmuş, PHE ile oluşan kasılma yanıtlarında zaman içerisinde anlamlı bir azalma gözlenmemiştir. Önceden PHE ile kasılan insan ITA halkalarına kümülatif olarak (10^{-12} - 10^{-7} M) eklenen visfatin, konsantrasyon bağımlı bir şekilde gevşeme yanıtlarına neden olmuş ve PHE ile oluşan kasılmanın yaklaşık %30'una varan bir maksimum gevşetici etki elde edilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma insan ITA preparatlarında visfatin'in konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturduğunu gösteren, dolayısıyla visfatin'in bu preparatta *in vitro* koşullarda fonksiyonel etkisini ortaya koyan literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda visfatin'e gevşeme yanıtlarının, PHE ile ön kasılma oluşturulan endoteli sağlam ITA preparatlarında endoteli zedeli preparatlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve visfatin'e gevşeme yanıtının endotel dokusunun zedelenmesi ile hemen hemen tamamen bloke edildiği saptanmıştır (E_{max} değerleri sırasıyla 27.78 ± 3.44 ve 2.61 ± 2.38). Bizim bulgularımızla uyumlu şekilde visfatin'in, NA ile ön kasılma oluşturulan sıçan aort ve mezenter arter preparatlarında endotel bağımlı gevşeme yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir. Sıçan aort ve mezenter arter preparatlarında visfatin'in gevşetici etkisi için E_{max} değerleri sırasıyla 30.50 ± 5.00 ve 7.90 ± 3.70 olarak bildirilmiştir [10]. Bu bulgular visfatin'in insan ITA dokusundaki etkinliğinin (efikasite), sıçan torasik aortu ile benzer ancak, sıçan mezenter arterlerindeki etkinliğinden daha yüksek olduğuna işaret etmektedir. Visfatin'in çeşitli türlerden elde edilen değişik damar preparatlarında vazodilatör etkinliğindeki farklılıkların, dokunun alındığı tür, deneyin gerçekleştirildiği vasküler doku (damar dokusunun yeri ve çapı) ve/veya ön kasılma oluşturmak için kullanılan ajan gibi yöntemsel farklılıklara bağlı olabileceği düşünülebilir. Diğer taraftan bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular, insan ITA halkalarında visfatin'in etkinlik ve gücüne yönelik literatürdeki ilk verileri temsil etmektedir.

İnsan ITA halkalarında visfatin'in fonksiyonel etkisinde rol oynayan mekanizmaları belirlemeye yönelik deneylerde, damar preparatının visfatin'e gevşeme yanıtlarında NOS blokörü L-NAME ve spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ inkübasyonları sonrası istatistiksel olarak anlamlı azalmalar saptanmıştır. Hem L-NAME (E_{max} : 7.10 ± 2.68), hem de ODQ (E_{max} : 5.11 ± 3.54) inkübasyonu sonrası visfatin'e maksimum gevşeme yanıtlarında (E_{max} 33.67 ± 9.20) yaklaşık %77'lik azalmalar olduğu gösterilmiştir. İnsan ITA halkalarının NOS blokajı veya guanilat siklaz inhibisyonu sonrası visfatin'e gevşeme yanıtları, endoteli zedeli halkaların visfatin'e gevşeme yanıtları (E_{max} : 2.61 ± 2.38) ile hemen hemen aynı düzeylere inmiştir. İnsan ITA preparatlarında visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarının NO-sGMP yolağının farklı iki basamağını bloke eden ajanlar tarafından benzer ölçüde bloke edilmesi, gözlenen gevşetici etkide endotel kaynaklı NO'nin rolünü ortaya koymaktadır. Bu bulgularla uyumlu olarak visfatin'in endoteli sağlam sıçan torasik aort halkalarında eNOS ve Akt fosforilasyonunu düzenleyerek, NO

aracılı gevşeme yanıtları oluşturduğu bildirilmiştir [10]. Benzer şekilde, visfatin'in insan umbilikal veni ve koroner endotel hücre kültürlerinde eNOS ekspresyonu ve aktivitesini stimüle ederek, NO üretiminde ve sGMP oluşumunda artmaya neden olduğu da gösterilmiştir [9]. Diğer taraftan bu bulgularla zıt olarak, Tip 2 DM [11] ve kronik böbrek yetmezliği [12] olan hastalarda brakial arterin akım aracılı gevşemesi (FMD) ile plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, bu hastalarda renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalmaya, FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğundaki düzelmenin eşlik ettiği bildirilmiştir [13]. Bir diğer çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında Nampt aktivitesi aracılığıyla endotel bağımlı gevşemelerde bozulmaya neden olduğu saptanmıştır [14].

Çalışmamızda dokuların 20 dk. süreyle siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile inkübasyonu, insan ITA halkalarının visfatin'e gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Dolayısıyla mevcut veriler visfatin'in insan ITA preparatlarındaki gevşetici etkisinde lokal olarak üretilen siklooksijenaz ürünlerinin rolü olmadığına işaret etmektedir.

Visfatin, NAD sentezinde rol oynayan Nampt enzimiyle yapısal homoloji gösterdiği için, aynı zamanda "Nampt" olarak da adlandırılmaktadır [6, 16]. Nampt enzim aktivitesinin visfatin'in, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve inflamasyonu, makrofajlardan matriks metalloproteinazların üretimi ve pankreatik β -hücrelerinden insülin salınımı gibi değişik etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir [7, 50, 69]. Bu çalışmada endoteli sağlam ITA halkalarında visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarının Nampt enzim inhibitörü FK866 varlığında neredeyse tamamen bloke edildiği gösterilmiştir (E_{max} : $\%2.24 \pm 1.70$). Bu bulgu da, insan ITA halkalarında visfatin ile oluşan gevşetici etkide visfatin'in Nampt enzim aktivitesinin rolü olduğuna işaret etmektedir. Visfatin'in etkilerine aracılık eden reseptör/reseptörler halen bilinmemekle birlikte, visfatin'in insülin reseptörüne insülinin bağlandığı bölgeden farklı bir bölgeden bağlanabileceği ve reseptörü aktive edebileceği bildirilmiştir [4]. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise visfatin'in insülin reseptörleri üzerine olan etkilerine yönelik olarak çelişkili sonuçlar elde edilmiş [50, 72, 73], visfatin'in sıçan aortunda oluşturduğu gevşeme yanıtının insülin reseptöründen bağımsız olduğu bildirilmiştir [10]. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da visfatin ile oluşan gevşetici etkinin neredeyse tamamının Nampt inhibitörü varlığında bloke edilmesi, visfatin'in gevşetici etkisinde enzimatik aktivitesinin rolüne işaret etmektedir.

Vasküler düz kasların çeşitli ajanlara yanıtlarındaki değişikliklerde arterin lokalizasyonu ve çapına bağlı olarak endotelden salınan maddelerdeki farklılıkların yanısıra iyon transport mekanizmaları veya farmakolojik reseptörlerin yoğunluğu ve tiplerinin de önemli bir rol oynayabileceği bilinmektedir [126, 127]. Damar çapındaki azalma ile paralel bir şekilde hiperpolarizan faktörlerin önemi artmaktadır [128]. Bu nedenle, bu çalışmada

insan izole ITA preparatlarında visfatin'in oluşturduğu gevşetici etkide EDHF'nin rolü de araştırılmıştır. EDHF, NO ve prostasiklin olmayan bir endotel kökenli hiperpolarize edici faktör olarak tanımlanmıştır, ancak EDHF'nin ne olduğu halen tam olarak bilinmemektedir. Çeşitli arterlerde yapılan çalışmalarda hidrojen peroksit, potasyum iyonu ya da sitokrom P450 metabolitlerinin EDHF olabileceği öne sürülmüştür [129-132]. EDHF'nin vasküler düz kas hücrelerinde potasyum kanallarını açarak bu hücrelerinin hiperpolarizasyonu aracılığı ile gevşeme yanıtları oluşturduğu bilinmektedir [133, 134]. Çeşitli arter preparatlarında EDHF ile oluşan hiperpolarizasyonun apamin ve karibdotoksin varlığında engellenmesi EDHF aracılı gevşemede büyük ve küçük kondüktanslı kalsiyum ile aktive edilen potasyum kanallarının (KCa) rol oynadığına işaret etmektedir [135]. Bu çalışmada visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında EDHF'nin rolünü araştırmak için 40 mM KCl içeren fizyolojik tuz solüsyonu ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerinde visfatin'in etkileri, BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin (10^{-7} M) ve SK_{Ca} kanal blokörü apamin (10^{-7} M) varlığında incelenmiştir. İnsan ITA halkalarının 30 dk. süre ile karibdotoksin ve apamin kombinasyonu ile inkübasyonu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (E_{max} : 27.33 ± 5.68 vs. 27.77 ± 3.44 , sırasıyla karibdotoksin + apamin varlığında ve yokluğunda (kontrol), $p > 0.05$). Buna karşın ITA preparatlarının karibdotoksin ve apamine ek olarak NOS blokörü L-NAME (10^{-4} M) ve siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile inkübasyonları visfatin'e gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluşturmıştır (E_{max} : 7.60 ± 4.71 , $p < 0.05$). Maksimum gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmanın derecesi (E_{max} : 7.60 ± 4.71) dokuların tek başına L-NAME inkübasyonu ile gözlenene (E_{max} : 7.10 ± 2.68) benzer düzeydedir. Bu bulgu insan ITA halkalarının visfatin'e gevşeme yanıtlarında EDHF'nin anlamlı bir rol oynamadığına işaret etmekte ve NO'nin rolünü teyid etmektedir. İnsan ITA preparatlarının visfatin'e gevşeme yanıtlarında EDHF'nin rolü bildiğimiz kadarıyla literatürde ilk defa bu çalışmada değerlendirilmiştir.

ACh ve SNP, NO-aracılı soluble guanilat siklaz aktivasyonu ve sonrasında sGMP üretimindeki artma sonucu vasküler düz kas hücresinde gevşeme yanıtına yol açan ajanlardır. Ancak SNP direkt NO donörü olarak rol oynarken, ACh endotel hücrelerinden NO salınımına yol açmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada visfatin'in endotel-bağımlı (ACh ile oluşan) ve endotel-bağımsız (SNP ile oluşan) gevşemeler üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Submaksimal konsantrasyonda PHE ile ön kasılma oluşturulan ITA halkalarında endotel-bağımsız gevşeme oluşturan SNP'ye (10^{-10} – 10^{-5} M) gevşeme yanıtları ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiş, ACh (10^{-10} – 10^{-5} M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları ise 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin inkübasyonu sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir artma göstermiştir [Çizelge 4.1]. Dolayısıyla visfatin'in direkt NO donörü ile oluşan endotel bağımsız gevşeme yanıtları üzerinde etkisinin olmadığı, yüksek konsantrasyonlarında ise olasılıkla NO üretimi ve/veya salınımı üzerindeki etkisi ile endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını artırdığı anlaşılmaktadır.

Plazma visfatin düzeylerinin obezite, diyabet gibi metabolik bozukluklarda [136, 137] ve koroner arter hastalığında [103-107] arttığı bildirilmiştir. Ayrıca visfatin'in bir proinflamatuvar adipositokin olduğu ve endotel hücre ve vasküler düz kas hücre inflamasyonu [69, 106], vasküler düz kas proliferasyonu [7] ve matriks metalloproteinazların aktivasyonu [92] gibi vasküler hasar ve endotel fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Diğer taraftan, bu görüşlere zıt olarak yüksek visfatin konsantrasyonlarının (100-250 ng/ml) monositlerde IL-1RA ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklediği saptanmıştır [65]. Dolayısıyla visfatin'in inflamasyon üzerindeki etkileri halen tartışma konusudur. Bununla birlikte bu çalışmada da visfatin'in insan ITA preparatlarında endotel bağımlı NO aracılı gevşeme yanıtları oluşturduğu gösterilmiştir. NO'nin endotelial inflamasyonu ve trombozu inhibe eden bir vazoprotektif ajan olduğu bilinmektedir [138, 139]. Dolayısıyla bizim sonuçlarımız visfatin'in en azından vasküler dokuda, NO aracılı antiinflamatuvar etkiler oluşturabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada visfatin, endoteli sağlam ITA halkalarında 1 pM – 0,1 μ M konsantrasyon aralığında ve 9.06 ± 0.21 'lik bir pD_2 değeri ile (EC_{50} : yaklaşık 0.87 nM) gevşeme yanıtları oluşturmuştur. Normal koşullar altında visfatin'in insanlardaki plazma konsantrasyonu 0.05 - 0.25 nM aralığındadır [7]. Başka bir çalışmada ise dolaşımdaki visfatin konsantrasyonlarının sağlıklı kişilerde 15 ng/ml (2.7×10^{-10} M) olduğu [136, 137], buna karşın tip 2 diyabetik hastalarda 18 - 32 ng/ml ($3.2 - 5.8 \times 10^{-10}$ M) ve tip 1 diyabetik hastalarda 35 ng/ml (6.4×10^{-10} M) düzeylerine çıktığı bildirilmiştir. Vasküler düz kas hücrelerinden visfatin sekresyonu olduğuna dair bir kanıt olmamasına karşın, bu hücrelerin dolaşımdan gelen ya da PVAD'dan salınan visfatin ile etkilenebileceği ileri sürülmüştür. Deneysel hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların PVAD'ında bulunduğu [7, 8] ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır. Visfatin'in PVAD'da subkutan adipoz dokuya göre 3.7, visceral adipoz dokuya göre ise 1.8 kat daha fazla oranda eksprese edildiği gösterilmiştir. Koroner arter hastalığı olan 27 hastanın ITA'larını çevreleyen PVAD'larda visfatin mRNA ekspresyonu saptanmıştır [140]. Aynı zamanda visfatin'in PVAD'dan salgılanabildiği bildirilmiştir [7]. İnsan ITA preparatı koroner bypass graftı olarak sık bir şekilde kullanılmaktadır. Çalışma bulgularımız, dolaşımda bulunan konsantrasyonlarda visfatin'in koroner bypass hastalarında ITA graftları üzerinde direkt bir gevşetici etki oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Diğer taraftan PVAD içeren damar dokularında lokal visfatin konsantrasyonlarının, PVAD'den salınan ilave visfatin'e bağlı olarak, dolaşımdaki düzeylerden daha yüksek olması beklenebilir. Dolayısı ile dolaşımda bulunan ve ITA etrafındaki PVAD'dan salınan visfatin'in NO aracılı damar gevşetici etkisi ile KABG sırasında ve sonrasında gelişebilecek vazospazma karşı koruyucu bir rolü olabileceği ve ITA graftının açıklığına katkıda bulunabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada literatürde ilk defa olmak üzere visfatin'in insan ITA preparatında fonksiyonel gevşetici etkisine yönelik farmakolojik kanıt sağlanmıştır. Elde edilen bulgular, insan ITA preparatlarında visfatin'in çeşitli kasıcı ajanlar ile oluşturulan kasılma yanıtlarını etkilemediğini, endoteli sağlam insan ITA halkalarında konsantrasyon bağımlı şekilde gevşeme yanıtları oluşturduğunu ve visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında NO-sGMP yolağı aracılığı ile endotel dokusunun ve Nampt enzim aktivitesinin temel bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

SONUÇLAR

Bu çalışma ile visfatin'in insanlarda KABG olarak sık bir şekilde kullanılan ITA preparatlarında fonksiyonel etkileri ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar araştırılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1. Submaksimal konsantrasyonda uygulanan PHE (10^{-6} M) ile insan ITA halkalarında oldukça stabil ve sürekli kasılma yanıtları oluştu. Ön deneylerde, çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda visfatin'in ve deneylerde kullanılan diğer maddelerin çözücülerinin, insan ITA halkalarında bazal tonus üzerinde anlamlı bir etkilerinin olmadığı saptandı.
2. Ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübe edilen insan ITA preparatlarında değişik kasıcı ajanlar (ANG II, ET-1, NA ve PHE) ile oluşan kasılma yanıtları, visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişmedi.
3. PHE ile önceden kasılmış insan ITA halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan visfatin, gevşeme yanıtları oluşturdu. Visfatin'in gevşetici etkisi endoteli sağlam ITA halkalarında, endoteli zedelenmiş ITA halkalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.
4. Oluşan gevşeme yanıtlarının NOS blokörü L-NAME, spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ ve Namppt enzim inhibitörü FK866 varlığında anlamlı bir şekilde inhibe edildiği görüldü. Ancak siklooksijenaz inhibitörü indometazin varlığında visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşmadı.
5. İnsan ITA halkalarının BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin ve SK_{Ca} kanal blokörü apamin kombinasyonu ile inkübasyonu, visfatin ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmazken; NOS blokörü L-NAME, siklooksijenaz inhibitörü indometazin, BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin ve SK_{Ca} kanal blokörü apamin kombinasyonu varlığında visfatin ile oluşan gevşeme yanıtları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı.

6. Ayrı ayrı 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübe edilen insan ITA halkalarında ACh ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin inkübasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken, 10^{-10} M visfatin inkübasyonu ile değişmedi.
7. PHE ile ön kasılma oluşturulan insan ITA halkalarında endotel-bağımsız gevşeme oluşturan SNP'ye gevşeme yanıtları, 10^{-10} , 10^{-9} ve 10^{-8} M visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmedi.

Böylece PHE ile önceden kasılmış insan ITA halkalarında visfatin'in gevşetici bir etki oluşturduğu ve bu etkide Nampt enzim aktivitesinin ve NO-sGMP yolağı aracılığı ile endotel dokusunun temel bir rol oynadığı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S: **Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005, **288**:H2031-2041.
2. Guzik TJ, Mangalat D, Korbout R: **Adipocytokines - novel link between inflammation and vascular function?** *J Physiol Pharmacol* 2006, **57**:505-528.
3. Karastergiou K, Mohamed-Ali V: **The autocrine and paracrine roles of adipokines.** *Mol Cell Endocrinol* 2010, **318**:69-78.
4. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, et al: **Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin.** *Science* 2005, **307**:426-430.
5. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I: **Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor.** *Mol Cell Biol* 1994, **14**:1431-1437.
6. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, Gigot D, Urbain J, Leo O, Andris F: **Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis.** *Eur J Immunol* 2002, **32**:3225-3234.
7. Wang P, Xu TY, Guan YF, Su DF, Fan GR, Miao CY: **Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: role of nicotinamide mononucleotide.** *Cardiovascular research* 2009, **81**:370-380.
8. Spiroglou SG, Kostopoulos CG, Varakis JN, Papadaki HH: **Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis.** *J Atheroscler Thromb* 2010, **17**:115-130.
9. Lovren F, Pan Y, Shukla PC, Quan A, Teoh H, Szmitko PE, Peterson MD, Gupta M, Al-Omran M, Verma S: **Visfatin activates eNOS via Akt and MAP kinases and improves endothelial cell function and angiogenesis *in vitro* and *in vivo*: translational implications for atherosclerosis.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009, **296**:E1440-1449.
10. Yamawaki H, Hara N, Okada M, Hara Y: **Visfatin causes endothelium-dependent relaxation in isolated blood vessels.** *Biochemical and biophysical research communications* 2009, **383**:503-508.
11. Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S, Aso Y, Inukai T: **Association between plasma visfatin and vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus.** *Metabolism* 2007, **56**:451-458.

12. Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, Eyileten T, Sonmez A, Cakir E, Yenicesu M, Lindholm B, et al: **Serum visfatin concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease.** *Nephrol Dial Transplant* 2008, **23**:959-965.
13. Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, Eyileten T, Sonmez A, Oguz Y, Aslan I, Vural A, et al: **Normalization of endothelial dysfunction following renal transplantation is accompanied by a reduction of circulating visfatin/NAMPT. A novel marker of endothelial damage?** *Clin Transplant* 2009, **23**:241-248.
14. Vallejo S, Romacho T, Angulo J, Villalobos LA, Cercas E, Leivas A, Bermejo E, Carraro R, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C: **Visfatin impairs endothelium-dependent relaxation in rat and human mesenteric microvessels through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity.** *PLoS One* 2011, **6**:e27299.
15. Zeff RH, Kongtaworn C, Iannone LA, Gordon DF, Brown TM, Phillips SJ, Skinner JR, Spector M: **Internal mammary artery versus saphenous vein graft to the left anterior descending coronary artery: prospective randomized study with 10-year follow-up.** *Ann Thorac Surg* 1988, **45**:533-536.
16. Peiro C, Romacho T, Carraro R, Sanchez-Ferrer CF: **Visfatin/PBEF/Nampt: A New Cardiovascular Target?** *Front Pharmacol* 2010, **1**:135.
17. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I: **Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines.** *ISRN Inflamm* 2013, **2013**:139239.
18. Gimble JM: **Adipose tissue-derived therapeutics.** *Expert Opin Biol Ther* 2003, **3**:705-713.
19. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC: **Adipokines and insulin resistance.** *Mol Med* 2008, **14**:741-751.
20. Yamawaki H: **Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses.** *Biol Pharm Bull* 2011, **34**:307-310.
21. Fernandez-Lopez JA, Remesar X, Foz M, Alemany M: **Pharmacological approaches for the treatment of obesity.** *Drugs* 2002, **62**:915-944.
22. Goldstein BJ: **Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus.** *Am J Cardiol* 2002, **90**:3G-10G.
23. Cherian S, Lopaschuk GD, Carvalho E: **Cellular cross-talk between epicardial adipose tissue and myocardium in relation to the pathogenesis of cardiovascular disease.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012, **303**:E937-949.
24. Schling P, Loffler G: **Cross talk between adipose tissue cells: impact on pathophysiology.** *News Physiol Sci* 2002, **17**:99-104.
25. Cinti S: **The adipose organ.** *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005, **73**:9-15.

26. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B: **Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007, **293**:E444-452.
27. Warden NA, Warden CH: **Biological influences on obesity.** *Pediatr Clin North Am* 2001, **48**:879-891.
28. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS: **Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function.** *Nature* 1997, **389**:610-614.
29. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS: **Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1998, **83**:847-850.
30. Montague CT, O'Rahilly S: **The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity.** *Diabetes* 2000, **49**:883-888.
31. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA: **The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001, **280**:E827-847.
32. Steppan CM, Lazar MA: **Resistin and obesity-associated insulin resistance.** *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2002, **13**:18-23.
33. Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y, Ono H, Inukai K, Abe M, et al: **Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells.** *Diabetes* 2002, **51**:1737-1744.
34. Wiecek A, Kokot F, Chudek J, Adamczak M: **The adipose tissue--a novel endocrine organ of interest to the nephrologist.** *Nephrol Dial Transplant* 2002, **17**:191-195.
35. Kloting N, Bluher M: **Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome.** *Rev Endocr Metab Disord* 2014, **15**:277-287.
36. Tchernof A, Despres JP: **Pathophysiology of human visceral obesity: an update.** *Physiological reviews* 2013, **93**:359-404.
37. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: **Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.** *Nature* 1994, **372**:425-432.
38. Kershaw EE, Flier JS: **Adipose tissue as an endocrine organ.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004, **89**:2548-2556.
39. Nawrocki AR, Scherer PE: **The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation.** *Current opinion in pharmacology* 2004, **4**:281-289.
40. Havel PJ: **Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism.** *Diabetes* 2004, **53 Suppl 1**:S143-151.
41. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O: **Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation.** *Nature clinical practice Rheumatology* 2007, **3**:716-724.

42. Matsuzawa Y: **Therapy Insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease.** *Nature clinical practice Cardiovascular medicine* 2006, **3**:35-42.
43. Almabrouk TA, Ewart MA, Salt IP, Kennedy S: **Perivascular fat, AMP-activated protein kinase and vascular diseases.** *British journal of pharmacology* 2014, **171**:595-617.
44. Deng Y, Scherer PE: **Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome.** *Ann N Y Acad Sci* 2010, **1212**:E1-E19.
45. Kukla M, Mazur W, Buldak RJ, Zwirska-Korczala K: **Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines--visfatin, chemerin and vaspin--in chronic hepatitis.** *Mol Med* 2011, **17**:1397-1410.
46. Martin PR, Shea RJ, Mulks MH: **Identification of a plasmid-encoded gene from *Haemophilus ducreyi* which confers NAD independence.** *J Bacteriol* 2001, **183**:1168-1174.
47. Sommer G, Garten A, Petzold S, Beck-Sickinger AG, Bluher M, Stumvoll M, Fasshauer M: **Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine.** *Clin Sci (Lond)* 2008, **115**:13-23.
48. Zhang LQ, Heruth DP, Ye SQ: **Nicotinamide Phosphoribosyltransferase in Human Diseases.** *J Bioanal Biomed* 2011, **3**:13-25.
49. Wang P, Vanhoutte PM, Miao CY: **Visfatin and cardio-cerebro-vascular disease.** *J Cardiovasc Pharmacol* 2012, **59**:1-9.
50. Revollo JR, Korner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, Dasgupta B, Sasaki Y, Wolberger C, Townsend RR, et al: **Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme.** *Cell metabolism* 2007, **6**:363-375.
51. Stastny J, Bienertova-Vasku J, Vasku A: **Visfatin and its role in obesity development.** *Diabetes Metab Syndr* 2012, **6**:120-124.
52. Schilling E, Hauschildt S: **Extracellular ATP induces P2X7-dependent nicotinamide phosphoribosyltransferase release in LPS-activated human monocytes.** *Innate Immun* 2012, **18**:738-744.
53. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles AM, Phanavanh B, Lee MJ, Starks T, Kern LM, Spencer HJ, 3rd, McGehee RE, Jr., et al: **Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2007, **92**:666-672.
54. Friebe D, Neef M, Kratzsch J, Erbs S, Dittrich K, Garten A, Petzold-Quinque S, Bluher S, Reinehr T, Stumvoll M, et al: **Leucocytes are a major source of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/pre-B cell colony (PBEF)/visfatin linking obesity and inflammation in humans.** *Diabetologia* 2011, **54**:1200-1211.
55. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, Bouloumie A: **Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin.** *Diabetologia* 2006, **49**:744-747.

56. Chang YC, Chang TJ, Lee WJ, Chuang LM: **The relationship of visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor/nicotinamide phosphoribosyltransferase in adipose tissue with inflammation, insulin resistance, and plasma lipids.** *Metabolism* 2010, **59**:93-99.
57. Zahorska-Markiewicz B, Olszanecka-Glinianowicz M, Janowska J, Kocelak P, Semik-Grabarczyk E, Holecki M, Dabrowski P, Skorupa A: **Serum concentration of visfatin in obese women.** *Metabolism* 2007, **56**:1131-1134.
58. Sandeep S, Velmurugan K, Deepa R, Mohan V: **Serum visfatin in relation to visceral fat, obesity, and type 2 diabetes mellitus in Asian Indians.** *Metabolism* 2007, **56**:565-570.
59. Filippatos TD, Randeva HS, Derdemezis CS, Elisaf MS, Mikhailidis DP: **Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases.** *Curr Vasc Pharmacol* 2010, **8**:12-28.
60. Barth S, Klein P, Horbach T, Dotsch J, Rauh M, Rascher W, Knerr I: **Expression of neuropeptide Y, omentin and visfatin in visceral and subcutaneous adipose tissues in humans: relation to endocrine and clinical parameters.** *Obes Facts* 2010, **3**:245-251.
61. Berndt J, Kloting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schon MR, Stumvoll M, Bluher M: **Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans.** *Diabetes* 2005, **54**:2911-2916.
62. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Oie E, Dahl A, Michelsen A, Damas JK, Tunheim SH, Ueland T, Smith C, et al: **Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization.** *Circulation* 2007, **115**:972-980.
63. Kim MK, Lee JH, Kim H, Park SJ, Kim SH, Kang GB, Lee YS, Kim JB, Kim KK, Suh SW, Eom SH: **Crystal structure of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1/nicotinamide phosphoribosyltransferase, free and in complex with the anti-cancer agent FK-866.** *Journal of molecular biology* 2006, **362**:66-77.
64. Borradaile NM, Pickering JG: **Nicotinamide phosphoribosyltransferase imparts human endothelial cells with extended replicative lifespan and enhanced angiogenic capacity in a high glucose environment.** *Aging cell* 2009, **8**:100-112.
65. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, Tilg H: **Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties.** *J Immunol* 2007, **178**:1748-1758.
66. Busso N, Karababa M, Nobile M, Rolaz A, Van Gool F, Galli M, Leo O, So A, De Smedt T: **Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD.** *PLoS One* 2008, **3**:e2267.
67. Jia SH, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, Rotstein OD, Marshall JC: **Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis.** *J Clin Invest* 2004, **113**:1318-1327.

68. Muller K, Aichele S, Herkommer M, Bigalke B, Stellos K, Htun P, Fateh-Moghadam S, May AE, Flather M, Gawaz M, Geisler T: **Impact of inflammatory markers on platelet inhibition and cardiovascular outcome including stent thrombosis in patients with symptomatic coronary artery disease.** *Atherosclerosis* 2010, **213**:256-262.
69. Romacho T, Azcutia V, Vazquez-Bella M, Matesanz N, Cercas E, Nevado J, Carraro R, Rodriguez-Manas L, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C: **Extracellular PBEF/NAMPT/visfatin activates pro-inflammatory signalling in human vascular smooth muscle cells through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity.** *Diabetologia* 2009, **52**:2455-2463.
70. Li Y, Zhang Y, Dorweiler B, Cui D, Wang T, Woo CW, Brunkan CS, Wolberger C, Imai S, Tabas I: **Extracellular Nampt promotes macrophage survival via a nonenzymatic interleukin-6/STAT3 signaling mechanism.** *J Biol Chem* 2008, **283**:34833-34843.
71. Stofkova A: **Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity.** *Endocr Regul* 2010, **44**:25-36.
72. Stephens JM, Vidal-Puig AJ: **An update on visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor, an ubiquitously expressed, illusive cytokine that is regulated in obesity.** *Curr Opin Lipidol* 2006, **17**:128-131.
73. Murphy KG, Bloom SR: **Are all fats created equal?** *Nature medicine* 2006, **12**:32-33.
74. Saddi-Rosa P, Oliveira CS, Giuffrida FM, Reis AF: **Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence.** *Diabetol Metab Syndr* 2010, **2**:21.
75. Brown JE, Onyango DJ, Ramanjaneya M, Conner AC, Patel ST, Dunmore SJ, Randeve HS: **Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic beta-cells.** *J Mol Endocrinol* 2010, **44**:171-178.
76. Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, Lagos K, Kiortsis DN, Tselepis AD, Elisaf MS: **Increased plasma visfatin levels in subjects with the metabolic syndrome.** *Eur J Clin Invest* 2008, **38**:71-72.
77. Dunmore SJ, Brown JE: **The role of adipokines in beta-cell failure of type 2 diabetes.** *J Endocrinol* 2013, **216**:T37-45.
78. Imai S: **The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging--Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance.** *Cell Biochem Biophys* 2009, **53**:65-74.
79. Horio Y, Hayashi T, Kuno A, Kunimoto R: **Cellular and molecular effects of sirtuins in health and disease.** *Clin Sci (Lond)* 2011, **121**:191-203.
80. Imai S: **Dissecting systemic control of metabolism and aging in the NAD World: the importance of SIRT1 and NAMPT-mediated NAD biosynthesis.** *FEBS letters* 2011, **585**:1657-1662.

81. Hsu CP, Oka S, Shao D, Hariharan N, Sadoshima J: **Nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates cell survival through NAD⁺ synthesis in cardiac myocytes.** *Circulation research* 2009, **105**:481-491.
82. Xie H, Tang SY, Luo XH, Huang J, Cui RR, Yuan LQ, Zhou HD, Wu XP, Liao EY: **Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts.** *Calcified tissue international* 2007, **80**:201-210.
83. Bi TQ, Che XM: **Nampt/PBEF/visfatin and cancer.** *Cancer Biol Ther* 2010, **10**:119-125.
84. Hufton SE, Moerkerk PT, Brandwijk R, de Bruine AP, Arends JW, Hoogenboom HR: **A profile of differentially expressed genes in primary colorectal cancer using suppression subtractive hybridization.** *FEBS letters* 1999, **463**:77-82.
85. Van Beijnum JR, Moerkerk PT, Gerbers AJ, De Bruine AP, Arends JW, Hoogenboom HR, Hufton SE: **Target validation for genomics using peptide-specific phage antibodies: a study of five gene products overexpressed in colorectal cancer.** *Int J Cancer* 2002, **101**:118-127.
86. Bauer L, Venz S, Junker H, Brandt R, Radons J: **Nicotinamide phosphoribosyltransferase and prostaglandin H2 synthase 2 are up-regulated in human pancreatic adenocarcinoma cells after stimulation with interleukin-1.** *Int J Oncol* 2009, **35**:97-107.
87. Bae SK, Kim SR, Kim JG, Kim JY, Koo TH, Jang HO, Yun I, Yoo MA, Bae MK: **Hypoxic induction of human visfatin gene is directly mediated by hypoxia-inducible factor-1.** *FEBS letters* 2006, **580**:4105-4113.
88. Wang B, Hasan MK, Alvarado E, Yuan H, Wu H, Chen WY: **NAMPT overexpression in prostate cancer and its contribution to tumor cell survival and stress response.** *Oncogene* 2011, **30**:907-921.
89. Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, Imai SI, Frye RA, Pandita TK, Guarente L, Weinberg RA: **hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase.** *Cell* 2001, **107**:149-159.
90. Patel ST, Mistry T, Brown JE, Digby JE, Adya R, Desai KM, Randeva HS: **A novel role for the adipokine visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1 in prostate carcinogenesis.** *Peptides* 2010, **31**:51-57.
91. Kim JG, Kim EO, Jeong BR, Min YJ, Park JW, Kim ES, Namgoong IS, Kim YI, Lee BJ: **Visfatin stimulates proliferation of MCF-7 human breast cancer cells.** *Mol Cells* 2010, **30**:341-345.
92. Adya R, Tan BK, Pun A, Chen J, Randeva HS: **Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis.** *Cardiovascular research* 2008, **78**:356-365.
93. Garten A, Petzold S, Korner A, Imai S, Kiess W: **Nampt: linking NAD biology, metabolism and cancer.** *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2009, **20**:130-138.

94. Ravaud A, Cerny T, Terret C, Wanders J, Bui BN, Hess D, Droz JP, Fumoleau P, Twelves C: **Phase I study and pharmacokinetic of CHS-828, a guanidino-containing compound, administered orally as a single dose every 3 weeks in solid tumours: an ECSG/EORTC study.** *Eur J Cancer* 2005, **41**:702-707.
95. Pogrebniak A, Schemainda I, Azzam K, Pelka-Fleischer R, Nussler V, Hasmann M: **Chemopotentiating effects of a novel NAD biosynthesis inhibitor, FK866, in combination with antineoplastic agents.** *European journal of medical research* 2006, **11**:313-321.
96. Yu XY, Qiao SB, Guan HS, Liu SW, Meng XM: **Effects of visfatin on proliferation and collagen synthesis in rat cardiac fibroblasts.** *Horm Metab Res* 2010, **42**:507-513.
97. Hausenloy DJ, Yellon DM: **The mitochondrial permeability transition pore: its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion.** *J Mol Cell Cardiol* 2003, **35**:339-341.
98. Hausenloy DJ: **Drug discovery possibilities from visfatin cardioprotection?** *Current opinion in pharmacology* 2009, **9**:202-207.
99. Wang P, Xu TY, Guan YF, Tian WW, Viollet B, Rui YC, Zhai QW, Su DF, Miao CY: **Nicotinamide phosphoribosyltransferase protects against ischemic stroke through SIRT1-dependent adenosine monophosphate-activated kinase pathway.** *Ann Neurol* 2011, **69**:360-374.
100. Lu LF, Yang SS, Wang CP, Hung WC, Yu TH, Chiu CA, Chung FM, Shin SJ, Lee YJ: **Elevated visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor plasma concentration in ischemic stroke.** *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2009, **18**:354-359.
101. Wang P, Guan YF, Du H, Zhai QW, Su DF, Miao CY: **Induction of autophagy contributes to the neuroprotection of nicotinamide phosphoribosyltransferase in cerebral ischemia.** *Autophagy* 2012, **8**:77-87.
102. Zhang W, Xie Y, Wang T, Bi J, Li H, Zhang LQ, Ye SQ, Ding S: **Neuronal protective role of PBEF in a mouse model of cerebral ischemia.** *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2010, **30**:1962-1971.
103. Cheng KH, Chu CS, Lee KT, Lin TH, Hsieh CC, Chiu CC, Voon WC, Sheu SH, Lai WT: **Adipocytokines and proinflammatory mediators from abdominal and epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease.** *Int J Obes (Lond)* 2008, **32**:268-274.
104. Rho YH, Chung CP, Solus JF, Raggi P, Oeser A, Gebretsadik T, Shintani A, Stein CM: **Adipocytokines, insulin resistance, and coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis.** *Arthritis and rheumatism* 2010, **62**:1259-1264.
105. Fu H, Zhu Y, You GY, Liu XJ: **[Detection of visfatin level of plasma in patients with coronary artery diseases].** *Sichuan da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Sichuan University Medical science edition* 2009, **40**:322-324.

106. Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, Liu DQ: **Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans.** *Clinical endocrinology* 2009, **71**:202-207.
107. Kadoglou NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, Fotiadis G, Theofilogiannakos EK, Kottas G, Lampropoulos S: **Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study.** *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2011, **412**:48-52.
108. Mukherjee S, Lekli I, Gurusamy N, Bertelli AA, Das DK: **Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol.** *Free radical biology & medicine* 2009, **46**:573-578.
109. Lim SY, Davidson SM, Paramanathan AJ, Smith CC, Yellon DM, Hausenloy DJ: **The novel adipocytokine visfatin exerts direct cardioprotective effects.** *Journal of cellular and molecular medicine* 2008, **12**:1395-1403.
110. Nadtochiy SM, Redman E, Rahman I, Brookes PS: **Lysine deacetylation in ischaemic preconditioning: the role of SIRT1.** *Cardiovascular research* 2011, **89**:643-649.
111. Rahmouni K, Correia ML, Haynes WG, Mark AL: **Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms.** *Hypertension* 2005, **45**:9-14.
112. Wang P, Bai C, Xu QY, Xu TY, Su DF, Sassard J, Miao CY: **Visfatin is associated with lipid metabolic abnormalities in Lyon hypertensive rats.** *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 2010, **37**:894-899.
113. Wang P, Du H, Zhang RY, Guan YF, Xu TY, Xu QY, Su DF, Miao CY: **Circulating and local visfatin/Nampt/PBEF levels in spontaneously hypertensive rats, stroke-prone spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats.** *The journal of physiological sciences : JPS* 2010, **60**:317-324.
114. Dogru T, Sonmez A, Tasci I, Yilmaz MI, Erdem G, Erturk H, Bingol N, Kilic S, Ozgurtas T: **Plasma visfatin levels in young male patients with uncomplicated and newly diagnosed hypertension.** *Journal of human hypertension* 2007, **21**:173-175.
115. Kim SR, Bae SK, Choi KS, Park SY, Jun HO, Lee JY, Jang HO, Yun I, Yoon KH, Kim YJ, et al: **Visfatin promotes angiogenesis by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2.** *Biochemical and biophysical research communications* 2007, **357**:150-156.
116. Xiao J, Xiao ZJ, Liu ZG, Gong HY, Yuan Q, Wang S, Li YJ, Jiang DJ: **Involvement of dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 in visfatin-enhanced angiogenic function of endothelial cells.** *Diabetes/metabolism research and reviews* 2009, **25**:242-249.
117. Adya R, Tan BK, Chen J, Randeve HS: **Nuclear factor-kappaB induction by visfatin in human vascular endothelial cells: its role in MMP-2/9 production and activation.** *Diabetes care* 2008, **31**:758-760.

118. Adya R, Tan BK, Chen J, Randeve HS: **Pre-B cell colony enhancing factor (PBEF)/visfatin induces secretion of MCP-1 in human endothelial cells: role in visfatin-induced angiogenesis.** *Atherosclerosis* 2009, **205**:113-119.
119. Bae YH, Bae MK, Kim SR, Lee JH, Wee HJ, Bae SK: **Upregulation of fibroblast growth factor-2 by visfatin that promotes endothelial angiogenesis.** *Biochemical and biophysical research communications* 2009, **379**:206-211.
120. Cinti S: **Between brown and white: novel aspects of adipocyte differentiation.** *Annals of medicine* 2011, **43**:104-115.
121. Frontini A, Cinti S: **Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ.** *Cell metabolism* 2010, **11**:253-256.
122. Sacks HS, Fain JN, Holman B, Cheema P, Chary A, Parks F, Karas J, Optican R, Bahouth SW, Garrett E, et al: **Uncoupling protein-1 and related messenger ribonucleic acids in human epicardial and other adipose tissues: epicardial fat functioning as brown fat.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2009, **94**:3611-3615.
123. Gao YJ: **Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction.** *Current pharmaceutical design* 2007, **13**:2185-2192.
124. Rajsheker S, Manka D, Blomkalns AL, Chatterjee TK, Stoll LL, Weintraub NL: **Crosstalk between perivascular adipose tissue and blood vessels.** *Current opinion in pharmacology* 2010, **10**:191-196.
125. Yildiz O, Seyrek M, Gul H: **Pharmacology of arterial grafts for coronary artery bypass surgery.** *Artery bypass: InTech*; 2013.
126. Mulvany MJ, Aalkjaer C: **Structure and function of small arteries.** *Physiological reviews* 1990, **70**:921-961.
127. Clark SG, Fuchs LC: **Role of nitric oxide and Ca⁺⁺-dependent K⁺ channels in mediating heterogeneous microvascular responses to acetylcholine in different vascular beds.** *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1997, **282**:1473-1479.
128. de Wit C, Wolfle SE: **EDHF and gap junctions: important regulators of vascular tone within the microcirculation.** *Current pharmaceutical biotechnology* 2007, **8**:11-25.
129. Edwards G, Dora KA, Gardener MJ, Garland CJ, Weston AH: **K⁺ is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries.** *Nature* 1998, **396**:269-272.
130. Fisslthaler B, Popp R, Kiss L, Potente M, Harder DR, Fleming I, Busse R: **Cytochrome P450 2C is an EDHF synthase in coronary arteries.** *Nature* 1999, **401**:493-497.
131. Quilley J, McGiff JC: **Is EDHF an epoxyeicosatrienoic acid?** *Trends in pharmacological sciences* 2000, **21**:121-124.
132. Ellis A, Triggle CR: **Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone.** *Canadian journal of physiology and pharmacology* 2003, **81**:1013-1028.

133. Chen G, Suzuki H, Weston AH: **Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels.** *British journal of pharmacology* 1988, **95**:1165-1174.
134. Garland CJ, Plane F, Kemp BK, Cocks TM: **Endothelium-dependent hyperpolarization: a role in the control of vascular tone.** *Trends in pharmacological sciences* 1995, **16**:23-30.
135. Crane GJ, Gallagher N, Dora KA, Garland CJ: **Small- and intermediate-conductance calcium-activated K⁺ channels provide different facets of endothelium-dependent hyperpolarization in rat mesenteric artery.** *The Journal of physiology* 2003, **553**:183-189.
136. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ: **Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2006, **91**:295-299.
137. Lopez-Bermejo A, Chico-Julia B, Fernandez-Balsells M, Recasens M, Esteve E, Casamitjana R, Ricart W, Fernandez-Real JM: **Serum visfatin increases with progressive beta-cell deterioration.** *Diabetes* 2006, **55**:2871-2875.
138. Forstermann U, Munzel T: **Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace.** *Circulation* 2006, **113**:1708-1714.
139. Forstermann U: **Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease.** *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 2010, **459**:923-939.
140. Fain JN, Sacks HS, Buehrer B, Bahouth SW, Garrett E, Wolf RY, Carter RA, Tichansky DS, Madan AK: **Identification of omentin mRNA in human epicardial adipose tissue: comparison to omentin in subcutaneous, internal mammary artery periadventitial and visceral abdominal depots.** *Int J Obes (Lond)* 2008, **32**:810-815.

ÖZGEÇMİŞ

Zeliha Bayram, 29.03.1984'de Konya/Akşehir'de doğdu. İlk öğrenimini Bayat Merkez İlkokulu'nda (1989-1994), orta öğrenimini Akşehir Merkez Ortaokulu'nda (1994-1997), lise öğrenimini Akşehir Selçuklu Süper Lisesi'nde (1997-2001) tamamladı. 2005 yılında Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi'nden fakülte birincisi olarak mezun oldu. 2005-2010 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde hastane eczacısı olarak çalıştı. Yüksek lisans eğitimimi (2006-2009), Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda tamamladı. Doktora eğitimine 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda başladı. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Doktora eğitimi sırasında 2013 yılında, Avrupa Komisyonu Eğitim ve Staj (European Commission Education & Training) hareketliliği kapsamında, ERASMUS (European Community Action Scheme for the Mobility of University Students) bursunu kazanarak, 3 ay Avusturya Graz Tıp Üniversitesi, Deneysel ve Klinik Farmakoloji Enstitüsünde, insan periferik kan örneklerinden çeşitli lökosit alttıplerinin (eozinofiller, nötrofiller, monositler) izolasyonu ve purifikasyonu, insan endotel hücre kültürü çalışmaları ve endotelial hücrelerdeki impedans ölçüm yöntemleri başta olmak üzere çeşitli teknikleri öğrendi. Yüksek lisans ve doktora eğitim dönemlerinde Science Citation Index ve Science Citation Index-Expanded'a kayıtlı dergilerde yayımlanmış 6 makale çalışması bulunan Zeliha Bayram, 9'u uluslararası olmak üzere 18 bildiriye sahiptir. 2015 yılında katıldığı bir kongrede (EACPT 2015: 12th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics) Genç Katılımcı Destek Ödülü'nü kazanmıştır. Halen Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.