

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

NESFATİN-1'İN DAMAR YANITLILIĞI VE KALP HIZI
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

AYŞE BARUTCİGİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2016-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

NESFATİN-1'İN DAMAR YANITLILIĞI VE KALP HIZI
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe BARUTCİGİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2014-119 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2016-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.24/06/2016

İmza

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şükriye YEŞİLOT
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Bucak Sağlık Yüksekokulu

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Ayşe BARUTCİGİL

İmza

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında sahip olduğu bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam sayın Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL'e değerli fikirleri, rehberliği ve akademik gelişimime tüm katkıları için,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM'e çalışmalarımız ve kişisel gelişimimize verdiği destekleri için,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev alan tüm değerli hocalarıma ve kıymetli arkadaşlarıma,

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Hayatımın her aşamasında her türlü desteğiyle yanımda olan sevgili eşime tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

Amaç: Son çalışmalar perivasküler adipoz dokunun (PVAT) adipokin adı verilen çeşitli mediyatörleri salgılayarak vasküler düz kas reaktivitesini düzenlediğini göstermektedir. PVAT tarafından salgılanan yeni adipokinlerden biri de nesfatin-1'dir. Çeşitli periferik dokularda nesfatin-1'in geniş ölçüde eksprese edildiği bildirilmekle birlikte, kardiyovasküler aktivitede in vitro nesfatin-1'in direk etkisi iyi bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı sıçan sağ atrium ve torasik aortunun in vitro bir modelini kullanarak nesfatin-1'in kardiyovasküler reaktivitedeki etkilerinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Deneylerin ilk bölümü yetişkin sıçanlardan izole edilen sağ atriumlarda gerçekleştirilmiştir. Atrial dokularda nesfatin-1'in kontraktıl ve kronotropik etkileri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Deneylerin diğer kısmında izole sıçan torasik aortunda potasyum klorid (10-80 mM), fenilefrin (10^{-9} - 10^{-5} M), asetilkolin (10^{-9} - 10^{-5} M) ve sodyum nitropurissid'e (10^{-11} - 10^{-6} M) yanıt olarak izometrik gerilim çalışmaları yapılmıştır. Ekstraselüler alandan Ca^{2+} girişi mekanizmasını aktive etmek amacıyla yüksek KCl solüsyonu (Ca^{2+} 'suz 80 mM) kullanılmıştır. Ayrıca ekstraselüler Ca^{2+} yokluğunda (Ca^{2+} 'suz Krebs solüsyonu) IP3 ile stimüle edilen intraselüler Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınımını stimüle etmek amacıyla fenilefrin kullanılmıştır.

Bulgular: Nesfatin-1 (10-100 ng/ml) konsantrasyona bağımlı olarak atış hızı ve kasılma amplitütlerinde artış oluşturmaktadır. Endoteli sağlam torasik aortta, nesfatin-1 konsantrasyon bağımlı gevşemeye neden olmaktadır. Ayrıca, nesfatin-1 inkübasyonu (10 ng/ml, 60 dk) torasik aortta asetilkolin ve sodyum nitropurissid ile indüklenen gevşeme yanıtlarını anlamlı olarak artırmaktadır. Diğer yandan, aort halkalarına nesfatin-1 inkübasyonu KCl ve fenilefrin ile indüklenen konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları üzerine etki göstermemektedir. Ca^{2+} 'suz yüksek KCl solüsyonuna Ca^{2+} ilavesi ile indüklenen kontraksiyonlar ve ekstraselüler Ca^{2+} yokluğunda fenilefrin ile indüklenen kontraksiyonlar da nesfatin-1 inkübasyonu ile değişmemektedir.

Sonuç: Nesfatin-1 periferik arter direnci ve kardiyak kontraktılite üzerinde direkt etkisi aracılığıyla periferik kardiyovasküler yanıtları etkileyebilir.

Anahtar Kelimeler: nesfatin-1, kardiyovasküler reaktivite

ABSTRACT

Objective: Recent studies have shown that perivascular adipose tissue (PVAT) modulated vascular smooth muscle reactivity by releasing several mediators called adipokines. One of the novel adipokines secreted by PVAT is nesfatin-1. Although nesfatin-1 is widely expressed in various peripheral tissues, direct effects of nesfatin-1 on cardiovascular activity in vitro are not known well. The aim of this study was to investigate the effects of nesfatin-1 on cardiovascular reactivity by using an in vitro model of rat right atrium and thoracic aorta.

Method: The first set of experiments were conducted on right atria isolated from adult rats. The contractile and chronotropic effects of nesfatin-1 on atrial tissues were assessed in vitro. In another set of experiments, isometric tension studies were performed in isolated rat thoracic aorta in response to potassium chloride (10-80 mM), phenylephrine (10^{-9} – 10^{-5} M), acetylcholine (10^{-9} – 10^{-5} M) and sodium nitroprusside (10^{-11} – 10^{-6} M). High KCl solution (Ca^{2+} -free 80 mM) was used to activate the Ca^{2+} entry mechanism from the extracellular space. Also, phenylephrine was used to stimulate IP₃-stimulated Ca^{2+} release from the intracellular Ca^{2+} stores in the absence of extracellular Ca^{2+} (Ca^{2+} -free Krebs solution).

Results: Nesfatin-1 (10-100 ng/ml) produced a concentration-dependent increase in the amplitude of contractions and the beating rate. In endothelium-intact thoracic aort, nesfatin-1 caused a concentration-dependent relaxation. Also, nesfatin-1 incubation (10 ng/ml, 60 min) significantly augmented both acetylcholine- and sodium nitroprusside-induced relaxations in thoracic aorta. On the other hand, incubation of thoracic aorta rings with nesfatin-1 had no influence on the potassium chloride- and phenylephrine-induced contractions. The contractions induced by stepwise addition to Ca^{2+} were not significantly altered by nesfatin-1 incubation as well as contractions induced by phenylephrine in the absence of extracellular Ca^{2+} .

Conclusion: Nesfatin-1 may directly affects peripheral cardiovascular responses through directly acting on peripheral arterial resistance and on cardiac contractility.

Key words: nesfatin-1, cardiovascular reactivity

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PVAT'ın Fonksiyonları	7
2.2. Dinlenme Durumundaki Damar Düz Kas Tonusunun Düzenlenmesinde PVAT'ın Rolü	10
2.3. Vazorelaksan ve Vazokonstrüktör Özellikleriyle Adipokinler	13
2.4. Vazorelaksan Adipokinler	17
2.5. Vazokontraktil Adipokinler	19
2.6. Perivasküler adipoz doku ve epikardiyal adipoz dokunun yararlı etkileri	20
2.7. Disregüle Perivasküler Adipozitlerin Patolojik Etkileri	22
2.8. Perivasküler Adipoz Doku Kaynaklı Adipokinler ve Kardiyovasküler Hastalık	24
2.9. Nesfatin-1'in Periferik Dokulardaki Dağılımı ve Fonksiyonları	28
2.10. Nesfatin-1 Geni	30
2.11. Nesfatin-1'in Sekresyon Alanı	30
2.12. Nesfatin-1'in Adipoz Doku Ekspresyonu, Plazma Düzeyleri ve Vücut Ağırlığı	30
2.13. Farklı Metabolik Koşullarda NUCB2/Nesfatin-1 Düzeyleri	31
2.14. Nesfatin-1 ve Besin Alımı	33
2.15. Nesfatin-1'in Pankreastaki Ekspresyonu ve İnsülin Salınımı	33
2.16. Nesfatin-1'in Sindirim Sistemindeki Ekspresyonu, İştah ve Enerji Metabolizması	34
2.17. Diğer Dokularda Nesfatin-1	35
2.18. Nesfatin-1 ve Sinir Sistemi	36
2.19. Nesfatin-1, Stres ve Anksiyete	37
2.20. Nesfatin-1 ve Kardiyovasküler Sistem	37
2.21. Nesfatin-1 ve L Tipi Kalsiyum Kanalları	38
2.22. Nesfatin-1'in Ana Klinik Uygulamaları	39
2.23. Negatif Klinik Uygulamalar	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM	41

3.1. Deneysel Model	41
3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar	43
3.3. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Bazal Tonus Üzerine Nesfatin-1'in Etkileri	44
4.2. Fenilefrin ile Oluşan Kasılma Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi	45
4.3. Endotele Bağımlı ve Endotelden Bağımsız Gevşeme Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi	46
4.4. Kasılma Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi	49
4.6. Nesfatin-1'in Kalp Kasılma Gücü Üzerine Etkisi	56
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Adokinlerin rol oynadığı hücresel süreçler	6
Tablo 2.2: Adipokinlerin Vazoaktif Etkileri.	12
Tablo 2.3: İnsan ve hayvan çalışmalarında EAT ve/veya PVAT'tan salınan vasküler-koruyucu faktörler	22



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Adipoz doku ve kan damarları arasındaki etkileşim.	5
Şekil 2.2: Sağlıklı ve obez durumda PVAT'ın ürettiği adipokinlerin karşılaştırılması	9
Şekil 2.3: Adipoz doku tarafından üretilen adipokinlerin damar tonusu üzerindeki etkileri	12
Şekil 2.4: Perivasküler ve epikardiyal adipoz doku depolarının anatomisi.	21
Şekil 2.5: Normal sağlıklı koşullarda ve obezitede PVAT'ın parakrin etkilerine aracılık eden sinyal yolları.	24
Şekil 2.6: Ateroskleroz ve tromboz süreci ve adipokinlerin bu süreçteki rolü	25
Şekil 2.7: Sağlıklı ve sağlıklı olmayan adipoz dokunun kardiyovasküler fonksiyonlar açısından karşılaştırılması.	28
Şekil 2.8: NUCB2/Nesfatin-1'in periferel dokulardaki ekspresyonu	29
Şekil 2.9: Nesfatin-1'in damarlar üzerindeki etkisinin olası sinyal yolları.	38
Şekil 3.1: Aort ve sağ atrium preparatlarının hazırlanışı	42
Şekil 4.1: Nesfatin-1'in artan konsantrasyonlarda bazal tonus üzerindeki etkisi	44
Şekil 4.2: Nesfatin-1 uygulaması sonrası bazal tonusun zaman bağılı seyrinin trasesi	44
Şekil 4.3: Fenilefrin kasılması sonrası Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtı	45
Şekil 4.4: Fenilefrin kasılması sonrası Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtının trasesi	45
Şekil 4.5: Endotele bağımlı gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi	46
Şekil 4.6: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası alınan ACh konsantrasyon-yanıt eğrileri	47
Şekil 4.7: Endotelden bağımsız gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi	48
Şekil 4.8: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası alınan SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri	48
Şekil 4.9: KCl ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi	49
Şekil 4.10: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası KCl konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi	50

Şekil 4.11: Fenilefrin ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi	51
Şekil 4.12: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası Fe konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi	51
Şekil 4.13: Ca^{+2} 'suz KCl ile depolarize edilen dokularda dışarıdan verilen Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi	52
Şekil 4.14: Ca^{+2} 'suz KCl ile depolarize edilen dokularda dışarıdan verilen Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıt eğrisinin trasesi	53
Şekil 4.15: Ca^{+2} 'suz Krebs varlığında fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtlarına Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisi.	54
4.5. Nesfatin-1'in Kalp Hızı Üzerine Etkisi	55
Şekil 4.17: Nesfatin-1'in kalp atım hızı üzerine etkisi.	55
Şekil 4.18: Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp atım hızı değişiminin trasesi	56
Şekil 4.19: Nesfatin-1'in kalp kasılma gücü üzerine etkisi.	57
Şekil 4.20: Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp kasılma gücündeki değişiminin trasesi	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-HT	: 5-Hidroksi Triptamin
ADRF	: Adipozit Kaynaklı Relaksan Faktör
A-FABP	: Adipozit Yağ Asidi Bağlayıcı Protein
AMI	: Akut Miyokard İnfarktüsü
AMP	: Adenozin Monofosfat
ARC	: Arkuat Nukleus
BAT	: Kahverengi Adipoz Doku
BH₄	: Tetrahidrobiopterin
BKCa	: Büyük Kondüktanslı Ca ⁺² ile aktive olan potasyum kanalı
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
CCK	: Kolesistokinin
CEPT	: Kolesterol Ester Transfer Protein
EAT	: Epikardiyal Adipoz Doku
EDHF	: Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Edici Faktör
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ERK ½	: Ekstraselüler Sinyalle İlişkili Kinaz
ET-1	: Endothelin-1
GMP	: Guanozin Monofosfat
GnRH	: Gonadotropin Saliverici Hormon
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
HUVEC	: İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücreleri
IL-6	: İnterlökin-6
InsR	: İnsülin Reseptörü
IRS-1	: İnsülin Reseptör Substrat-1
K_{ATP}	: ATP bağımlı K kanalı

KCa	: Kalsiyumla aktive olan potasyum kanalı
K_v Kanalı	: Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı
LH	: Luteinleştirici Hormon
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
MSH	: Melanosit Stimüle Edici Hormon
mTOR	: Memeli Rapamycin Hedefi
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NPR-A	: Natriüretik Peptit Reseptör A
NPY	: Nöropeptit Y
NTS	: Nukleus Tractus Solitarius
NUCB2	: Nükleobindin-2
PAI-1	: Plazminogen Aktivatör İnhibitör-1
PC	: Prohormon Konvertaz
PEPCK	: Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz
pGC	: Partikulat Guanilat Siklaz
PVAT	: Perivasküler Adipoz Doku
PVN	: Paraventriküler Nukleus
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SNS	: Santral Sinir Sistemi
SON	: Supraoptik nukleus
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
TORC	: Rapamicin Kompleks Hedefi
VCAM	: Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WAT	: Beyaz Adipoz Doku

1. GİRİŞ

Nesfatin-1; hipotalamik bölgelerde bulunan, enerji dengesini düzenleyen yeni tanımlanmış bir adipokindir. Nesfatin-1, nükleobindin-2 (NUCB2) peptidinden kaynaklanan ve konvertazlarla proteoliz sayesinde oluşan 82 aminoasitlik bir rezidüdür ve melanokortin sinyali ile ilişkili tokluk indükleyici anoreksijenik bir faktördür (Oh ve ark., 2006). Nesfatin-1, periferde ve beyinde üretilir, iştahı, stres hormonu salınımını ve kardiyovasküler fonksiyonları düzenlediği gösterilmiştir (Yosten ve Samson, 2014). Nesfatin-1/NUCB2 immünoreaktif hücrelerin kemirgenlerde pankreasta, midede, duodenumda, adipoz dokuda, santral amygdaloid çekirdekte, hipotalamusta, nucleus accumbenste, serebellumda ve lumbar spinal kordda eksprese olması nesfatin-1/NUCB2'nin karbonhidrat metabolizması, gastrointestinal fonksiyon ve gıda emiliminin fizyolojisinin düzenlenmesinde önemli rolü olabileceğini göstermektedir (Goebel ve ark., 2009a; Ogiso ve ark., 2011; Ramanjaneya ve ark., 2010; Stengel ve ark., 2009a; Su ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2010a). Nesfatin-1 mRNA ekspresyonun gastrik mukozada beyinden 10 kat fazla bulunduğu ve dolaşımdaki nesfatin-1'in ana kaynağının mide olduğu bildirilmiştir (Stengel ve ark., 2009b).

Nesfatin-1 tokluk indükleyici etkisi yanısıra önemli patofizyolojik etkilere sahip olan bir adipokindir. Son çalışmalar periferel nesfatin-1'in glikoz homeostazının kontrolünde potansiyel bir etkisinin olabileceğini göstermektedir (Su ve ark., 2010). Nesfatin-1'in intravenöz enjeksiyonunun hiperglisemik farelerde kan şekerini anlamlı olarak düşürdüğü bulunmuştur. Bu antihiperglisemik etki zaman, doz, insülin bağımlıdır ve periferel olarak ortaya çıkmaktadır. Plazma nesfatin-1 konsantrasyonu diyabetik insan ve sıçanlarda glikoz seviyesiyle ters olarak korelasyon gösterir (Li ve ark., 2010).

Nesfatin-1 kardiyovasküler etkilere de sahip bir adipokindir. Angelone ve arkadaşları (2013) nesfatin-1 proteini ve NUCB2 mRNA'nın varlığını insanda, farede ve sıçan kalbinde (hem atrial hem de ventriküler kardiyomyositlerde) belirlemiş ve eksojen nesfatin-1'in langendorf perfüze izole sıçan kalbinde kasılma ve gevşemeyi azaltabileceğini göstermiştir. Feijoo-Bandin ve arkadaşları (2013) koroner arter hastalığı olan insanlarla ilgili araştırmalar yapmış ve sağlıklı kadınlarla

karşılaştırıldığında, koroner arter hastalarının NUCB2 mRNA seviyelerinin atriyumda daha yüksek seviyede olduğunu göstermişlerdir. Angelone ve arkadaşları da (2013) nesfatin-1'in myokardial performansı direk olarak etkilediğini, bu etkinin guanilat siklaz bağımlı natriüretik peptid reseptör A, pGC/pKG yolağı ve ekstraselüler sinyal regüle kinazlar 1/2 ile ilişkili olabileceğini göstermişler ve peptidin kalbi iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruduğunu ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan, merkezi nesfatin-1'in hipertansiyondan sorumlu sinirsel yolları aktive ettiği gösterilmiştir (Mimee ve ark., 2012). Bu etkinin hipotalamik melanokortin 3/4 reseptörleri aracılı sempatik sinirlerin aktivasyonu üzerinden olduğu varsayılmıştır (Yosten ve Samson, 2009). Nesfatin-1'in intraserebroventriküler olarak mikroenjeksiyonu kan basıncını ve kalp hızını bilinçli ve anestezi uygulanmış sıçanlarda arttırmaktadır (Tanida ve Mori, 2011; Yosten ve Samson, 2009). Yamawaki ve arkadaşları (2012) nesfatin-1'in sıçanlarda izole mezenterik arterde siklik GMP üretimini inhibe edip sodyum nitroprussid (SNP) ile indüklenen düz kas gevşemesini azaltarak kan basıncını arttırıcı etki oluşturduğunu göstermişlerdir.

Birçok araştırmada plazma visfatin seviyesi ve endotel disfonksiyonu arasında direk bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde; yeni bir adipositokin olan nesfatin-1'de endotel fonksiyonları üzerine etki gösteriyor olabilir. Akut myokard infarktüsü (AMI) hastalarda plazma nesfatin-1 seviyeleri yüksek sensitiviteli C reaktif proteini, nötrofil yüzdesi ve Gensini skorlarıyla negatif olarak korelasyon göstermektedir. Bu bilgiler düşük nesfatin-1 konsantrasyonunun AMI oluşumunda önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Dai ve ark., 2013). Bununla birlikte, nesfatin-1'in endotel fonksiyonları üzerine etkisi günümüze kadar incelenmemiştir. Diğer yandan, adipokinlerin potansiyel olarak izole kan damarlarında kontraktıl reaktiviteyi etkilediği de bilinmektedir. Son kanıtlar adipositokin olarak adlandırılan adiposit kaynaklı hormonların periferik kan damarları ve kan basıncında kontraktıl reaktiviteyi etkileyebileceğini göstermiştir.(Yamawaki, 2011a; b). Yeni bir adipositokin olan nesfatin-1 uygulamasının arteriel kan basıncında artışa sebep olduğu bilinmekle birlikte, periferik kan damarlarında nesfatin-1'in direkt olarak kontraktıl reaktiviteyi etkileyip etkilemeyeceği konusu da yeterince incelenmemiştir. Nesfatin-1'in anoreksijenik ve hipertansif etkileri melanokortin 3/4 reseptörleri

aracılığıyla ortaya çıkmaktadır (Oh ve ark., 2006). Melanokortin 3 reseptör mRNA'nın mürin mesenterik vasküler yatağında da eksprese olduğu gösterilmiştir (Leoni ve ark., 2008). Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, nesfatin-1'in diğer adipokinler gibi vasküler reaktiviteyi değiştirmesi ve periferel arteriyel kontraktileteyi etkilemesi sözkonusu olabilir, ancak bu konu da henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışmada yeni bir adipositokin olan nesfatin-1'in bazal koşullarda kalp hızı ve kasılma gücü üzerine etkisi yanı sıra, damar reaktivitesine etkisi olup olmadığı sıçan izole atrium ve torasik aort preparatları kullanılarak incelenmiştir.



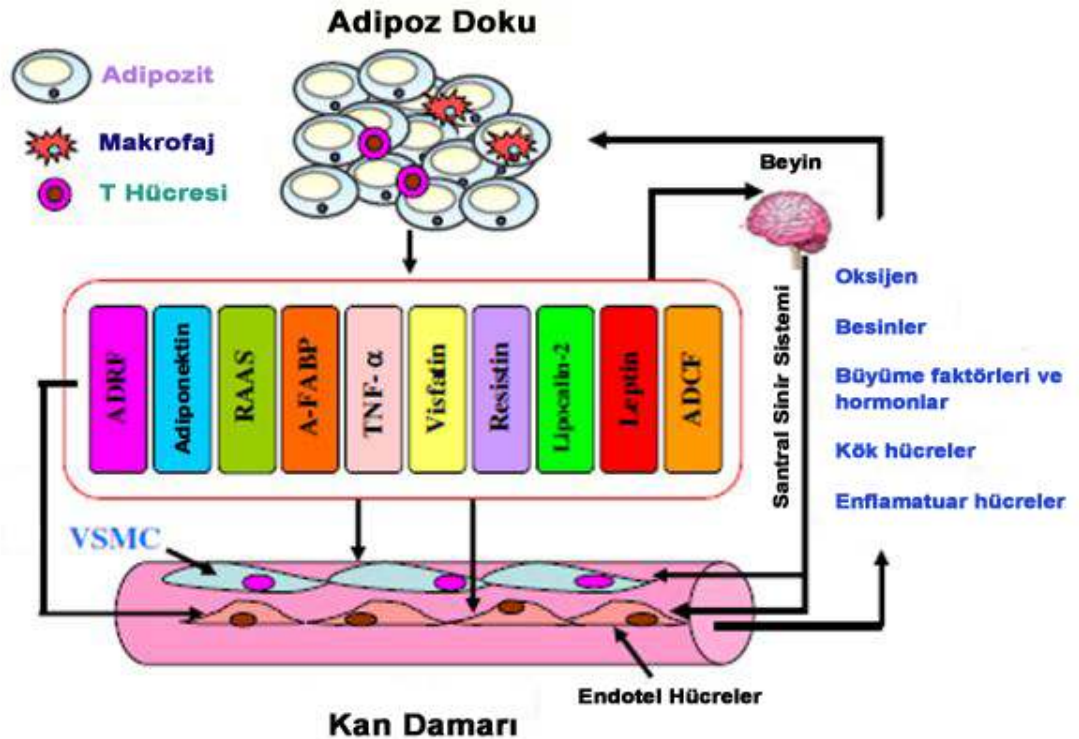
2. GENEL BİLGİLER

Damar düz kasının vazokonstrüktörlere karşı reaktivitesi yaş, cinsiyet, afinite, sıcaklık, reseptör rezervi ve patolojik durumdan etkilenmektedir (Dyer, 1982). Kan damarlarını saran endotel hücreleri hem kanla hem de yakın ve uzak doku aracılı mekanik kuvvetlerle, direk hücre iletişimiyle, parakrin ve endokrin faktörlerin değişimiyle ilişki içindedir (Leoni ve ark., 2008). Arter ve arteriollerde endotel tarafından nitrik oksit (NO) üretimini aktive eden kan akışının neden olduğu kuvvetler inflamasyon stimüle edici sinyalleri sınırlamaktadır (Dekker ve ark., 2006). Endotel hücreleri, makrofajlar ve diğer lökositlerden salgılanan sitokinlere gen ekspresyon profilini değiştirerek direk olarak yanıt verirler (Pober ve Sessa, 2007). Endotel hücreleri, vazorelaksan (NO, prostasiklin, endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör EDHF) ve konstrüktör (endotelin-1) faktörler üretilip düz kas hücrelerini etkilerken, düz kas hücreleri ve perisitler de endotel stabilitesi ve fonksiyonlarını etkilemektedir (Tsurumi ve ark., 1997). Dahası, endotel hücreleri hormonlar, vazoaaktif ajanlar ve sinirsel uyarılar gibi uzakta oluşan sinyallere de yanıt verirler. Arterlerin vazoregülasyonu, östrojenlerden, insülin, norepinefrinden, bradikinin, angiotensin II'den, asetilkolin, substance P ve diğer birçok vazoaaktif ajandan etkilenmektedir (Busse ve Fleming, 2006). Damar düz kas tonusunu düzenleyen diğer başka faktörlerin de olduğu son 20 yılda ortaya çıkmış olup, bu faktörler halen araştırılmaktadır.

Adipoz doku, adipozitler, makrofajlar, T hücreleri, kollajen lifler, sinir ve kapillerleri içeren ve vücudun her yerine yayılmış olan kompleks hücre tipi dizisidir (Nedergaard ve ark., 2007). Visseral ve subkütan yağ dokularından oluşan beyaz adipoz doku (WAT) ve kemirgen ve insan infantlarının interskapular alanında bulunan kahverengi adipoz doku (BAT) olmak üzere iki tipi vardır. WAT, inflamatuvar karakteristiğe bağlı olarak insülin direnci ve kardiyovasküler olaylarla ilişkilidir. Serebral damarların dışında, damar düz kasları kan damarlarının etrafındaki lokasyonundan dolayı perivasküler adipoz doku (PVAT) adı verilen adipoz bir dokuyla çevrelenmektedir (Oriowo, 2015). Zayıf farelerde ve erkeklerde PVAT; adipozitlerin yanı sıra fibroblastlar, lökositler, kök hücreler ve kapillerleri içeren stromal hücrelerden meydana gelen ince bir adipoz doku tabakasıdır (Eringa ve ark., 2012;

Meijer ve ark., 2011). PVAT, embriyonik gelişim sırasında oluşmaya başlamaktadır. Son yıllarda adventisya ve adventisya ile ilişkili PVAT ile endotel ve arteriel intimanın diğer hücreleri arasında iletişim olduğunu gösteren veriler artmaktadır (Eringa ve ark., 2012). Birçok kan damarının etrafını saran PVAT komşu dokularda kasılma oluştuğunda damarlara mekanik bir koruma sağlamaktadır (Szasz ve Webb, 2012). Bununla birlikte; sağlıklı ve hasta adipoz dokunun fonksiyon ve farklılaşmasının anlaşılması ile PVAT ile ilgili araştırmalara ilgi son yıllarda artmıştır.

PVAT'ın başta kan damarlarının mekanik bir desteği olduğu düşünülürken, günümüzde vasküler endotelyal büyüme faktörü, TNF- α , leptin, adiponektin, insülin benzeri büyüme faktörü, IL-6, plazminojen aktivatör substans, resistin ve anjiotensinojen gibi çeşitli biyoaktif maddeleri salgılayan parakrin ve endokrin bir organ olduğu ortaya çıkmıştır (Oriowo, 2015) (Şekil 2.1). Bu maddeler, adipozit metabolizması yanı sıra, damar düz kas tonusunu da içeren diğer hücrelerel süreçleri de düzenlemektedir (Szasz ve Webb, 2012) (Tablo 2.1).



Şekil 2.1: Adipoz doku ve kan damarları arasındaki etkileşim.

Tablo 2.1: Adokinlerin rol oynadığı hücresel süreçler

Fizyolojik Süreç	İlişkili Adipokinler
Glikoz metabolizması	Adiponektin, Resistin
Lipit metabolizması	CETP, retinol bağlayıcı protein
İmmünite	Adipsin
Enflamasyon	TNF α , IL-6
Koagülasyon	PAI-1
Üreme	Leptin, Ghrelin
Pankreatik β -hücre fonksiyonu	IL-6, Adiponektin, Visfatin
Angiogeneze	Leptin, VEGF, HGF
Beslenme alışkanlığı	Leptin
Vasküler tonus düzelmesi	ADRF, Leptin, Adiponektin
CETP: Kolesterol ester transfer protein, TNF α : Tümör nekrotizan faktör α , PAI-1; Plazminogen aktivatör inhibitör-1, VEGF: vasküler endotelial büyüme faktörü, HGF: hepatosit büyüme faktörü, ADRF, adipozit kaynaklı gevşetici faktör	

Her ne kadar adventisyanın dış tabakasında perivasküler adipozitlerle karşılaşılrsa da PVAT ayrı bir dokudur (Eringa ve ark., 2012; Klein ve ark., 2011; Virmani ve ark., 2005). Adipoz doku, organizmada enerji fazla olduğunda dolan, enerjiye erişim limitli olduğunda ise boşalan bir enerji deposu olarak fonksiyon görmektedir (Van de Voorde ve ark., 2013). Leptin'in keşfinden sonra adipoz dokunun, parakrin ve endokrin hormonlar olarak görev alan ve adipositokin olarak adlandırılan biyoaktif moleküllerin üretildiği büyük bir salgı bezi olduğu ortaya çıkmıştır. Bu adipositokinlerden bazıları besin alımını kontrol ederek vücut ağırlığı homeostazında rol oynarlar.

Birçok adipositokinin adipo-kardiyovasküler ekseninde, adipoz doku, kalp ve damar yapısı arasında mediyatör olarak rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Minimal miktarda adipoz doku yaşamak için yeterli iken, obezite durumundaki fazla yağ kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkilidir ve zararlıdır. Normalde stabil bir doku olmakla birlikte, obezitede PVAT kütlesi artmakta ve bu doku inflamatuvar bir fenotip kazanmaktadır. Obezitede adipoz dokuda gelişen inflamasyon ve disfonksiyon, kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili süreçlerde gözlenen adipositokin üretimindeki bozulmayla sonuçlanır (Van de Voorde ve ark., 2013).

Obezite ve tip 2 diyabetin bir arada olması durumunda PVAT, normal zayıf bireylere göre daha büyüktür (Ouchi ve ark., 2011). PVAT diyabette ve obezitede değişmekte, genişlemekte ve inflamatuvar hücre birikimi ile çeşitli adipokinlerin ve inflamatuvar sitokinlerin üretiminde değişikliğe neden olmaktadır (Nedergaard ve ark., 2007). Bu disfonksiyonel PVAT ile metabolik sendrom ve ateroskleroz arasında mekanik bir bağlantı olduğu ve hipertansiyona katkıda bulunabileceği ya da modüle edebileceği öngörülmektedir (Calabro ve Yeh, 2007).

2.1. PVAT'ın Fonksiyonları

2.1.1. Mekanik Koruma

Kan damarları anatomisi hakkında klasik anlayış intima, media ve adventisya'yı içermektedir (Nedergaard ve ark., 2007). Damarı çevreleyen PVAT miktarı anatomik lokasyon ve damar çapına bağlı olarak değişmektedir: Aort dokusunda PVAT miktarı çokken, serebral damarlarda ve küçük çaplı arterlere azdır. PVAT'ın komşu doku kasılmalarına karşı mekanik bir koruma oluşturduğu kabul edilmektedir.

2.1.2. PVAT'ın Antikontraktıl Etkisi

PVAT'ın primer fonksiyonunun mekanik destek olduğunun düşünülmesinden dolayı damar reaktivite çalışmalarında damar segmentlerinden adipoz doku uzaklaştırılarak çalışmalar yapılmıştır (Oriowo, 2015). Bu işlemin mantıklı açıklaması; PVAT'ın reaktiviteyi agonisti metabolize ederek etkileyebileceği, ya da agonistin adventisya tabakasından geçişini engelleyebileceğinin düşünülmesidir. Damar düz kas tonusunun PVAT ile modüle edilebildiğini ilk ortaya çıkaran veriler, Soltis ve Cassis (1991) tarafından ortaya koyulmuş ve sıçan aortunda PVAT'ın noradrenalin ile indüklenen kasılma yanıtını azalttığını bildirmişlerdir (Soltis ve Cassis, 1991). Fenilefrin ve potasyum klorür (KCl) kasılmalarının etkilenmemesi, PVAT'ın antikontraktıl etkisinin yağ dokusundaki adrenerjik sinirlere noradrenalin uptake'ine bağlı olabileceğini düşündürmüştür (Soltis ve Cassis, 1991). Bununla birlikte, Lohn ve arkadaşları (2002), PVAT'ın 5-HT ve anjiyotensin II'ye karşı kasılma yanıtlarını da azalttığını bulmuşlar ve bu sonuç, anjiyotensin II'nin uptake sürecinin bir substratı olmaması nedeniyle, PVAT'ın antikontraktıl etkisinde noradrenalin içeren sinirlere uptake mekanizmasının bir faktör olmadığını telkin etmiştir. PVAT'ın antikontraktıl

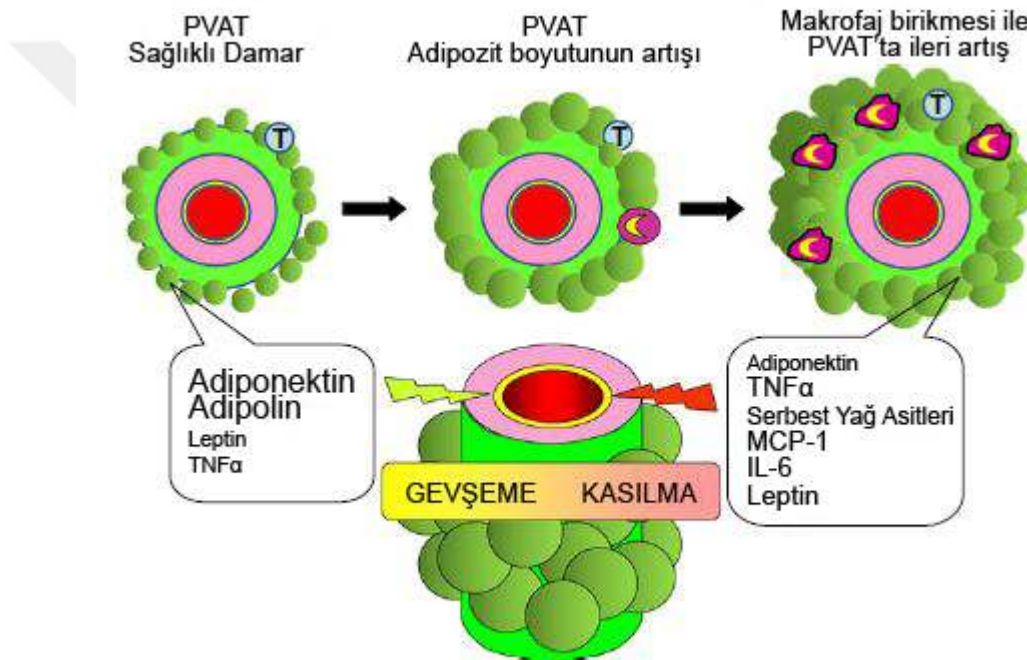
etkisi çeşitli damar düz kas hücre preparatlarında da doğrulanmıştır (Zeng ve ark., 2009). Bu antikontraktil etki sadece arterlerde değil, vena cava segmentlerinde de gösterilmiştir (Lu ve ark., 2011). PVAT'ın antikontraktil etkisi aynı arteriel preparatlarda bile tüm agonistler için eşit oranda ortaya çıkmamaktadır. Sıçan aortunda noradrenalin ile indüklenen kasılma yanıtı PVAT ile azalırken, fenilefrin ve KCl ile indüklenen kasılmalar etkilenmemekte; sıçan mezenterik arterinde ET-1 ve 5-HT ile indüklenen kasılmalar azalırken, U46619 ile indüklenen kasılma yanıtlarında değişiklik olmamaktadır (Verlohren ve ark., 2004).

Daha sonraki çalışmalarda PVAT'ın damar düz kas K^+ kanallarını açarak vazodilatasyon sağlayan çözünebilir adventisya kaynaklı gevşetici bir faktörü salgıladığı ortaya çıkmıştır (Eringa ve ark., 2012; Fesus ve ark., 2007). Adiponektin'in sıçan aortu ve fare mezenterik arterinde voltaj bağımlı potasyum kanallarının (K_v) aktivasyonu aracılığıyla vazodilatasyonu indüklediğini bildirmekle beraber, fare ve sıçan aort dokusunda PVAT'tan salınan bu adipozit kaynaklı gevşetici faktörün adiponektin olmadığı sonucuna varmışlardır. Bununla birlikte; insan subkütan yağ dokusundaki küçük arterlerde PVAT'ın vazodilatör etkisi, adiponektin'in AdipoR1 reseptörüne bağlanmasının engellenmesiyle inhibe olmuştur (Greenstein ve ark., 2009). Muhtemelen birçok adipoz doku kaynaklı gevşetici faktör angiotensin₁₋₇ gibi vazodilatasyon artırıcı faktör olarak görev yapmaktadır. Angiotensin₁₋₇, endotelden NO salınımı ve bunu takiben düz kas hücre gevşemesi üzerinden etkisini göstermektedir. Dahası; vazodilatasyonda PVAT'ın endotel bağımsız etkileri de vardır ve H_2O_2 aracılı solubl guanilat siklazın aktivasyonunu içermektedir (Gao ve ark., 2007).

Lohn ve arkadaşları (2002) PVAT'ın antikontraktil etkisinin PVAT'dan salgılanan vazodilatör bir maddenin (ADRF) adventisya'ya difüze olup gevşetici etki oluşturmasıyla ortaya çıktığını göstermişlerdir. ADRF'nin kimliği henüz aydınlatılamamakla birlikte, bu konu hakkında bilinenler ADRF salınımının Ca^{+2} bağımlı olması, endotel bağımlı gevşemeleri NO aracılığıyla, endotel bağımsız gevşemeleri de potasyum kanallarını aktive ederek gerçekleştirdiği (Verlohren ve ark., 2004), ve tirozin kinaz inhibitörü genistein ile etkisinin azalmasından dolayı tirozin kinaz aracılı etki gösteriyor olabileceğidir (Lohn ve ark., 2002).

Adiponektin, PVAT tarafından salgılanan vazodilatörlerden biridir. Diğerleri, angiotensin₁₋₇, metil palmitat ve hidrojen sülfittir (Fesus ve ark., 2007; Greenstein ve ark., 2009; Wojcicka ve ark., 2011).

Yüksek yağlı diyetten sonra ve obezitede PVAT'ın düz kas hücresi üzerindeki gevşetici etkisi, makrofajların proinflamatuvar etkisinin artması ve adipokin üretimindeki değişikliklere bağlı olarak azalmaktadır (Handa ve ark., 2011). Erkeklerde lokal inflamasyon ve hipoksi, obez kişilerde PVAT'ın koruyucu antikontraktil etkisini azaltmakta, hatta ortadan kaldırmaktadır (Greenstein ve ark., 2009) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Sağlıklı ve obez durumda PVAT'ın ürettiği adipokinlerin karşılaştırılması

2.1.3. PVAT'ın Kontraktil Etkisi

PVAT'ın vazodilatör etkilerin yanı sıra, damar yatağında kontraktil etki oluşturduğuna dair veriler de mevcuttur (Nedergaard ve ark., 2007). Renin-angiotensin sisteminin bütün komponentleri (AT(1a) ve AT(1b) reseptörleri de dahil olmak üzere) PVAT'da tespit edilmiştir (Galvez-Prieto ve ark., 2008; Hermenegildo ve ark., 2005). Dahası, in vivo çalışmalarda PVAT kaynaklı angiotensin II'nin elektriksel olarak indüklenen damar kasılmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lu ve ark., 2010). PVAT'da norepinefrin de bulunmaktadır ve damar halkalarında

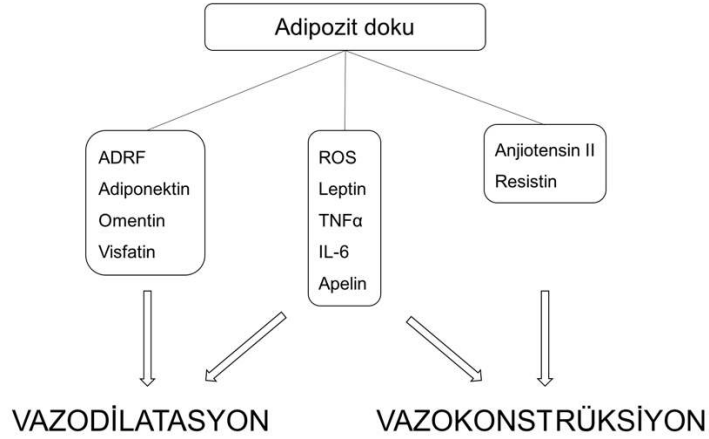
PVAT'la indüklenen kasılmaların alfa adrenerjik reseptör antagonisti ile bloke edildiği bildirilmiştir (Brown ve ark., 2014). Dahası, PVAT'ın perivasküler sinir stimülasyonuna yanıt olarak mezenter arter kontraktıl yanıtlarını süperoksit üretimi aracılığıyla artırdığı da gösterilmiştir (Gao ve ark., 2006).

2.2. Dinlenme Durumundaki Damar Düz Kas Tonusunun Düzenlenmesinde PVAT'ın Rolü

Normal şartlar altında damar tonusu adipokinlerden etkilenmektedir. Bununla birlikte; obezite ve obeziteyle ilişkili bozukluklarda adipoz dokunun büyümesi ile birlikte damar tonusunun düzenlenmesi bozulmaktadır. Bu durum vazoaaktif adipokinlerin düzensiz sentezine ve adipoz dokunun fonksiyonunun bozulup proinflatuar sitokinlerin (leptin gibi) lehine çalışmasına neden olmaktadır. Adipokinlerin bu düzensiz sekresyonu ve makrofajların adipoz dokuya infiltrasyonu, muhtemelen adipozitlerden salgılanan monosit kemoatraktan protein (MCP-1) ve leptin aracılığıyla gerçekleşmekte ve adipoz dokuda inflamasyon durumuna yol açmaktadır (Curat ve ark., 2004). Adipoz dokudaki proinflatuar durum sadece damar tonus düzensizliğine değil, aynı zamanda lokal insülin direncine, monosit adhezyonuna, damarın yeniden yapılanmasına, arter duvarında köpük hücre formasyonuna ve endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Endotel disfonksiyonu; NO biyoyararlanımında düşüş, endotel bağımlı gevşemede azalma ve dolaşımdaki hormonlara endotel yanıtın bozulmasını yansıtmaktadır. Tüm bu değişiklikler kardiyovasküler hastalıkların ve tip 2 diyabetin oluşmasına katkıda bulunmaktadır (Gustafson, 2010).

Birçok çalışmada K_v kanallarının bazal damar düz kas tonusunu düzenlediği gösterilmiştir. PVAT'ın antikontraktıl etkisinin K^+ kanalları aracılı olması, dinlenme durumunda damar düz kas tonusunun düzenlenmesinde PVAT'ın rol oynayabileceğini telkin etmektedir. Mezenterik arterlerde istirahat membran potansiyeli hiperpolarizasyon durumundadır ve bu hiperpolarizasyon PVAT'lı arter segmentlerinde PVAT'ı uzaklaştırılmış olanlara göre daha fazladır. Bu sonuç, PVAT'ın dinlenme halindeki damar düz kas tonusunun düzenlemesinde rol oynadığı düşündürmektedir (Verloren ve ark., 2004).

Damar düz kas tonusunun düzenlenmesi dışında K^+ kanallarının damar düz kaslarında agonistle indüklenen kontraksiyonları düzenlediği gösterilmiştir. Bu kanallar aktive olduğunda hiperpolarizasyonla birlikte düz kas hücrelerine ekstraselüler Ca^{+2} girişini azaltıp, kontraksiyonun azalmasına neden olmaktadır. Önceki çalışmalarda; K^+ konsantrasyonu 60 ve 80 mM arasında artırıldığında, PVAT'ın antikontraktıl etkisinin azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, K^+ kanallarının aktivasyonunun PVAT'ın antikontraktıl etkisindeki rolüne dikkati çekmektedir (Lohn ve ark., 2002; Verlohren ve ark., 2004). Yapılan çalışmaların sonuçları antikontraktıl etkiyle ilişkili K^+ kanal tipinin araştırmada kullanılan arteriel preparatın tipiyle değiştiğini göstermektedir. Sıçan aortunda ATP bağımlı K^+ kanallarının (K_{ATP}) glibenklamid ile bloke edilmesi PVAT'ın antikontraktıl etkisini ortadan kaldırmaktadır (Lohn ve ark., 2002; Verlohren ve ark., 2004). Ancak, glibenklamid'in PVAT'lı ya da PVAT'sız aort segmentlerinde 5-HT'ye yanıt olarak oluşan kontraksiyonları artırması, K_{ATP} kanallarının sıçan aortu'nda 5-HT ile indüklenen kontraksiyonlarda etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Kalsiyumla aktive olan K^+ kanallarının (K_{Ca}) tetraetilamonyum ile bloke edilmesi PVAT'lı ya da PVAT'sız sıçan aort segmentlerinde 5-HT ile indüklenen kontraksiyonları artırmakta ve bu artış PVAT'lı segmentlerde daha az gözlenmektedir. Bu sonuç, tetraetilamonyum'a duyarlı K_{Ca} kanallarının aktivasyonunun aort dokusunda PVAT'ın antikontraktıl etkisi ile ilişkisi olmadığını düşündürmektedir. Ancak, son çalışmalarda fare mezenterik arterlerinde BK_{Ca} kanal inhibitörü varlığında ya da BK_{Ca} knock-out farelerde PVAT'ın noradrenalin ile indüklenen kontraksiyonlar üzerine olan antikontraktıl etkisinin ortaya çıkmadığı gözlenmiştir (Lynch ve ark., 2013). Dahası; BK_{Ca} knock-out farelerin PVAT'ının noradrenalin ile indüklenen kontraksiyonlarda etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar fare mezenterik arterlerinde BK_{Ca} kanal aktivasyonunun PVAT'ın antikontraktıl etkisiyle ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin damar ya/ya da türe spesifik olduğunu düşündürmektedir (Li ve ark., 2013) (Şekil 2.3 ve Tablo 2.2).



Şekil 2.3: Adipoz doku tarafından üretilen adipokinlerin damar tonusu üzerindeki etkileri

Tablo 2.2: Adipokinlerin Vazoaktif Etkileri.

Adipokin	Vazoaktif Etki
Süperoksit Anyon	Ca^{+2} duyarlaştırıcı etki ile vazokonstrüksiyon, NO biyoyararlanımında düşme ile endotel bağımlı gevşemenin bozulması
Hidrojen Peroksit	K kanallarının açılması aracılığıyla endotel bağımlı ve endotel bağımsız vazodilatasyon, Ca^{+2} bağımlı ve Ca^{+2} bağımsız vazokonstrüksiyon
Leptin	Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile vazokonstrüksiyon, endotel bağımlı ve bağımsız vazodilatasyon
TNF α	Endotel bağımlı ve bağımsız vazodilatasyon, Endotelin-I'in tetiklenmesi, artmış ROS üretimi aracılığıyla PVAT'ın vazodilatör etkisinin azaltılması
IL-6	Endotelden bağımsız vazodilatasyon, artan ROS üretimine bağlı olarak PVAT'ın vazodilatör etkisinin azalması, artmış ROS ve azalmış NOS üretimine bağlı olarak endotel fonksiyonunda bozulma
Apelin	NO bağımlı damar gevşemesi, endotel bağımsız vazokonstrüksiyon
Adiponektin	K kanallarının açılması aracılığıyla NO bağımlı damar gevşemesi
Omentin	Endotel bağımlı ve endotel bağımsız damar gevşemesi
Visfatin	NO bağımlı damar gevşemesi
ADRF	Türe bağlı olarak açılan K kanalı aracılığıyla damar gevşemesi
Anjiyotensin II	Anjiyotensin tip-I reseptörlerine bağlanma aracılı vazokonstrüksiyon
Resistin	Artan endotelin-I ve azalan NO üretimine bağlı olarak endotel fonksiyonunda bozulma

2.3. Vazorelaksan ve Vazokonstrüktör Özellikleriyle Adipokinler

2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), damar tonusunun modülatörü olan süperoksit anyonu ve hidrojen peroksiti de içeren oksijen kaynaklı moleküllerin bir sınıfıdır. Damar düz kas hücrelerinin, endotel dokusunun ve PVAT'ın ROS içerdiği bilinmektedir (Gao ve ark., 2006).

Süperoksit anyonları Ca^{+2} duyarlılaştırıcı yollar aracılığıyla vazokonstriksiyonu indükleyebilir. Hidrojen peroksit, daha ziyade parakrin bir ROS'tur ve türe, damar yatağının tipine, konsantrasyona, membran potansiyeline ve obezitenin derecesine bağlı olarak hem vazorelaksan hem de vazokonstrüktör etki gösterebildiği bilinmektedir (Ardanaz ve Pagano, 2006; Ketonen ve ark., 2010; Lucchesi ve ark., 2005). Vazorelaksan etkiye bakıldığında, endotel bağımlı mekanizmaların NO ve siklooksijenaz metabolitleri aracılığıyla oluştuğu, endotel bağımsız etkinin ise düz kas hücrelerindeki farklı K^+ kanallarının aktivasyonu aracılığıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir (Gao ve ark., 2003; Marvar ve ark., 2007; Thengchaisri ve Kuo, 2003). Diğer yandan, hidrojen peroksit ile oluşan vazokonstriksiyonun Ca^{+2} duyarlılaştırıcı ve Ca^{+2} 'dan bağımsız yollarla ortaya çıkabileceği bildirilmesine rağmen, Ca^{+2} bağımlı bir yolla indüklendiği düşünülmektedir (Ardanaz ve Pagano, 2006; Gil-Longo ve Gonzalez-Vazquez, 2005).

Adipoz dokudaki süperoksit ve hidrojen peroksit üretimi obez farelerde artmakta ve bu da endotel disfonksiyonunu desteklemektedir. Süperoksit anyonları, peroksinitrit oluşumu yoluyla NO biyoyararlanımını azaltarak, endotel bağımlı damar gevşemesini bozmaktadır (Gryglewski ve ark., 1986). Dahası; ROS endotel hücrelerinde, adheziv ve kemotaktik moleküllerin ekspresyonunu upregüle edip monosit adhezyonu ve damar duvarına migrasyonu destekleyerek endotel disfonksiyonun gelişmesine katkıda bulunur. Dolaşımdaki kan hücrelerinin damar endoteline adhezyonu, ateroskleroz gibi oksidatif stresle ilişkili vasküler hastalıklarda inflamasyon ve tromboz oluşumunun temel olayıdır (Cooper ve ark., 2002).

2.3.2. Leptin

Leptin adipozitlerden salgılanan ve normal koşullar altında vazorelaksan ve vazokonstrüktör etkileriyle kan basıncı homeostazına katkıda bulunan bir adipokindir (Fruhbeck, 1999; Lembo ve ark., 2000). Leptin ile indüklenen vazorelaksan etkiden çeşitli mekanizmaların sorumlu olduğu görülmektedir. Bu etki NO salınımı ya da diğer mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkabilir (Vecchione ve ark., 2002). Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörün leptin ile indüklenen vazorelaksan etkideki rolü hakkındaki sonuçlar tartışmalıdır (Lembo ve ark., 2000). Leptin'in vasküler tonusu endotelden bağımsız olarak etkilediğine dair veriler de mevcuttur. Endoteli uzaklaştırılmış sıçan aort halkalarında, leptin'in damar düz kas hücrelerinin intraselüler depolarından Ca^{+2} salınımını inhibe ederek anjiotensin II ile indüklenen kontraksiyonları azalttığı görülmüştür (Fortuno ve ark., 2002).

Leptin düzeyi obezitede dikkat çekici şekilde artmaktadır. Obezitede hiperleptineminin kan basıncını olumsuz yönde etkileyerek hipertansiyon oluşturduğu düşünülmektedir. Erkeklerde ve kadınlarda plazma leptin düzeyi ve hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki saptanması, leptini hipertansiyonun potansiyel bir belirteci haline getirmektedir (Asferg ve ark., 2011; Shankar ve Xiao, 2010). Devam eden hiperleptinemi endotel disfonksiyonu gelişimine neden olduğundan, obezitede endotel bağımlı vazorelaksan etki bozulmaktadır (Leung ve Kwan, 2008). Bu olumsuz etki, leptin ile indüklenen vazokonstrüktör endotelin-1 (ET-1) artışının, damar düz kas hücrelerinde leptin ile indüklenen endotelin tip A reseptörü ekspresyonunun, leptin ile indüklenen NO azalmasının ve sitotoksik ROS oluşumunun bir sonucu olabilir (Juan ve ark., 2008; Quehenberger ve ark., 2002). Dahası, makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını stimüle ederek, kan basıncını artırabilir ve inflamatuvar süreci kötüleştirebilir (Loffreda ve ark., 1998).

2.3.3. TNF- α

TNF- α ; güçlü bir vazokonstrüktör ve vazodilatördür (Baudry ve Vicaud, 1993; Shibata ve ark., 1996). TNF- α 'nın vazoregülatör etkisi damar yatağına özgü olabilir. Deney protokollerin arasındaki farklılıklar da çalışmalardaki sonuçların farklılığını açıklayabilir.

PVAT, TNF- α kaynağı olarak tanımlanmıştır (Thalmann ve Meier, 2007). TNF- α aracılı vazoregülasyon, endotel bağımlı ve endotel bağımsız mekanizmalarla ortaya çıkabilir. Bazı çalışmalarda TNF- α 'nın NO ve prostaglandin üretimini artırarak vazorelaksan etkiyi indüklediğini savunulurken, bazı çalışmalarda hidrojen peroksitin katkısına dikkat çekilmektedir (Brian ve Faraci, 1998; Cheranov ve Jaggar, 2006). Diğer yandan TNF- α , ET-1 ve anjiotensin düzeylerini artırarak vazokonstrüksiyonu indüklemektedir (Brasier ve ark., 1996; Wort ve ark., 2009). Dahası TNF- α , çeşitli damar yataklarında endotel kaynaklı NO salınımını azaltarak, ya da ROS gibi NO süpürücüleri artırarak endotel bağımlı vazorelaksan etkiyi bozmaktadır (Zhang ve ark., 2002). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ROS'u upregüle eden TNF- α 'ya yanıt olarak PVAT'ın vazorelaksan etkisinin azaldığı gözlenmiştir (Greenstein ve ark., 2009). Obez kemirgen modellerinde ve obez hastalarda TNF- α mRNA'nın adipoz doku ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. TNF- α , inflamasyonla ilişkili bir molekül olarak kabul edilmektedir (Bastard ve ark., 2006). TNF- α ekspresyonunda artış ROS üretimini indükleyerek obezite ve hipertansiyon, ateroskleroz ve tip 2 diabetes gibi obeziteyle ilişkili hastalıklarda endotel disfonksiyonunun gelişmesine neden olmaktadır (Zhang ve ark., 2009).

2.3.4. İnterlökin-6

Proinflamatuvar sitokin interlökin-6 (IL-6)'nın plazma düzeyindeki artış, yüksek kan basıncı ile ilişkilidir (Lee ve ark., 2006). Diğer yandan aort dokusunun IL-6'ya akut maruziyeti gevşeme oluşturmaktadır. Bu gevşetici etkinin endotel bağımsız bir yolla damar düz kas hücrelerinde prostasiklin artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (Ohkawa ve ark., 1994).

Obezitede adipoz dokuda IL-6 düzeyinin arttığı gözlenmektedir (Chudek ve Wiecek, 2006). IL-6'nın kardiyovasküler mortaliteyle yakından ilişkili olduğu ve miyokard infarktüsü için bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (Langenberg ve ark., 2006). IL-6'nın vasküler disfonksiyonun indirek bir belirteci olmasının yanı sıra vasküler disfonksiyonda rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Eringa ve ark., 2007). Farelerde uzun süre IL-6 artışının endotelial NOS ekspresyonunu azalttığı ve anjiotensin II ile stimüle edilen ROS üretimini artırarak endotel fonksiyonu bozduğu gösterilmiştir (Schrader ve ark., 2007). Dahası, IL-6 aterosklerotik lezyon

oluşumunun başlangıcında anahtar bir durum olan damar düz kas hücre proliferasyonunu artırmaktadır.

IL-6'nın genetik olarak silinmesi farelerde, anjiotensin II ile indüklenen hipertansiyonu azaltmakta ve bu sonuç obezitede artan IL-6 düzeyinin anjiotensin II aracılığıyla hipertansiyona katkıda bulunabileceğini telkin etmektedir. Adipozit kültüründe IL-6 adiponektin gen ekspresyonunu inhibe etmektedir ve bu da obeziteyle ilişkili hipertansiyonu kötüleştirebilir (Chudek ve Wiecek, 2006).

2.3.5. Apelin

Apelin; endotel hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde ve kardiyomiyositlerde bulunmaktadır (Kleinz ve ark., 2005). Apelin, in vitro ve in vivo koşullarda insan arterlerinde NO bağımlı vazorelaksan bir etki oluşturmaktadır (Japp ve ark., 2008; Salcedo ve ark., 2007). In vivo eksojen apelin uygulaması, kan basıncında NO bağımlı hızlı bir düşüşe neden olmakta ve molekülün güçlü vazorelaksan etkisini ortaya koymaktadır (Japp ve Newby, 2008). Ancak bazı çalışmalarda apelin'in kan basıncı artışıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Kagiyama ve ark., 2005). Apelin ile indüklenen kan basıncı değişiklikleri (artma ya da azalma) doz ve zaman bağımlıdır (Charles, 2007). Dahası, apelin'in gözlenen biyoaktivitesi türe ve damar yatağına bağlı olarak değişebilir. Apelin'in direk damar düz kas hücrelerini etkileyerek vazokonstriktör potansiyeli olduğu da düşünülmektedir. Endoteli uzaklaştırılmış izole insan venlerinde apelin'in nanomolar konsantrasyonlarda anjiotensin II ile karşılaştırılacak kadar güçlü vazokonstriktör etkisi olduğu bildirilmiştir (Katugampola ve ark., 2001).

Apelin plazma konsantrasyonu obez ve hiperinsülinemili fare ve insanlarda artmaktadır. Akut maruziyetin aksine, uzun dönem apelin maruziyeti muhtemelen hipotansif etkisine karşı oluşan dirençten dolayı, kan basıncını etkilememektedir (Ashley ve ark., 2005). Aterosklerozda apelin'in yararlı etkileri olabilir, çünkü apelin'in endotelial NO'ı stimüle ettiği ve aterosklerotik mürin modelinde anjiotensin II ile indüklenen aterosklerotik lezyon ve aort anevrizması gelişimini antagonize ettiği görülmüştür (Chun ve ark., 2008).

2.4. Vazorelaksan Adipokinler

2.4.1. Adiponektin

Adiponektin dolaşımında en çok bulunan adipokindir (Mallamaci ve ark., 2002) ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu özellikleriyle bilinen antiinflamatuvar ve antioksidatif bir moleküldür. Adiponektin adipozitlerde ve makrofajlarda TNF- α üretimini ve diğer inflamatuvar yolları inhibe etmektedir (Antoniades ve ark., 2009). İnsanlarda plazma adiponektin'i endotel bağımlı damar gevşemesiyle korelasyon göstermektedir (Tan ve ark., 2004). Bu sonuçlar, adiponektin'in NO üretimini ve NO ve voltaj bağımlı K⁺ kanalları aracılı vazorelaksan etkiyi arttırdığını gösteren sonuçlarla uyum göstermektedir (Fesus ve ark., 2007; Xi ve ark., 2005). NO üretimini arttırarak trombosit agregasyonunu, endotel hücrelerine lökosit adhezyonunu ve damar düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca, endotel hücrelerinde ROS üretimini azaltarak oksidatif stresi de azaltmaktadır. Tüm bu etkilerle, vasküler sistemi endotel disfonksiyona karşı korumaktadır (Antoniades ve ark., 2009).

Tip 2 diyabet ve hipertansiyon gibi obeziteyle ilişkili hastalıklarda adiponektin düzeyinde düşme gözlenmektedir. Hipoadiponektinemi, süperoksit anyon üretimini artırarak, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü oluşumunu destekleyerek, ve düz kas hücre proliferasyonu ile endotel disfonksiyona neden olmaktadır. Düşük adiponektin düzeyi obez hastalarda erken ateroskleroz için bağımsız bir belirteçtir (Shargorodsky ve ark., 2009). Ancak ateroskleroz oluşuktan sonra bu ilişki zayıflamaktadır. Koroner arter hastalarında dolaşımdaki adiponektin düzeyinin yüksek olması kardiyovasküler mortaliteyi arttırmaktadır (Antoniades ve ark., 2009).

2.4.2. Omentin

Omentin, 313 aminoasitten oluşan subkütan adipoz dokudan çok visseralde eksprese edilen yeni keşfedilmiş adipoz doku kaynaklı bir sitokindir (Yamawaki ve ark., 2010). İki izoformu olmakla birlikte insan plazmasındaki majör izoformunun omentin-1 olduğu görülmektedir (de Souza Batista ve ark., 2007). Kadınlarda erkeklerden daha yüksek plazma konsantrasyonu gözlenmektedir. İzole sıçan aortunda, omentin direk NO aracılığıyla endotel bağımlı gevşemeyi indükler.

Omentin ile indüklenen vazorelaksan etkinin izole sıçan mezenter arterlerinde de gözlenmesi, omentin'in rezistan damarlardaki etkisine dikkat çekmektedir (Yamawaki ve ark., 2010). Çalışmalar sadece in vitro izole damarlarda yapılmıştır ve omentin'in damar reaktivitesindeki etkilerinin aydınlatılması için in vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır.

2.4.3. Visfatin

Visfatin, insülinmimetik etkileri olan, perivasküler ve visseral adipoz dokudan salgılanan yeni keşfedilmiş bir sitokindir. Visfatin'in damarlarda çeşitli fonksiyonları vardır. VEGF ve matriks metalloproteinaz upregülasyonu sonucu endotelial anjiogenezi ve damar düz kas hücre büyümesini stimüle eder (Adya ve ark., 2008). Visfatin damar kontraktilesini direk olarak etkileyebilir. İzole sıçan aortunda NO üretimi aracılığıyla endotel bağımlı vazorelaksan etkiyi indüklediği gösterilmiştir. Sıçan mezenterik arterlerinde visfatin'in gevşemeyi indüklemesi, visfatin'in direnç damarlarında etkili olduğunu düşündürmektedir (Yamawaki ve ark., 2009). Visfatin'in henüz sadece akut etkileri çalışıldığı için, damar reaktivitesindeki kronik etkisinin anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Pagano ve ark., 2006).

Koroner arter hastalarında plak rüptürü bölgelerinde visfatin ekspresyonunun yüksek olduğu bildirilmiştir (Dahl ve ark., 2007). Visfatin'in damar endotel hücrelerinde interselüler hücre adhezyon molekülü-1 ve vasküler hücre adhezyon molekülünü (VCAM) upregüle ederek monosit adhezyonunu artırması, visfatin'in ateroskleroz oluşumunda rolü olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, visfatin'in aterojenik ve vazoaaktif etkileri için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.4.4. Adipozit Kaynaklı Gevşetici Faktör

Damar tonusu, PVAT'dan salgılanan bilinmeyen bir adipozit kaynaklı gevşetici faktör (ADRF) tarafından da düzenlenmektedir. Sıçan aortunda PVAT varlığında damarların norepinefrin ile oluşan kontraksiyonları azalmaktadır (Dahl ve ark., 2007; Lohn ve ark., 2002). Bu modülatör etki arteriel tonusu düzenleyici fonksiyonu olan ADRF'ye dayandırılmaktadır. PVAT'ın benzer vazorelaksan etkisi sıçan mezenterik arterleri, fare aortu ve insan internal torasik aortunda da saptanmıştır (Gao ve ark., 2005). Bu veriler değişik türler ve farklı damar yapı tiplerinde arteriel tonusun

düzenlenmesi için ortak bir yolağın olduğunu göstermektedir. PVAT miktarı ve ADRF'nin vazorelaksan etkisi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (Verlohren ve ark., 2004).

ADRF'nin damar düz kas hücrelerindeki vazorelaksan etkisi doku ve türe bağlı olarak farklı K^+ kanallarının açılması aracılığıyla meydana gelmektedir. Elde edilen farklı sonuçlar K^+ kanallarının farklı damarlardaki farklı dağılımına, türe ve farklı ADRF oluşumuna bağlı olabilir (Gao ve ark., 2007; Lohn ve ark., 2002; Verlohren ve ark., 2004).

Obezite, hipertansiyona neden olan PVAT'daki vazorelaksan etkilerin azalmasıyla karakterizedir (Greenstein ve ark., 2009; Ketonen ve ark., 2010). Bu durum obezitede, adipoz doku kaynaklı vazorelaksan ve vazokonstrüktör faktörlerin arasındaki dengenin bozulmasına, ya da ADRF salımında azalmaya bağlı olabilir. Obezite sırasında adipoz dokuda oluşan hipoksinin de adipoz doku kaynaklı vazorelaksan faktörlerin salınımını arttırdığı ve bunun ADRF ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Maenhaut ve ark., 2010). ADRF ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.5. Vazokontraktıl Adipokinler

2.5.1. Anjiotensinojen ve Anjiotensin II

Adipozitler anjiotensin II olarak adlandırılan majör vazokontraktıl peptit'in prekürsör proteini olan anjiotensinojen'den zengin kaynaklar olup, anjiotensin II üretimi için gerekli olan tüm enzimlere sahiptir (Engeli ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2003). Bu veriler adipoz dokuda lokal bir renin-anjiotensin sistemi bulunduğunu telkin etmektedir. Dahası, adipoz dokudaki anjiotensinojen miktarı karaciğerdekinin %68'i kadar olması, adipoz anjiotensinojeninin anjiotensin II üretimindeki önemli rolüne dikkat çekmektedir (Lu ve ark., 2007).

Anjiotensin II'nin önemli bir etkisi NO'nin vasküler dokuya hasar veren serbest oksijen radikallerine metabolizmasını artırmasıdır. Anjiotensin II ve NO arasındaki dengenin bozulması, vazodilatör kapasitenin kaybına neden olan endotel disfonksiyona yol açmaktadır (Cai ve ark., 2002). Anjiotensin II zararlı etkilerini aterosklerotik plakların destabilizasyonu ve progresyonu ile ortaya çıkarmaktadır.

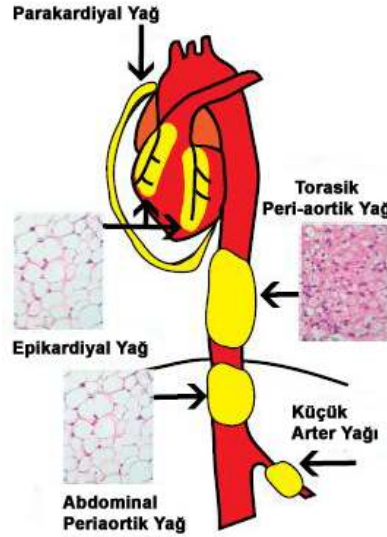
PAI-1 salınımı artmakta, bu da düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonuna yol açan tromboz oluşumu ve büyüme faktörü ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (Verdecchia ve ark., 2008). Obezite sırasında anjiotensinojen mRNA ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Adipoz doku kaynaklı anjiotensinojen ve anjiotensin II'nin obeziteyle ilişkili hipertansiyona katkıda bulunduğuna dair veriler mevcuttur (Thatcher ve ark., 2009).

2.5.2. Resistin

Kahverengi ve beyaz adipoz dokuda eksprese edilen resistin, adipozit kültürlerinde ortama salgılanmakta ve plazmada sirküle olmaktadır. Bu da resistin'in adipoz dokudan salgılanan bir molekül olduğuna dikkat çekmektedir. Bununla birlikte; dolaşımdaki monositler ve makrofajlar insanlardaki resistin üretiminden sorumlu olarak görülmektedir (Bastard ve ark., 2006). Resistin direk olarak izole kan damarlarında kontraktiletiyi, koroner kan akışını, ortalama arteriel basıncı ve kalp hızını etkilemese de, endotel disfonksiyonu ve koroner arter hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (Dick ve ark., 2006; Gentile ve ark., 2008; Reilly ve ark., 2005). Resistin endotel disfonksiyonuna neden olan ET-1 salınımı artırmaktadır. Dahası, resistin endotelyal NO sentaz ekspresyonunu ve NO düzeylerini azaltarak, süperoksit üretimini artırarak ya da artırmadan endotel fonksiyonu bozmaktadır (Chen ve ark., 2010). Erken aterosklerotik lezyon formasyonu ile ilişkili VCAM-1 ve MCP-1 ekspresyonunu da resistin ile artırmaktadır (Verma ve ark., 2003). Diyabetik olmayan kadınlarda yüksek plazma resistin düzeyleri artmış hipertansiyon riski ile ilişkili bulunmuştur (Zhang ve ark., 2010b).

2.6. Perivasküler adipoz doku ve epikardiyal adipoz dokunun yararlı etkileri

İnsanlarda ve memelilerde perivasküler ve epikardiyal yağ bulunurken, obezite durumunda visseral yağdaki artışla orantılı olarak bu yağ depoları artmaktadır (Fitzgibbons ve Czech, 2014) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Perivasküler ve epikardiyal adipoz doku depolarının anatomisi.

Epikardiyal adipoz doku (EAT), koroner arterler için PVAT gibi fonksiyon görmektedir. İnsanlarda kardiyovasküler hastalıklarda adipoz dokunun rolünün belirlenmesi için yapılan çalışmalar EAT üzerinde yoğunlaşmıştır (Ozen ve ark., 2015). EAT kalbin etrafındaki miyokarddan perikarda ulaşan adipoz dokudur. Koroner arter etrafındaki PVAT, EAT'ın bir parçasıdır. Koroner arter hastalığında, insan EAT'ında IL-6, resistin, IL-1 β , MCP-1, chemerin, plasminojen aktivatör inhibitör 1, TNF- α , visfatin ve leptin gibi inflamatuvar ve proliferatif adipokinlerin ekspresyonu artarken, adiponektin ve adrenomedullin gibi antiinflamatuvar, antiproliferatif ve vazodilatör özellikleriyle bilinen adipokinler azalmaktadır (Terata ve ark., 2000; Xi ve ark., 2005). Yararlı ve zararlı adipokinler arasındaki dengenin bozulması damar tonusu, inflamatuvar süreç ve damar düz kas hücre proliferasyonu ya da migrasyonunu artırarak ateroskleroz, restenoz ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda önemli rol oynamaktadır.

PVAT miktarının koroner arter hastalığı oluşumunda potansiyel rolü vardır. Koroner arter hastalarında EAT kalınlığı ve EAT volümü yüksek bulunmuştur (Ahn ve ark., 2008; Kaya ve ark., 2014; Kim ve ark., 2014). Koroner arter etrafındaki toplam PVAT miktarı aterosklerotik plaklarla da ilişkilidir (Mahabadi ve ark., 2010). Koroner arter hastalarında kontrole göre adipozit boyutunun yanısıra preadipozitlerin diferansiyasyonu ve yoğunluğunun arttığı görülmüştür (Silaghi ve ark., 2007). İnsanlarda adipoz doku miktarı ve EAT kalınlığı mikrovasküler koroner

vazodilatasyon yanıtı ve koroner akış ile negatif koreledir (Shen ve ark., 2013; Temiz ve ark., 2015).

Koroner arterlere ilaveten PVAT, büyük (aort), orta boyutta (mezenter arterler) ve küçük arterlerin (gluteal) etrafını sarmakta ve fonksiyonu her birinde farklılık göstermektedir (Fitzgibbons ve Czech, 2014).

Zayıf insanlarda ve kemirgenlerde PVAT'ın çeşitli yararlı adipokinler eksprese ettiği bilinmektedir ve bunlardan en göze çarpanı adiponektindir (Tablo 2.3). Zayıf kişilerde PVAT kaynaklı adiponektin küçük arterler üzerinde direkt vazodilatör etki göstermesi yanısıra (Greenstein ve ark., 2009), endotel bağımlı vazodilatasyonu da modüle etmektedir. PVAT kaynaklı adiponektin'in lokal endotelial nitrik oksit sentazı (eNOS), Akt kinaz (Akt) bağımlı fosforilasyonu ve tetrahidrobiopterin (BH₄) sentezini artırarak stimüle ettiği gösterilmiştir (Margaritis ve ark., 2013) (Tablo 2.3)

Tablo 2.3: İnsan ve hayvan çalışmalarında EAT ve/veya PVAT'tan salınan vasküler-koruyucu faktörler

Faktör	Etkileri
Adiponektin	• Endotelden bağımsız vazodilatasyon • AMPK bağımlı yolla in vitro ve in vivo vasküler düz kas proliferasyonunun inhibisyonu • Monosit adezyonunun önlenmesi • Stimüle edici fosforilasyon ile lokal eNOS fonksiyonunun aktivasyonu ve BH₄ üretiminin artması
Leptin	• Kondüit arterlerin endotel bağımlı dilatasyonu
Omentin-1	• Diyabetik hastalarda EAT ve plazma omentin değerleri azalmaktadır.
Nitrik Oksit	• Endotel bağımlı vazodilatasyonu
PAME	• Vasküler düz kas hücre potasyum kanallarının direk stimülasyonu ile dilatasyon
PGI ₂	• PVAT kaynaklı prostasiklin, asetil kolin ile indüklenen vazokonstriksiyonu bozarak endotelial disfonksiyonu inhibe edebilir.

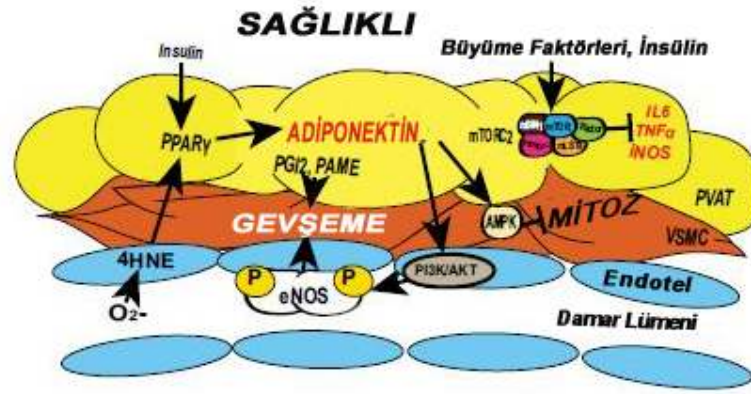
2.7. Disregüle Perivasküler Adipoziten Patolojik Etkileri

Epikardiyal adipoz doku, obezite durumunda hipertrofi, trigliserit depolanmasında bozukluk, artan lipoliz ve inflamasyonla ilişkilidir. Lokal inflamatuvar yanıtlar epikardiyal adipoz dokunun biyolojisini etkilemektedir. İleri derecede koroner arter

hastası kişilerde EAT'da inflamatuvar (M1 veya klasik olarak aktive edilmiş) makrofajların bir belirteci olan CD11c⁺ hücre boyanmasında artış görülmektedir. Aksine, koroner arter hastası olmayan kişilerde antiinflamatuvar (M2 veya alternatif olarak aktive edilen) makrofaj polaritesinin bir belirteci olan CD206⁺ boyanmasında artış gözlenmektedir (Hirata ve ark., 2011). Antiinflamatuvar özellikteki bir makrofajın (M1) aktive hale (M2) gelmesi lipotoksisitenin bir göstergesi olabilir, ancak bu durumun yakın koroner arterlerde plak oluşumuyla ilişkisinin nasıl gerçekleştiği bilinmemektedir (Prieur ve ark., 2011). EAT'daki bu inflamatuvar duruma paralel olarak, obezitede yararlı adipokin üretimi azalmaktadır. Mesela, obez ve koroner arter hastası kişilerde adiponektin sekresyonu baskılanmaktadır (Iacobellis ve ark., 2005; Karastergiou ve ark., 2010).

Özetle PVAT, adventisyanın birbiriyle ilişkili çeşitli farklı hücre tiplerini (adipozitler, endotel hücreleri, fibroblastlar gibi) içeren yakın bir parçasıdır. Sadece obezitede değil, hipertansiyon gibi diğer patolojik durumlar da PVAT'da bir yanıt oluşturabilir (Fitzgibbons ve Czech, 2014). İnsan ve hayvan çalışmaları PVAT'ın damarlarda normal koşullarda yararlı etkiler ortaya çıkarırken, obezitede patolojik etkileri olduğunu göstermektedir. Adiponektin PVAT'dan salgılanan yararlı primer adipokinlerden biri olup AMP ile ilişkili protein kinaz aracılığıyla proliferasyonu engellemekte, endotelial Akt ile de eNOS kenetlenmesi ve NO oluşumunu desteklemektedir.

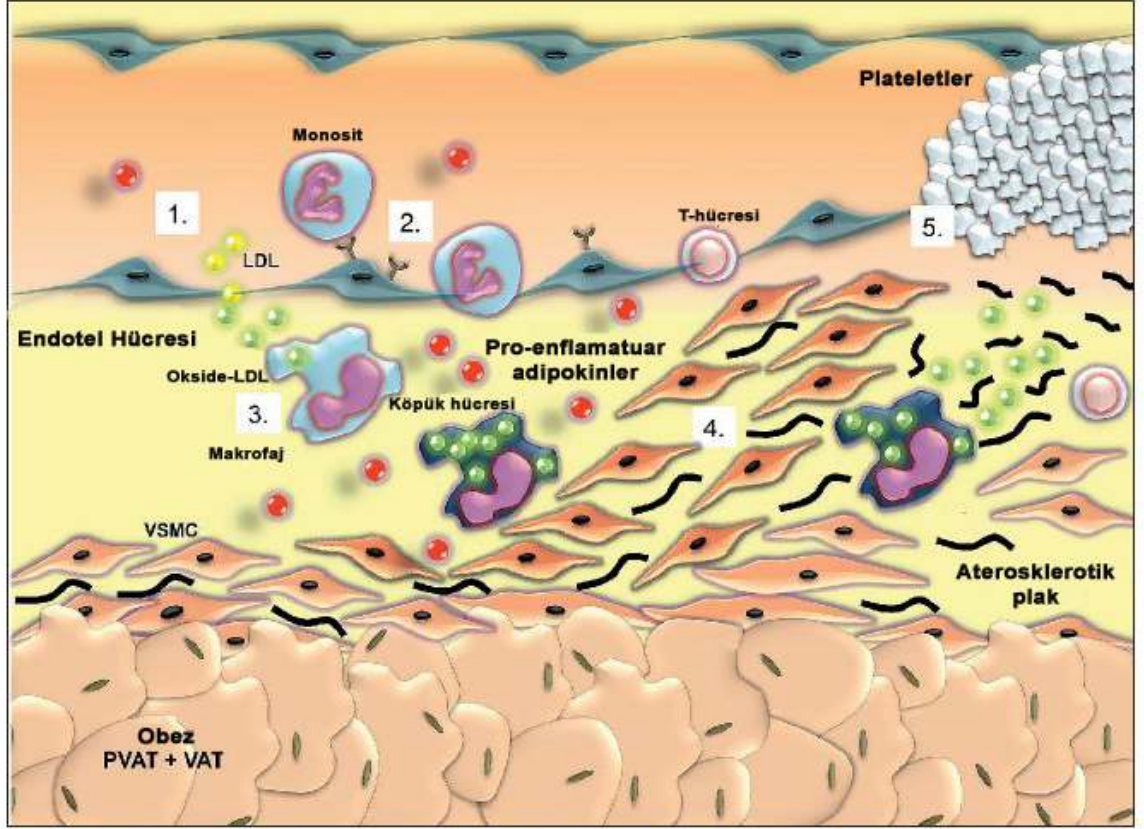
Obezite yararlı adipokin sinyalinin, PVAT'da inflamasyonu stimüle ederek ve lokal sitokin üretimini artırarak ortadan kaldırmakta, bu da Akt ve mTOR sinyaline karşı direnci indüklemektedir. Bu yollara karşı oluşan direnç sonucunda eNOS kenetlenmesi azalmakta ve lokal ROS üretimi, düz kas hücre proliferasyonu, Ca⁺² bağımlı mekanizmalarla düz kas hücre tonusu artmaktadır (Fitzgibbons ve Czech, 2014) (Şekil 2.5)



Şekil 2.5: Normal sağlıklı koşullarda ve obezitede PVAT'ın parakrin etkilerine aracılık eden sinyal yolları.

2.8.Perivasküler Adipoz Doku Kaynaklı Adipokinler ve Kardiyovasküler Hastalık

PVAT adipokinleri, parakrin bir yolla damar duvarını direk olarak etkileyerek kardiyovasküler hastalık oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Eringa ve ark., 2007). PVAT'dan damar duvarına adipokinlerin difüze olma mekanizmaları henüz anlaşılamamıştır. Hipotezlerden biri adipokinlerin vasa vasorum aracılığıyla difüze olduğunu öngörmektedir (Yudkin ve ark., 2005). PVAT adipokinlerinin vazoreaktiviteyi ve damar düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu etkileyerek hipertansiyon, ateroskleroz ve trombozda rol oynadığı düşünülmektedir (Rajsheker ve ark., 2010) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Ateroskleroz ve tromboz süreci ve adipokinlerin bu süreçteki rolü

2.8.1. Hipertansiyonda Adipokinler

Obezitenin sık karşılaşılan komplikasyonlarından biri artan kan basıncı ve sonrasında oluşan arteriel hipertansiyon olmakla birlikte, hipertansiyon tek başına kardiyovasküler bir risktir (Dorresteijn ve ark., 2012). Endotel disfonksiyonu, hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Damar endoteli, damar tonusunu düzenleyen NO, endotelin-1 (ET-1), prostasiklin ve siklooksijenaz gibi faktörler salgılamaktadır (Barton ve ark., 2012). Bununla birlikte, normal endotel fonksiyonu, obez ve insülin dirençli bireylerde bozulmaktadır (Darvall ve ark., 2007).

Adipozitler tarafından 50 farklı adipozit kaynaklı faktörün salgılandığı gösterilmiştir. Adipozitler tarafından üretilen ve adipokin olarak adlandırılan farklı sitokinlerin kan basıncı düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Yiannikouris ve ark., 2010). Birçok adipozitokin vazoaaktif özellikleriyle kan basıncını etkileyebilir (Van de Voorde ve ark., 2013). Beyaz yağ dokusu bulunmayan lipoatrofik farelerde PVAT miktarı azalmış, ve arteriel basınçta artış gözlenmiştir (Takemori ve ark., 2007).

Leptin reseptörleri damar endotel hücrelerinde eksprese olmakta ve leptin ile aktive olduklarında eNOS ekspresyonu ve vazodilatasyonu indüklemektedir (Lembo ve ark., 2000). Ancak, obez fare aortlarında hiperleptineminin NO salımında azalmaya ve ROS upregülasyonuna neden olduğunu ileri süren veriler mevcuttur (Korda ve ark., 2008). Obez olmayan farelerde bile leptin'in overekspresyonu kan basıncını artırırken, leptin silinmiş obez farelerde hipertansiyon oluşmamaktadır (Mark ve ark., 1999). Hiperleptineminin, endotel faktörlerinin salınımı üzerine olan etkisinden ayrı olarak, leptin'in sempatik sinir sistemi aktivitesi üzerindeki etkisi aracılığıyla hipertansiyonla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Hall ve ark., 2010). Hiperleptinemik erkek ve kadınlarda plazma leptin düzeyi ile hipertansiyon arasında korelasyon vardır (Shankar ve Xiao, 2010).

Resistin de hipertansiyonda rol oynamaktadır. Diyabetik olmayan kadınlarda yüksek plazma resistin düzeyi hipertansiyon oluşumu ile ilişkilidir (Zhang ve ark., 2010b). Diğer adipokinlerde olduğu gibi resistin'in de kan basıncı üzerindeki etkisi endotel hücrelerindeki etkisiyle ilişkilendirilmektedir. İnsan umbilikal ven endotel hücrelerine (HUVEC) resistinden zengin süpernatant inkübasyonunun endotel hücre permeabilitesini stimüle ettiği gösterilmiştir (Langheim ve ark., 2010). Resistin, ekstraselüler sinyalle ilişkili kinaz $\frac{1}{2}$ (ERK $\frac{1}{2}$) bağımlı bir yolakla endotel hücrelerinde etkili bir vazokonstriktör olan ET-1 üretimini aktive eder (Chuang ve ark., 2012). Resistin'in p38 ve JNK aktivasyonu yoluyla insan koroner arter endotel hücrelerinde eNOS ekspresyonunu azalttığını ve ROS'u artırdığı bildirilmiştir (Chen ve ark., 2010). Aksine adiponektin, endotel fonksiyonu koruyucu rol oynamaktadır. Adiponektin yetersiz farelerde wild tipe göre eNOS ekspresyonu ve NO üretimi azalmaktadır. Dahası, bu etkiler rekombinant adiponektin uygulaması ile tersine dönmektedir (Cao ve ark., 2009). Zayıf insanlarda adiponektin NO üretimi ve endotel bağımlı vazodilatasyonu indüklerken metabolik sendromlu obez kişilerde bu durum gözlenmemektedir (Greenstein ve ark., 2009). Sonuç olarak, plazma adiponektin düzeyi ve endotel bağımlı damar gevşemesi arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur (Tan ve ark., 2004).

2.8.2. Adipositokinler ve Endotel Disfonksiyonu

Endotel hücreleri primer endotel bariyer fonksiyonunu sağlayan özel yapılarla birbirine bağlantılıdır (Van de Voorde ve ark., 2013). Endotel disfonksiyonu, endotel tabakasının geçirgenliğinin artışı sonucu lökositler, monositler ve makrofajların bağlanması artması, kolesterolle alakalı lipoproteinlerin subendotelyal birikimi ile aterogenezi desteklemektedir.

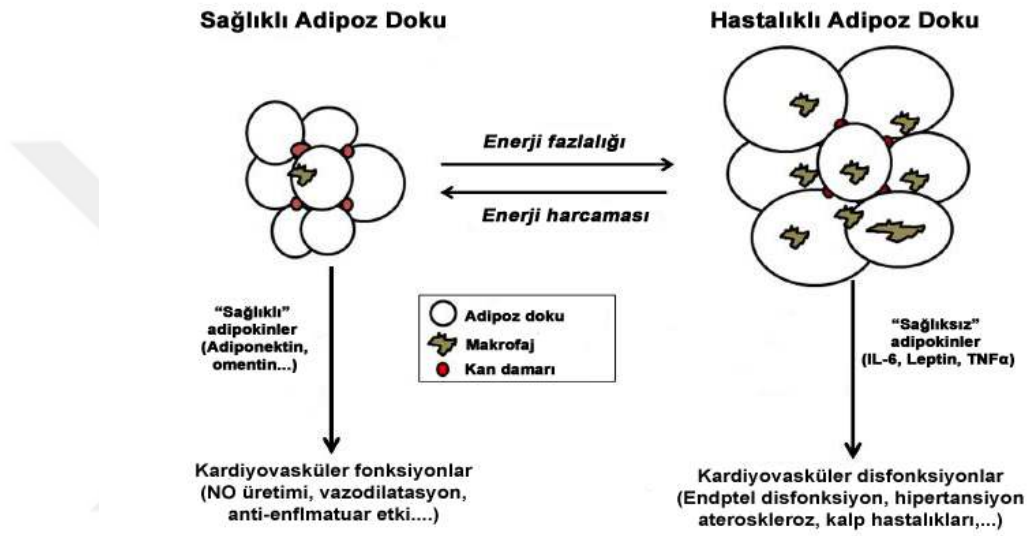
Adiponektin TNF- α ile stimüle edilen endotel adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve monosit bağlanmasını azaltmaktadır. Dahası adiponektin, yüksek glikoz, okside LDL ve palmitat ile indüklenen ROS üretimini azaltırken, endotel hücrelerinde eNOS fosforilasyonunu desteklemektedir. Adiponektin knock-out farelerin aortunda endotel bağımlı vazodilatasyon bozulmuştur (Ouchi ve ark., 2003). Obez sıçanlarda rekombinant adiponektin uygulaması eNOS aktivitesini, NO üretimini, aort halkalarında endotel bağımlı vazodilatörlerle oluşan gevşemeyi artırır (Deng ve ark., 2010). Adiponektin sıçanlarda eNOS bağımlı mekanizma ile serebral iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkiye sahiptir. Diyabetik hastalarda hipoadiponektinemi, endotel disfonksiyonuyla ilişkili bulunmuştur (Hui ve ark., 2012). Diyabetik olmayan kişilerde de adiponektin konsantrasyonu koroner endotel fonksiyonunun bağımsız bir belirteçidir (Okui ve ark., 2008).

Omentin, nitrik oksit sentezin aktivasyonunu destekleyerek endotel bağımlı damar gevşemesi ve angiogeneze katkıda bulunurken, endotel hücrelerindeki proinflatuar sinyale engel olur (Northcott ve ark., 2012; Tan ve ark., 2010). İnsanlarda omentin düzeyinin azalması endotel disfonksiyonla ilişkilendirilmiştir (Moreno-Navarrete ve ark., 2011).

Olgun adipozitlerde en çok bulunan proteinlerden biri de adiposit yağ asidi-bağlayıcı protein (A-FABP)'dir. Kanın içine salgılanmakta, inflamasyonu indükleyen lipidleri potansiyalize etmekte ve obeziteyle ilişkili kardiyovasküler hastalıklarda rol oynamaktadır. A-FABP plazma düzeyi endotel disfonksiyonuyla korelasyon göstermektedir. A-FABP, eNOS aktivasyonunun bozulmasını indükleyen lipidleri potansiyalize ederek endotel disfonksiyonuna katkıda bulunuyor olabilir (Makowski ve Hotamisligil, 2004). Resistin ve visfatin de çeşitli mekanizmalar aracılığıyla

endotel disfonksiyonunu indükleyerek vasküler hastalıklara katkıda bulunmaktadır (Chen ve ark., 2010; Northcott ve ark., 2012).

Disfonksiyonel endotelin adipozit sekresyon profilini değiştirebileceği unutulmamalıdır. Proinflamatuvar proteinler adipozitlerin endokrin ve parakrin mekanizmalarını etkileyebilir. Endotel ve adipoz doku arasındaki bu döngü, inflamasyonu kötüleştirmekte, vasküler hastalık progresyonunu desteklemektedir (Northcott ve ark., 2012) (Şekil 2.7).



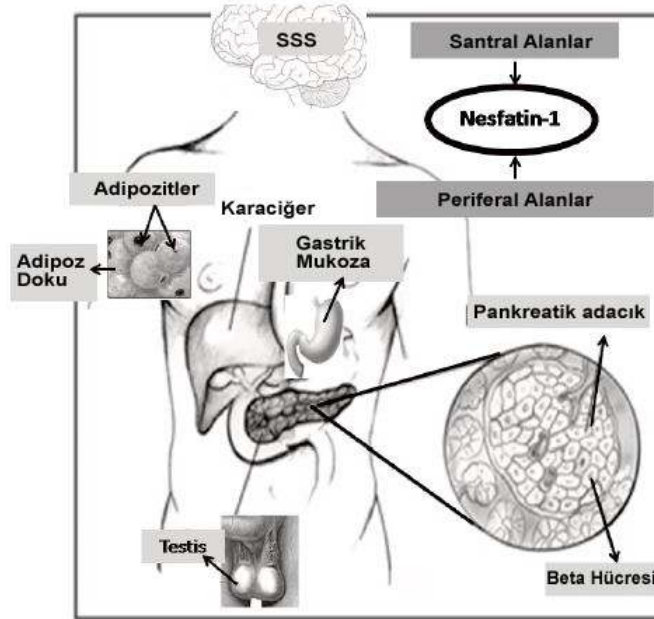
Şekil 2.7: Sağlıklı ve sağlıklı olmayan adipoz dokunun kardiyovasküler fonksiyonlar açısından karşılaştırılması.

2.9.Nesfatin-1'in Periferik Dokulardaki Dağılımı ve Fonksiyonları

Hipotalamus, beslenme davranışını düzenleyen ve bununla ilgili moleküller salgılayan alanlar içermektedir. Nesfatin-1, besin alımı düzenlenmesiyle ilişkilidir. Hipotalamus ve beyin sapından sentezlenmekte ve açlık sırasında salınımı azalmaktadır (Ayada ve ark., 2015a). 2006 yılında Oh ve arkadaşları (2006) daha sonra 'NUCB2 encoded satiety and fat influencing protein-nesfatin' olarak adlandırılacak olan rekombinant nükleobindin-2'nin intraserebroventriküler enjeksiyonunun gece beslenmesini ve vücut ağırlığı artışını azalttığını bulmuşlardır. Sonraki çalışmalar, nesfatin-1'in intraperitoneal enjeksiyonunun besin alımı ve vücut ağırlığı artışını baskıladığını göstermiştir (Shimizu ve ark., 2009a). Bu sonuçlar, nesfatin-1'in vücut enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını

göstermektedir. Nesfatin-1'in kan beyin bariyerini doygunluğa ulaşılmaksızın geçebildiği ve hem periferel hemde santral uygulamasının leptinden bağımsız bir mekanizmayla besin alımını azalttığı bilinmektedir. Bu yüzden, nesfatin-1'in periferel dokularda dağılımı ve fonksiyonu oldukça önemlidir (Pan ve ark., 2007; Shimizu ve ark., 2007).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda nesfatin-1'in prekürsörü olan nükleobindin-2'nin (NUCB2), hipofiz bezi, hipotalamus, beyin sapı, ön beyin ve orta beyin nükleusu, santral amgydaloid nükleus, ventrolateral medulla ve serebellumda lokalize olduğu gösterilmiştir (Ayada ve ark., 2015a). Dahası, nesfatin-1, sıçan spinal kordunun torakolumbar sempatik ve sakral parasempatik pregangliyonik nöronlarında da yer almaktadır. Santral sinir sistemi (SNS) dışında perifer dokularda da nesfatin-1 bulunmaktadır. Özellikle periferel adipoz doku, gastrik mukoza, pankreatik endokrin beta hücreleri ve testis dokusundan salgılanmaktadır. Salgılandıktan sonra kan beyin bariyerinden geçebilmektedir. İntravenöz enjeksiyondan sonra kanda 20 dakika stabil kalmaktadır (Stengel ve Tache, 2010) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: NUCB2/Nesfatin-1'in periferel dokulardaki ekspresyonu

NUCB1 fare genomunda NUCB2 ile %60 dizi homolojisine sahiptir. Fonksiyonu hakkında çok az bilgi mevcuttur. NUCB1 endokrin hücrelerde yaygın dağılım göstermektedir ve subselüler dağılımı golgi aparatıyla birlikte bulunmuştur. Bu

sonuç molekülün hormon salgılanmasında rol oynayabileceğini telkin etmektedir (Williams ve ark., 2014).

2.10. Nesfatin-1 Geni

Nesfatin-1, 82 aminoasite sahip, DNA'ya bağlanan protein NUCB2 ve kalsiyum kaynaklı bir polipeptittir. İnsan ve diğer memeli türlerinde %85'ten fazla homolojiye sahiptir. NUCB2 plazma membranı ve nöroplazmada bulunmaktadır ve posttranslasyonel modifikasyonlara uygun parçalara sahiptir. PC 3/1 ve PC2 gibi özel prohormon konvertaz enzimleri NUCB2'yi nesfatin-1 (1-82 aa), nesfatin-2 (85-163 aa) ve nesfatin-3 (166-396 aa)'e ayırmaktadır. Nesfatin-2 ve nesfatin-3'ün etkisi hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Palasz ve ark., 2012). Nesfatin-1, NUCB2'nin N-terminal parçasının posttranslasyonel modifikasyonu ile oluşan, moleküler ağırlığı 9.8 kDa olan ve 82 aminoasitten oluşan bir peptittir (Cao ve ark., 2013). Oh ve arkadaşlarının (2006) yaptığı çalışmada, NUCB2'nin üç parçalanma ürününden sadece nesfatin-1 besin alımını ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir. Nesfatin-1, N-terminal (N23), orta kısım (M30) ve C terminali (C29) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Ayada ve ark., 2015a). Orta kısım nesfatin-1'in aktif kısmıdır. Nesfatin-1'in fizyolojik etkisinde, özellikle de anoreksik etkide anahtar role sahiptir (Palasz ve ark., 2012).

2.11. Nesfatin-1'in Sekresyon Alanı

Nesfatin-1 ve prekürsörü santral sinir sisteminin hipofiz bezi, arkuat (ARC) ve paraventriküler (PVN) nükleus, supraoptik nükleus (SON), lateral hipotalamik alan, nükleus traktus solitarius (NTS) gibi çeşitli kısımlarında yer almaktadır. Dahası; nesfatin-1 ön beyin ve orta beyin nükleusunda, santral amygdaloid nükleusta, ventrolateral medullada, serebellumda ve sıçan spinal kordunun torakolumbar sempatik ve sakral parasempatik preganglionik nükleusunda da yer almaktadır (Goebel-Stengel ve Wang, 2013).

2.12. Nesfatin-1'in Adipoz Doku Ekspresyonu, Plazma Düzeyleri ve Vücut Ağırlığı

2010 yılında Ramanjaneya ve arkadaşları mürin ve insan adipoz dokusunda NUCB2 mRNA ekspresyonu ve dağılımının bölgeye özgü olduğunu bulmuşlardır. NUCB2

ekspresyonu subkütan adipoz dokuda visseral dokulara göre anlamlı olarak yüksektir. Dahası, mürin subkutan adipoz dokusunda nesfatin-1 ekspresyonu besin alımıyla indüklenirken, fareler aç bırakıldığında NUCB2 mRNA ve nesfatin-1 ekspresyon düzeyleri anlamlı olarak azalmaktadır. Nesfatin-1 sekresyonunun preadipozit 3T3-L1 hücrelerinin olgun adipozitelere farklılaşırken arttığı görülmüştür. NUCB2 ve nesfatin-1 adipozit oluşumu ve farklılaşmasında rol oynuyor olabilir, ancak adipozit olgunlaştığında miktarlarının artması, artan ekspresyonun olgunlaşma nedeni olmaktan çok olgunlaşmanın bir sonucu olarak ortaya çıktığını düşündürmektedir (Ramanjaneya ve ark., 2010).

Tagaya ve arkadaşları (2012), 3T3-L1 preadipozitlerinde NUCB2 ekspresyonunun azalmasının 3T3-L1 hücre adipozit farklılaşmasını arttırdığını göstermişlerdir. NUCB2'nin knock- down edilmesi, 3T3-L1 adipozit farklılaşmasını artırmaktadır. NUCB2/nesfatin-1, adipozitten salgılanan ve adipozit farklılaşmasını düzenleyen bir faktördür.

Ramanjaneya ve arkadaşları (2010) vücut kütle indeksleri (BMI) 22.3 ila 27.67 kg/m² arasında olan insanlarda dolaşımdaki plazma NUCB2/nesfatin-1 düzeyi ile BMI arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Ancak, Tsuchiya ve arkadaşları (2010) ise açlık nesfatin-1 düzeyinin yüksek BMI'lılarda obez olmayan kişilere göre anlamlı olarak düşük olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, plazma nesfatin-1 düzeyinde cinsiyete bağlı değişiklik gözlenmemekle birlikte, polikistik over sendromlu kadınlarda (0,88±0,36 ng/ml) sağlıklı kontrollere göre (2.22±1,14 ng/ml) daha düşük düzeyler elde edilmiştir. BMI ve HOMA-IR ile nesfatin-1 arasında da negatif korelasyon saptanmıştır (Deniz ve ark., 2012). NUCB2/nesfatin-1, önemli patofizyolojik etkiler gösteren yeni keşfedilmiş bir adipokin olduğundan, NUCB2/nesfatin-1 ile BMI, vücut yağı, visseral yağ/vücut yağı, cinsiyet, yaş ve ilişkili hastalıklar arasındaki ilişkinin açıklanması gerekmektedir (Cao ve ark., 2013).

2.13. Farklı Metabolik Koşullarda NUCB2/Nesfatin-1 Düzeyleri

Li ve arkadaşları (2010) açlık nesfatin-1 düzeyinin tip 2 diyabet hastalarında sağlıklı bireyler ve tip 1 diyabet hastalarına kıyasla anlamlı olarak düşük seyrettiğini göstermişlerdir. Bununla birlikte, tip 1 diyabet hastaları ile sağlıklı bireyler arasında anlamlı bir fark yoktur. Riva ve arkadaşları (2011) tip 2 diyabet hastalarının

adacıklarında NUCB2 gen ekspresyonunun azaldığını ve insan pankreas örneklerinde ekspresyonun glukolipotoksik koşullarda arttığını göstermişlerdir. Bu bulgu adacıklardaki nesfatin-1 sekresyon mekanizmasının insülin sekresyon kapasitesiyle pozitif korele olduğunu göstermektedir. Zhang ve arkadaşları (2012) yeni teşhis almış tip 2 diyabet ve bozulmuş glukoz toleransı olan hastaların plazma nesfatin-1 düzeyinin kontrole göre daha yüksek olduğunu ve BMI, hemogloblin A1c, açlık kan glukozu, açlık insülin ve HOMA-IR ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Uzun süreli diyabeti olan ve pankreas β hücreleri hasarlanmış, insülin kullanan hastalarda nesfatin-1'e yanıt olarak endojen insülin salgılanması azalmış olabilir. Nesfatin-1 sekresyonunun insülin direnci ve tip 2 diyabet oluşumu ile korele olduğu düşünülmektedir. Nesfatin-1 sekresyonunun sadece insülin sekresyonundan sonra oluşmadığı, aynı zamanda tip 2 diyabetin erken sürecinde yemenin baskılanması ve ağırlık azalması aracılı kompensatör bir mekanizmayla insülin direncini ve glikolipit metabolik bozukluklarını iyileştirdiği düşünülmektedir (Cao ve ark., 2013).

Üçüncü serebral ventriküle nesfatin-1 infüzyonu hem standart diyet hem de yüksek yağlı diyetle beslenen öglisemik sıçanlarda fosfoenolpiruvat karboksikinaz (PEPCK) enzimatik aktivitesinde düşüşle birlikte hepatik glukoz üretimini inhibe etmekte ve kas glukoz uptake'ini arttırmaktadır (Yang ve ark., 2012). Ayrıca, santral nesfatin-1 insülin reseptörü (InsR), insülin reseptör substrat-1 (IRS-1), AMP bağımlı protein kinaz (AMPK), Akt ve rapamycin kompleks hedefi 2 (TORC) fosforilasyonunu ve glukoz homeostazına aracılık eden hipotalamik nükleus Fos immünoreaktivitesini artırmaktadır. Bu sonuçlar, hipotalamik nesfatin-1'in glukoneogenezi azaltıp periferik glukoz uptake'ini destekleyerek periferik ve hepatik insülin duyarlılığına katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, Basar ve arkadaşları (2012) alkolik olmayan karaciğer yağlanması hastalarında serum nesfatin-1 konsantrasyonlarının (0.26 ± 0.14 ng/ml) sağlıklı kontrollere göre (0.38 ± 0.19 ng/ml) daha düşük olduğunu bildirmiştir. Nesfatin-1 ile BMI ve açlık glukozu arasında da negatif korelasyon tespit etmişlerdir. Obez bireylerde serum nesfatin-1 konsantrasyonları (0.26 ± 0.12 ng/ml) obez olmayan kişilere göre (0.37 ± 0.19 ng/ml) anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Dahası, insülin direnci olan kişilerde nesfatin-1 konsantrasyonu (0.27 ± 0.17 ng/ml) insülin duyarlı kişilere göre (0.38 ± 0.17 ng/ml) anlamlı olarak düşüktür. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in karaciğer yağlanması ve glukoz

metabolizması ile ilgili bozukluklarda anlamlı ve farklı rolleri olduğuna dikkat çekmektedir. Karaciğer metabolizmasını etkileyen koşullar, nesfatin-1 konsantrasyonlarını da etkiliyor olabilir. Bununla birlikte, nesfatin-1 insülin direnci, enerji homeostazı ve glikolipit metabolizması arasındaki ilişki hakkında ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.14. Nesfatin-1 ve Besin Alımı

Nesfatin-1 yoluyla besin alımı inhibisyonunun mekanizması günümüze kadar tam olarak aydınlatılamamıştır (Ayada ve ark., 2015a). Leptin reseptör mutantlı sıçanların beynine nesfatin-1 enjekte edilmesi besin alımını inhibe etmektedir. Bu yüzden, nesfatin-1'in leptin yolağından bağımsız olarak melanokortin sistem aktivasyonu aracılığıyla besin alımını inhibe ettiği kabul edilmektedir. İn vitro çalışmalar nesfatin-1'in, nöropeptit Y (NPY) sekresyonundan sorumlu arkuat nükleusta hiperpolarizasyona neden olduğunu göstermiştir. Bu da nesfatin-1'in oluşturduğu besin alımı inhibisyon mekanizmasının ikinci açıklaması olarak kabul edilmektedir (Stengel ve Tache, 2013).

Diğer bir çalışmada, nesfatin-1/NUCB2 protein düzeyinin dehidratasyonla arttığı ve bu artışın plazma sodyum konsantrasyonu ve plazma osmolalitesiyle pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Yoshimura ve ark., 2014).

2.15. Nesfatin-1'in Pankreastaki Ekspresyonu ve İnsülin Salınımı

Stengel ve arkadaşları (2009b), immünohistokimyasal boyama yöntemiyle sıçan pankreasındaki adacık hücrelerinde nesfatin-1 immunoreaktif hücrelerin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Daha sonra, hem sıçan hem de insan adacık β hücrelerinde ve ekzokrin pankreasta immünofloresans ile NUCB2 immünreaktivitesi saptanmıştır. Dahası, nesfatin-1 ve insülin β hücrelerinde birlikte bulunmaktadır ve yüksek rezolüsyon analizlerinde subselüler dağılımlarının aynı olmadığı görülmüştür. Normal sıçan adacıklarındaki β hücreleri nesfatin-1 düzeyi glukoz uygulamasıyla hafifçe artmaktadır. Bu artış (%123), insülinle gözlemlenen artıştan (%816) daha azdır. Bu da, nesfatin-1'in kana salımının insülin salınımını takiben oluştuğunu düşündürmektedir (Foo ve ark., 2010).

Nakata ve arkadaşları (2011) in vitro fare β hücre adacıklarında nesfatin-1'in protein kinaz A ve fosfolipaz A2'den bağımsız olarak L tipi kanallardan Ca^{+2} akışını destekleyerek glukozla indüklenen insülin sekresyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Nesfatin-1 ile indüklenen insülin sekresyonu sadece yüksek glukoz konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Bu da nesfatin-1'in insülinotropik etkisine dikkat çekmektedir. İn vivo ve in vitro çalışmalarda nesfatin-1'in farelerde insülin sekresyonu ve glukoz eliminasyonunu artırdığı görülmüştür. İn vitro koşullarda nesfatin-1'in glukoz konsantrasyonundan bağımsız olarak glukagon sekresyonunu artırdığı, in vivo durumda da insülin sekresyonunu ve glukoz eliminasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Riva ve ark., 2011).

NUCB2 gen ekspresyonunun tip 2 diyabet hastalarının adacıklarında azaldığı, ancak glikolipotoksik koşullarda arttığı görülmüştür. Tüm bu sonuçlar, nesfatin-1'in α ve β hücre sekresyonu regülasyonunda rol oynadığını düşündürmekle birlikte, bu süreci etkileyen mekanizmalar hakkında ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Cao ve ark., 2013).

2.16. Nesfatin-1'in Sindirim Sistemindeki Ekspresyonu, İştah ve Enerji

Metabolizması

Stengel ve arkadaşları (2009b), sıçan mide mukozasında nesfatin-1 ekspresyonu varlığını göstermişlerdir. İmmünohistokimyasal analizlerde insanlarda, sıçanlarda ve farelerde gastrik mukozal bez ve duodenumun submukozal Brunner bezlerinde NUCB2/nesfatin-1 immünreaktif hücrelerine rastlanmıştır. Brunner bezlerinin fonksiyonu tartışmalı olmakla birlikte, bezlerin ana fonksiyonu alkalik bikarbonat ve mukus içeren ve duodenumu kimusun asidik içeriğinden koruyan salgı üretmeleridir. Bu salgı aynı zamanda absorpsiyonu sağlayan intestinal enzim aktivitesi için gerekli alkali koşulları da sağlamaktadır. Nesfatin-1'in Brunner bezlerinde bulunması bu peptidin intestinal enzim aktivasyonu, besin absorpsiyonu ve intestinal duvarların korunmasıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte; western blot ve RT-PCR analizleri, NUCB2'nin pankreas, mide ve duodenumda yüksek miktarda eksprese olurken, özofagus, karaciğer, ince barsak ve kolonda daha az eksprese edildiğini göstermiştir (Cao ve ark., 2013).

Gastrik mukozal endokrin hücrelerinde nesfatin-1 ve çeşitli peptitler birlikte eksprese olmaktadır. İmmünreaktif hücrelerin çoğu bezlerin orta kısmında bulunmakta ve

oroksijenik ghrelin ile birlikte eksprese edilmektedir ve muhtemelen X/A hücreleridir. Bununla birlikte; nesfatin-1 ve ghrelin X/A hücrelerinin intrasitoplazmik veziküllerinde iki ayrı popülasyon halinde bulunmaktadır. Bu da X/A hücrelerinin besin alımının düzenlenmesinde rol oynadığını düşündürmektedir (Stengel ve ark., 2009b).

Sıçanlarda gastrik endokrin hücrelerde NUCB2 mRNA ekspresyonu 24 saat açlığı takiben anlamlı olarak downregüle olurken, ghrelin upregüle olmaktadır. Bu da, periferik nesfatin-1'in enerji homeostazında düzenleyici olarak rol oynadığını düşündürmektedir. Buna ilaveten, Stengel ve arkadaşları (2009a) nesfatin-1'in lateral beyin ventrikülüne enjeksiyonunun karanlık faz mide boşalmasında doz bağımlı bir düşüşe neden olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, santral nesfatin-1'in intestinal sistemde de eksprese edildiğini ve nesfatin-1'in intestinal sistemin barsak beyin aksı ve entero-insular aks gibi nöroendokrin kısmıyla etkileşim halinde olduğunu göstermektedir (Stengel ve ark., 2009a).

2.17.Diğer Dokularda Nesfatin-1

Stengel ve arkadaşları (2009b) sıçan mide mukozası RNA ekstrelerinde saptanan ekspresyondan 10 kat daha az olsa da, sıçan kalbinde de NUCB2 ekspresyonunun olduğunu bulmuşlardır. Dahası; Angelona ve arkadaşları (2013) nesfatin-1'in muhtemelen partikulat guanilat siklaz (pGC) ile bağlantılı natriüretik peptit reseptör A (NPR-A), pGC/PKG ve ERK1/2 yoluyla aracılığıyla miyokardiyal performansı etkilediğini göstermişlerdir. Bu peptit kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından korumaktadır.

Sonuçlar, nesfatin-1'in kardiyak fonksiyonun nöroendokrin modülasyonu ve beslenme bağımlı fizyopatolojik kardiyovasküler hastalıklardaki klinik potansiyelinin aydınlatılması açısından ümit verici bir yol açmıştır. Önceki çalışmalarda nesfatin-1'in hipertansif etkisinin melanokortin $\frac{3}{4}$ reseptörleri aracılığıyla sempatik sinirlerin aktivasyonu sonucu olduğu ortaya çıkmıştır (Yosten ve Samson, 2009). Yamawaki ve arkadaşları (2012) sıçan izole mezenterik arterlerinde nesfatin-1'in sodyum nitropurussidle (SNP) indüklenen düz kas gevşemesini siklik GMP inhibisyonu aracılığıyla inhibe ettiğini ve böylece kan basıncını artırdığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in kan basıncını hem

santral sinir sistemi hem de periferel kan damarları aracılığıyla düzenleyebileceğini düşündürmektedir.

Garcia-Galiano ve arkadaşları (2012) sıçan, fare ve insan testisinde NUCB2 mRNA ekspresyonunu bildirmişlerdir. Pubertal olgunlaşma sürecinde ve kısa dönem açlıkta sıçan testisinde NUCB2 mRNA düzeyi fazla değişmezken, puberteden bireyliğe geçişte yaklaşık 10 kat artmaktadır. Ayrıca, testislerde NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonu hipofiz luteinleştirici hormon (LH) ile upregüle olurken, testisteki NUCB2/nesfatin-1'in hipofiz LH'ı üzerinde pozitif feedback etkisi vardır. Gonzalez ve arkadaşları (2012) akvaryum balıklarında nesfatin-1'in hipotalamo-hipofiz-over (HPO) aksında varlığını ve düzenleyici etkisini göstermişlerdir. Akvaryum balığı hipotalamusunun lateral tuberis posterior nükleusunda ve anterior tuber nükleusunda nesfatin-1 benzeri immünreaktif hücreler gonadotropin salıverici hormon (GnRH) ile birlikte lokalizedir; bu da nesfatin-1'in hipotalamik ve hipofiz hormonlarını module ettiğini düşündürmektedir. Nesfatin-1'in akvaryum balığına intraperitoneal enjeksiyonu (50 ng/g) ön beyinde hipotalamik cGnRH-II ve sGnRH mRNA'da akut ve anlamlı bir düşüşe neden olmaktadır. Akvaryum balıklarının folikül hücrelerinde de nesfatin-1'e rastlanmıştır, ancak yumurtalıklarda bulunmamıştır. Bu da nesfatin-1'in yumurtalık fizyolojisiyle ilişkili olduğunu ve üreme aksında önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

2.18. Nesfatin-1 ve Sinir Sistemi

NUCB2 eksprese eden nöronlar beynin birçok bölgesinde bulunmaktadır (Ayada ve ark., 2015a). Parvoselüler bölgedeki bazı nöronlar NUCB2 melanokortin reseptörü (MC4) eksprese eder ve α -MSH'in liflerinden sinyal alır. α -MSH, nesfatin-1 ekspresyonunu ve salımını artırmaktadır (Yamada ve ark., 2010).

Nesfatin-1'in santral salımı metabolik aktivitelerdeki değişikliklere bağlı olarak değişmektedir. 24 saatlik açlıktan sonra PVN ve SON'da nesfatin-1 transkripsiyonu ve translasyonu azalmaktadır. 24 saat açlığı takiben beslenme ile SON'da nesfatin-1 üretimi ve sekresyonu aktive olmaktadır. Anoreksik ajanlardan α -MSH ve serotonin 5-HT reseptör antagonistinin periferel enjeksiyonu kemirgenlerde hipotalamustan salgılanan nesfatin-1 miktarını artırmaktadır. Ghrelin'in oroksijenik dozunun periferel uygulanması ise arkuat nükleusta nesfatin-1 salgılayan nöronların

aktivitesini artırmaktadır. Dahası tokluk peptiti kolesistokininin (CCK) periferik enjeksiyonu PVN ve NTS'de nesfatin-1 salgılayan nöronların aktivitesini artırmaktadır. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in tokluk sinyaliyle ilişkili peptitleri etkilediğine dikkat çekmektedir. Açlığın, leptin ve ghrelin aracılı periferik metabolik sinyallerden etkilendiğine inanılmaktadır (Ramanjaneya ve ark., 2010). Oh ve arkadaşları (2006) açlığın melanokortin yolağı aracılığıyla NUCB2 aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir.

2.19. Nesfatin-1, Stres ve Anksiyete

Nesfatin-1'in stres koşulları altında stres yanıtlarının düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Stres anoreksiyaya neden olur ve nesfatin-1 bu etkiyi parvoselüler alanda NUCB2 sentezleyen nöronları aktive ederek göstermektedir. Nesfatin-1'in santral düzeyi akut stresle artmaktadır. Diğer yandan, periferik nesfatin-1 düzeyi akut stresten etkilenmemektedir. Kronik stresin ise nesfatin-1 plazma düzeyini etkilediği gösterilmiştir (Goebel ve ark., 2009b).

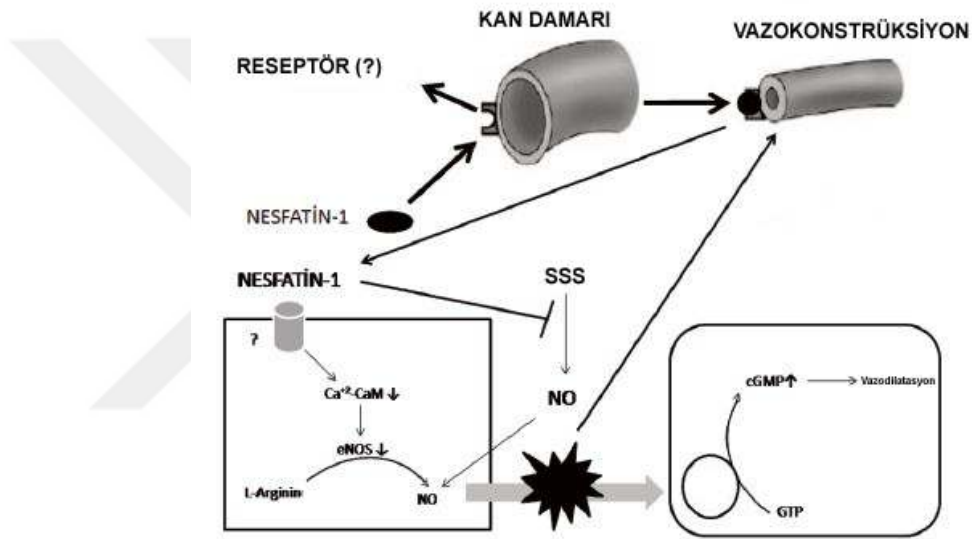
Çeşitli çalışmalarda nesfatin-1'in beslenme davranışının yanı sıra anksiyetede de düzenleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Nesfatin-1'in santral uygulanması anksiyete davranışlarını artırmaktadır (Merali ve ark., 2008). Başka bir çalışmada depresyonlu durumda değişen beslenme alışkanlığından dolayı serum nesfatin-1 düzeyinde farklılıklar araştırılmış ve depresyonlu hastalarda kontrole göre serum nesfatin-1 düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in beslenme davranışındaki etkisinin yanı sıra anksiyete davranışlarında da aracı bir rol oynayabileceğini telkin etmektedir (Ari ve ark., 2011).

2.20. Nesfatin-1 ve Kardiyovasküler Sistem

Beyin nesfatin-1 sinyali stres koşulları altında kardiyovasküler yanıtın düzenlenmesinde rol almaktadır. Örneğin nesfatin-1'in icv enjeksiyonu arteriel kan basıncını artırmaktadır. Melanokortin ve oksitosin reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalarda nesfatin-1'in beslenme ve kan basıncı artışıdaki etkisi ortadan kalktığı bulunmuştur. PVN'da nesfatin-1 oksitosin ile birlikte lokalizedir ve oksitosin sekresyonunu stimüle etmektedir. Nesfatin-1'in melanokortin yolağını da aktive

ettiği bilindiğinden, hipertansif etkinin santral oksitosin ya da melanokortin yolağı aracılığıyla oluştuğu düşünülmektedir (Yosten ve Samson, 2009).

İntravenöz nesfatin-1 uygulamasının ise NO üretimi inhibisyonu aracılığıyla vazokonstriksiyon indükleyerek kan basıncının yükselmesine neden olduğu gösterilmiştir. Kronik kısıtlama stresi oluşturulan sıçanlarda kronik periferel nesfatin-1 endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) plazma düzeyini azaltmaktadır (Yamawaki ve ark., 2012). Bu verilere dayanarak kronik periferel nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki etkisinin eNOS ve NO ile ilişkili olduğu düşünülebilir. Nesfatin-1 kan basıncını vazokonstriksiyonla artırıyor olabilir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Nesfatin-1'in damarlar üzerindeki etkisinin olası sinyal yolları.

2.21. Nesfatin-1 ve L Tipi Kalsiyum Kanalları

Sıçan hipotalamik nöronal hücre kültüründe yapılan bir çalışmada nesfatin-1'in farmakolojik karakterinin G protein kenetli reseptörlere benzediği gösterilmiştir. Bu çalışmada kalsiyum kanal alt ünitelerinin spesifik inhibitörleri kullanılarak nesfatin-1'in L, P, Q tipi Ca²⁺ kanallarını etkilediği ve hücre içi Ca²⁺ miktarını arttırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda peptitin hipotalamik nöronlarda G protein kenetli reseptörlerle etkileşim sonucu Ca²⁺un hücre içine girişini arttırdığı ortaya çıkmıştır (Brailoiu ve ark., 2007).

Başka bir çalışmada nesfatin-1'in pankreatik β hücrelerinden insülin salımını L tipi Ca²⁺ kanallarını aktive ederek artırdığı bildirilmiştir. Kalsiyumdaki intraselüler artış

protein kinaz A ve fosfolipaz A₂'den bağımsızdır. Bununla birlikte, bu etki ve voltaj bağımlı Ca⁺² kanalları arasındaki ilişki hala bilinmemektedir. İntraselüler Ca⁺²'u arttırıcı etki glukoz bağımlıdır. Yemek sonrası plazma glukoz düzeyinin artışıyla nesfatin-1, insülin salınımında artışın sonucu olarak, pankreatik β hücrelerinde glukozla stimüle edilen intraselüler Ca⁺²'u arttırmaktadır (Nakata ve ark., 2011). Diğer bir çalışmada kronik periferik nesfatin-1 uygulamasının özellikle kronik stres koşullarında kalpte L tipi Ca⁺² kanalı α-1c altünitesi proteinin ekspresyon düzeyini artırabildiği görülmüştür. Nesfatin-1'in kalp üzerindeki bu etkisinin kardiyomiyositlerde hasara yol açabileceği düşünülmektedir (Ayada ve ark., 2015b).

2.22. Nesfatin-1'in Ana Klinik Uygulamaları

Birçok obez bireyde leptin direnci olduğu bilinmektedir. İntraperitoneal nesfatin-1 uygulaması leptine dirençli hayvan modellerinde besin alımını anlamı olarak inhibe etmektedir.

Nesfatin-1 ve analogları leptine dirençli obezite modelinde anti-obezite ilacı olmaya adaydır. Böylece, nesfatin-1 obeziteyle ilişkili bozuklukların tedavisi için potansiyel bir hedef haline gelmektedir. Deneysel fare ve sıçan modellerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre nesfatin-1 uygulaması için subkutan ve intranazal yol önerilmektedir. Ancak bu ön preklinik verilerin ileri çalışmalarda doğrulanması gerekmektedir (Shimizu ve ark., 2009b).

Nesfatin-1 uygulaması ile pankreatik β adacık hücrelerinde L tipi Ca⁺² kanallarının aktivasyonu ile insülin sekresyonunun artması, nesfatin-1'in diyabetes mellitus tedavisinde kullanılabilirliği açısından da umut vaat etmektedir (Aydın ve ark., 2009).

NUCB2/nesfatin-1, puberte oluşumunda da santral bir role sahiptir. Garcia Galiano ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada pubertal geçiş döneminde NUCB2 ekspresyonunun arttığı ve dişi sıçanların geç infantil ve peripubertal periyodunda toplam NUCB2 protein içeriğinin üç kat arttığı görülmüştür. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in dişi puberte kontrolüyle ilişkisini ortaya koymaktadır.

Aydın ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada ise yeni teşhis almış epilepsi hastalarının tükürük ve serum nesfatin-1 düzeyinin kontrole göre 160 kat yüksek

olduğu ve antiepileptik tedavi ile epileptik hastaların serum ve tükürük nesfatin-1 düzeyinin yine 10 kat yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Buna göre, artan nesfatin-1 düzeyi epilepsinin patofizyolojisine katkıda bulunuyor olabilir ve epilepsi teşhis ve tedavi izlemesi sürecinde bir belirteç olarak aday olabilir. Başka bir çalışmada, yeni epileptik nöbet geçiren hastalarda artan nesfatin-1 düzeyinin belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Sonuç olarak, nesfatin-1 epilepsi açısından belirteç adayı olarak da ümit vaat etmektedir (Ayada ve ark., 2015a).

2.23. Negatif Klinik Uygulamalar

Pozitif klinik etkiler yanında negatif sonuçlar da bildirilmiştir. Tanida ve arkadaşları (2011) nesfatin-1'in i.c.v. enjeksiyonunun santral melanokortin sistemi aracılığıyla renal sempatik sinir aktivitesini stimüle ederek kan basıncını anlamlı olarak arttırdığını göstermişlerdir. Yosten ve arkadaşları (2009), nesfatin-1'in i.c.v. uygulanmasından sonra ortalama arteriel basıncın anlamlı olarak arttığını ve nesfatin-1'in santral melanokortin sistemiyle etkileşerek sempatik sinir aktivitesini stimüle edip ortalama kan basıncını artırdığını bildirmişlerdir.

Nesfatin-1'in i.c.v. uygulamasının hipertansiyonu indüklemesi, santral kardiyovasküler kontrolde bu peptidin rolüne dikkati çekmektedir. Günümüzde hipertansiyonun kardiyovasküler hastalıklar için ana risk faktörlerinden biri olduğu bilinmektedir. Bu açıdan özellikle kardiyovasküler hastalığa sahip bireyler için nesfatin-1'in kan basıncını artırması negatif bir faktördür (Ayada ve ark., 2015a).

Nesfatin-1, tokluk peptiti olmanın yanı sıra anksiyeteye ilişkili yanıtlarla da ilişkilidir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada nesfatin-1'in santral uygulamasını takiben anksiyete davranışlarını artırdığı görülmüştür. Bununla birlikte, nesfatin-1 ve anksiyete gibi stresle ilişkili davranışların arasındaki ilişki net olarak aydınlatılamamıştır (Merali ve ark., 2008).

Son zamanlarda nesfatin-1'in enerji dengesi ve glukoz metabolizmasındaki rolüne dayanılarak, tip 2 diyabet hastalarında ve yaşlılarda tiroid fonksiyonu için düzenleyici bir faktör olarak düşünülmektedir (Li ve ark., 2014).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

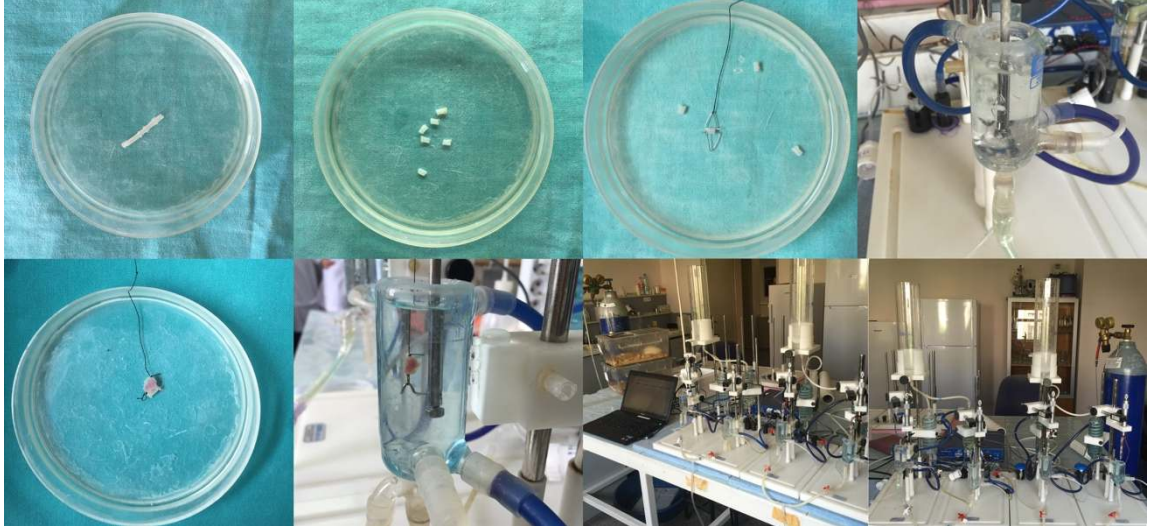
3.1. Deneysel Model

Bu çalışma için, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Komitesi'ne başvuru yapılmıştır. Çalışmamızda 250-300 gr ağırlığında toplam 50 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar ketamin ve ksilazin anestezisi altında dekapite edilerek torasik aortları çıkarılmış, etraf dokulardan dikkatle temizlendikten ve arter halkaları 2-3 mm uzunluğunda kesildikten sonra elde edilen aort halkaları damar lümeni zedelenmeden dikkatlice iki paslanmaz çelik klipten geçirilerek taze Krebs solüsyonu (mM: NaCl 118, KCl 5, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5 ve glikoz 11.2) ile dolu 20 ml'lik organ banyosunda pH 7.4 olacak şekilde %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlanması sağlanarak 37°C'de dinlenmeye alınmıştır. İzometrik gerilim; bir bilgisayar-tabanlı veri toplama sistemine (TDA 97, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) bağlı bir izometrik kuvvet dönüştürücü (FDT10-A, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) ile sürekli ölçülmüştür. Torasik arter halkalarına 1.5 g optimal bir dinlenme gerginliği uygulanmış ve dokular 60 dakika süre boyunca dengelemeye bırakılmıştır. Nesfatin-1'in damarlar üzerinde gevşetici etkisi olup olmadığını değerlendirmek için, deneylerin ilk kısmında, fenilefrin (Fe) (10⁻⁶ M) ile kasılmış endoteli sağlam torasik arter halkalarına Nesfatin-1 artan konsantrasyonlarda uygulanmış ve konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir. Deneylerin ikinci kısmında nesfatin-1'in damar gevşeme yanıtlarına etkisini değerlendirmek için, Fe (10⁻⁶ M) ile kasılmış endoteli sağlam torasik arter halkalarının ACh (endotel bağımlı, ACh, 10⁻⁹- 10⁻⁵ M) ve sodyum nitroprusid (SNP, endotelden bağımsız, 10⁻¹¹ -10⁻⁶ M) ile gevşeme yanıtları alınmış ve aynı yanıtlar nesfatin-1 inkübasyonu sonrası (10 ng/ml, 60 dakika) tekrarlanarak nesfatin-1'in inkübasyonunun etkisi araştırılmıştır.

Diğer bir grup deneyde ise damar kasılma yanıtları üzerine nesfatin-1'in etkisi incelenmiştir. Bunun için aort halkalarında KCl (10-80 mM) ve Fe (10⁻⁹- 10⁻⁵ M) ile konsantrasyon-yanıt eğrileri oluşturulmuştur. Daha sonra banyolara nesfatin-1 inkübe edilmiş ve aynı yanıtlar tekrarlanmıştır. Diğer yandan nesfatin-1'in kalsiyum hemodinamiğine etkisini değerlendirmek için, ekstrasellüler alandan Ca⁺² giriş mekanizmasını aktive etmek için yüksek KCl solüsyonu (Ca⁺²‘suz 80 mM) kullanılmıştır. Depolarizasyondan sonra çeşitli konsantrasyonlarda Ca⁺², maksimum

2.5 mM konsantrasyona ulaşana kadar kümülatif olarak banyoya eklenmiştir. Kalsiyumsuz yüksek KCl solüsyonundaki, CaCl_2 , MgCl_2 ile yer değiştirecektir ve 2 mM etilenglikol-bis-(b-amino-etil eter)-N,N,N',N'-tetra asetik asit (EGTA) eklenecektir. Kontrol deneylerinin ardından, 10 ng/ml nesfatin-1'nin 60 dakika inkübasyonundan sonra benzer protokol tekrarlanmış ve yanıtlar kaydedilmiştir. Ek olarak, ekstrasellüler Ca^{+2} yokluğunda (Ca^{+2} 'suz Krebs solüsyonu) hücre içi kalsiyum depolarından IP-3 aracılı kalsiyum salımını uyarmak için fenilefrin kullanılacaktır. Kalsiyumsuz çalışmalarda dokuların 45 dakika dengeye gelmesine izin verilmiş ve daha sonra yıkama solüsyonu Ca^{+2} 'suz Krebs solüsyonu (mM olarak: NaCl 118, KCl 4.7, NaHCO_3 25, KH_2PO_4 1.3, MgSO_4 0.6, EGTA 10, and glucose 11.1) ile değiştirilmiştir. 5 dakika sonra dokular 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı maksimuma ulaşır ulaşmaz dokular bazal gerilime dönene kadar Krebs solüsyonu ile yıkanmış ve 45 dakikalık dinlenme periyodundan sonra aynı protokol tekrarlanmıştır. Bir grup deneyde, ikinci kalsiyumsuz kontraksiyondan 60 dakika önce nesfatin-1 inkübasyonu yapılmıştır.

Nesfatin-1'in kalp hızı üzerine direkt etkisini incelemek için, aynı hayvandan kalp izole edilip sağ atrium asılmış ve nesfatin-1 artan konsantrasyonlarda banyoya eklenerek kalp hızı ve kasılma gücü üzerine etkisi incelenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Aort ve sağ atrium preparatlarının hazırlanışı

3.2.Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan Fe, ACh, SNP, Nesfatin-1 ve Krebs solüsyonu hazırlamak için kullanılan kimyasal maddeler Sigma Kimyasal'dan (St. Louis, Mo.) elde edildi ve tüm kimyasallar distile suda çözüldü.

3.3.İstatistiksel Analiz

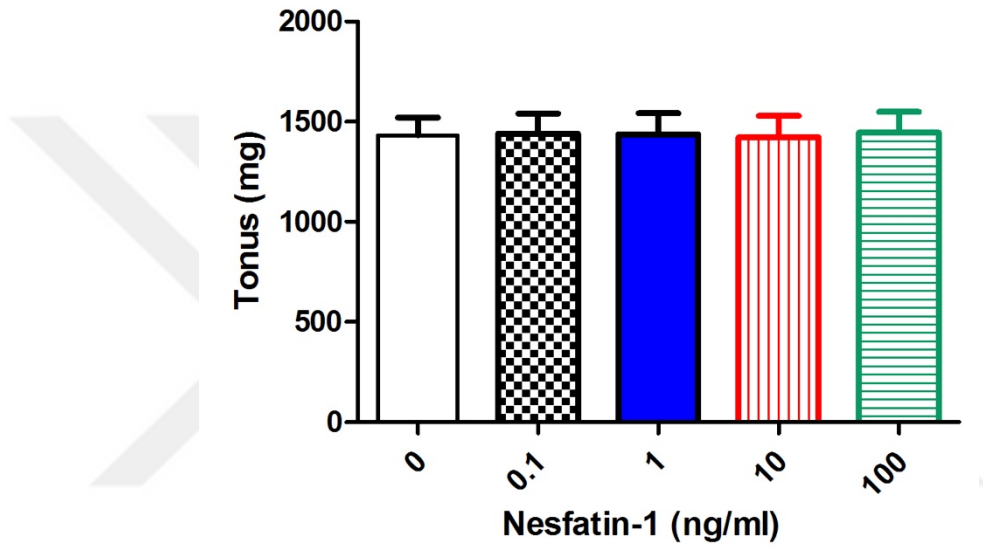
Tüm değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Sonuçların istatistiksel analizi Student-T testi kullanılarak yapıldı. P değeri 0.05'in altında olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



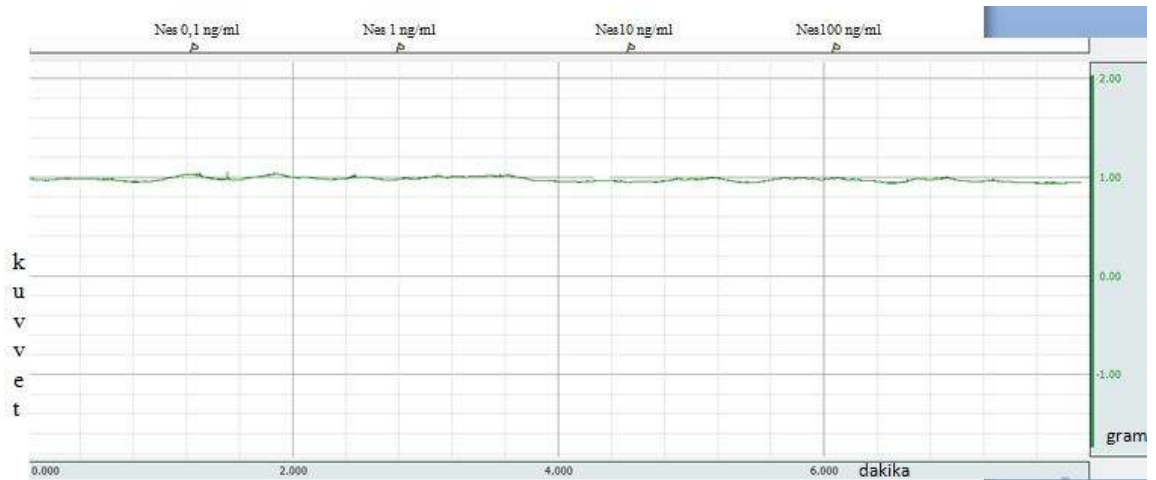
4. BULGULAR

4.1. Bazal Tonus Üzerine Nesfatin-1'in Etkileri

İzole aort dokusuna Nesfatin-1'in 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında uygulanması bazal tonus üzerine anlamlı bir etki oluşturmamıştır (Şekil 4.1). Nesfatin-1 uygulaması sonrası bazal tonusun zamana bağlı seyrinin trasesi Şekil 4.2'de görülmektedir.



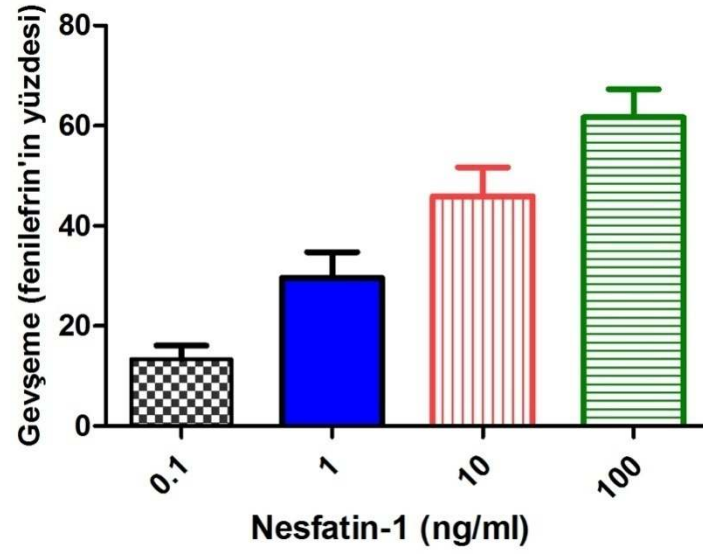
Şekil 4.1: Nesfatin-1'in artan konsantrasyonlarda bazal tonus üzerindeki etkisi (n=6-8, tüm gruplar için)



Şekil 4.2: Nesfatin-1 uygulaması sonrası bazal tonusun zaman bağlı seyrinin trasesi

4.2. Fenilefrin ile Oluşan Kasılma Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi

Fenilefrin (10^{-6} M) ile kasılan aort halkalarına kasılma platoya ulaştıktan sonra 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında nesfatin-1 uygulanmıştır. Nesfatin-1 fenilefrin ile kasılan damarlarda konsantrasyona bağımlı bir gevşeme yanıtına neden olmuştur (Şekil 4.3). Nesfatin-1 ile oluşan gevşemenin maksimum değeri (E_{max}) $\%61.7 \pm 5.6$ olarak bulunmuştur. Fenilefrin kasılması sonrası Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtının trasesi Şekil 4.4'de görülmektedir.



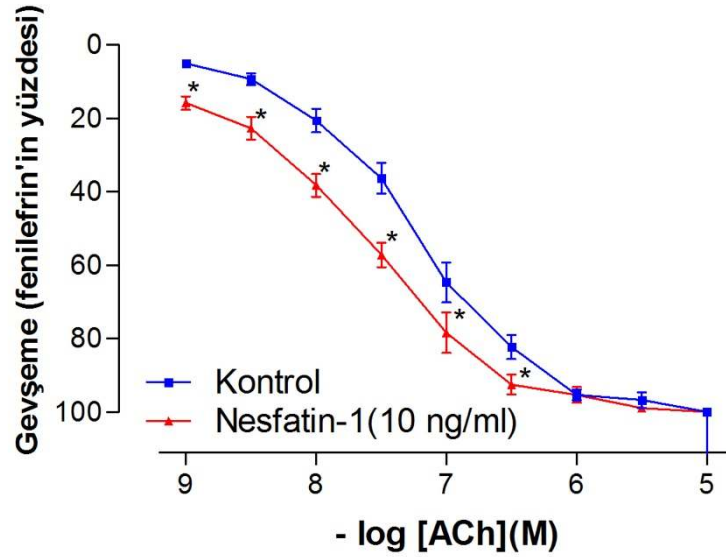
Şekil 4.3: Fenilefrin kasılması sonrası Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtı (n= 6-8, tüm gruplar için)



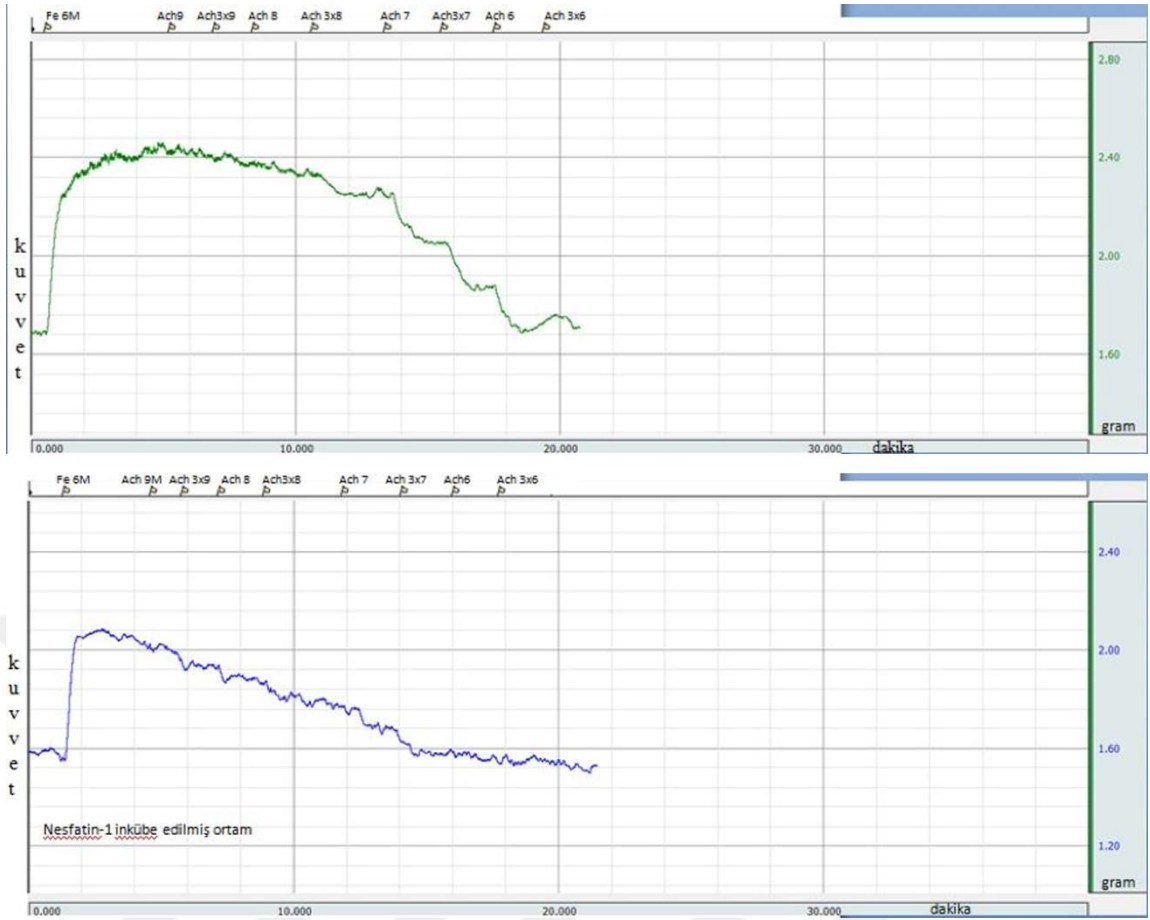
Şekil 4.4: Fenilefrin kasılması sonrası Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtının trasesi

4.3. Endotele Bağımlı ve Endotelden Bağımsız Gevşeme Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi

Endotele bağımlı gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisini değerlendirmek için, aort dokuları 60 dakika süreyle 10 ng/ml Nesfatin-1 ile inkübe edilmiş ve daha sonra ACh konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi alınan ACh konsantrasyon-yanıt eğrileri ile karşılaştırılmıştır. 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu 10^{-9} - 3×10^{-5} M aralığında ACh gevşemelerinin anlamlı olarak güçlenmesine neden olmuştur (Şekil 4.5). Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası ACh konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi Şekil 4.6'da görülmektedir.

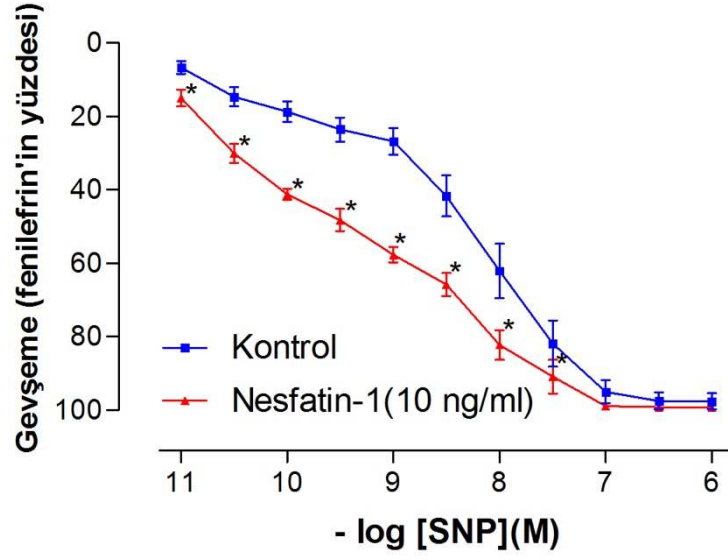


Şekil 4.5: Endotele bağımlı gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunu (10 ng/ml) etkisi. (n= 6-8, tüm gruplar için, *P<0.05 kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı)

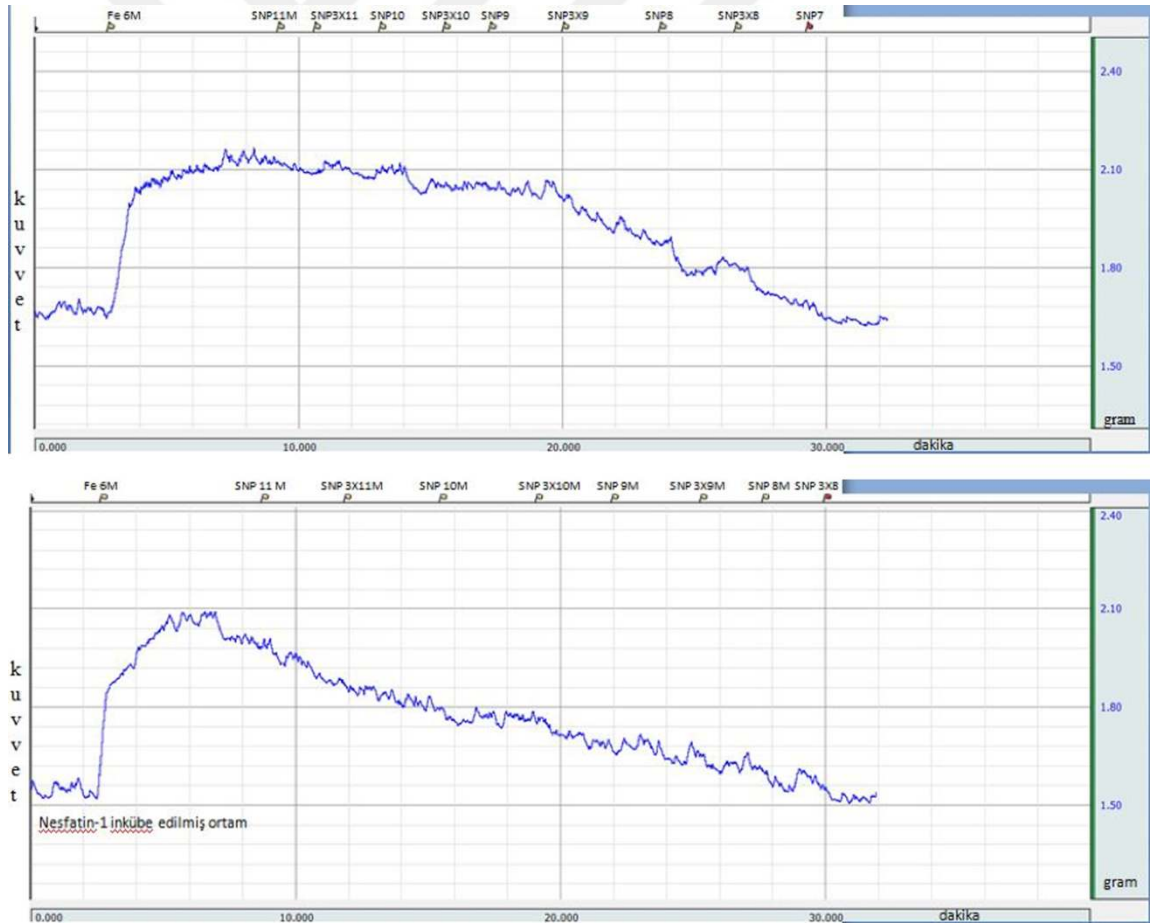


Şekil 4.6: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası alınan ACh konsantrasyon-yanıt eğrileri

Endotelden bağımsız gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkisini değerlendirmek için, aort dokuları 60 dakika süreyle 10 ng/ml Nesfatin-1 ile inkübe edilmiş ve daha sonra SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi alınan SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri ile karşılaştırılmıştır. 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu 10^{-11} - 3×10^{-6} M aralığında SNP gevşemelerinin anlamlı olarak güçlenmesine neden olmuştur (Şekil 4.7). Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası SNP konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi Şekil 4.8’da görülmektedir.



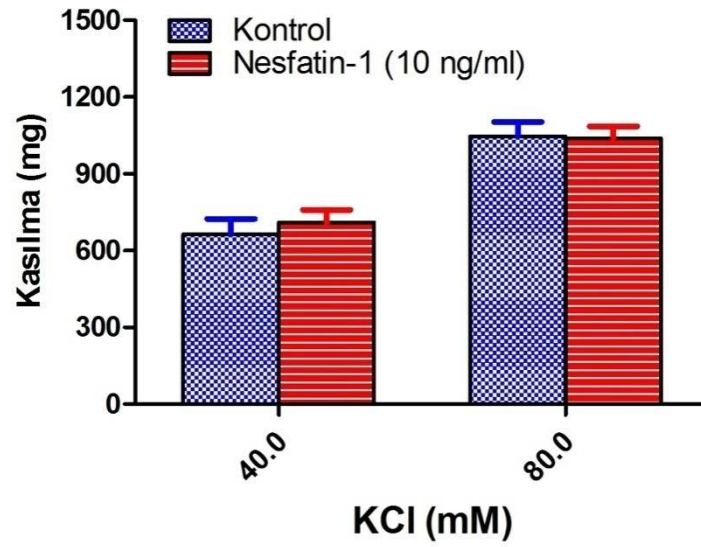
Şekil 4.7: Endotelden bağımsız gevşeme yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun (10 ng/ml) etkisi. (n= 6-8, tüm gruplar için. *P<0.05 kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı)



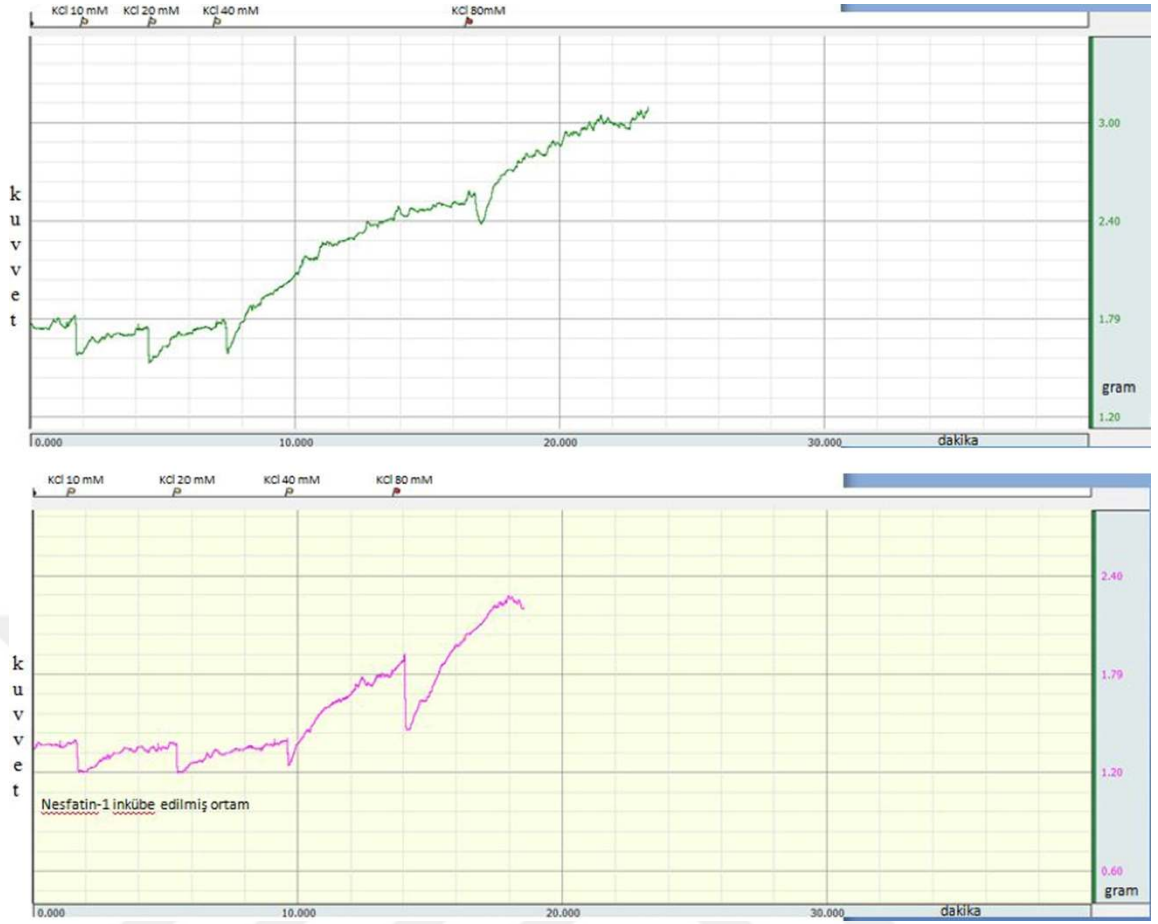
Şekil 4.8: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası alınan SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri

4.4. Kasılma Yanıtları Üzerine Nesfatin-1'in Etkisi

Reseptör bağımsız kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkilerini değerlendirmek için, aort dokuları 10 ng/ml Nesfatin-1 ile 60 dakika süre ile inkübe edilmiş ve daha sonra 10-80 mM KCl ile oluşan kasılma yanıtları elde edilmiştir. Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası alınan değerler inkübasyon öncesi 10-80 mM KCl kasılma yanıtları ile karşılaştırılmıştır. KCl 10 ve 20 mM konsantrasyonda anlamlı bir kasılma oluşturmazken, 40 ve 80 mM KCl izole aort dokusunda güçlü kasılmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu KCl ile oluşan kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.9). Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası KCl konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi Şekil 4.10'da görülmektedir.

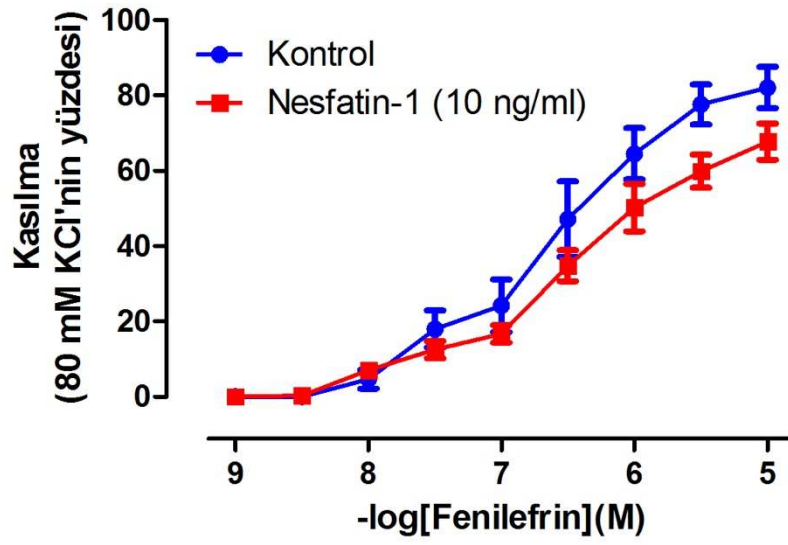


Şekil 4.9: KCl ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun (10 ng/ml) etkisi.(n= 6-8, tüm gruplar için)

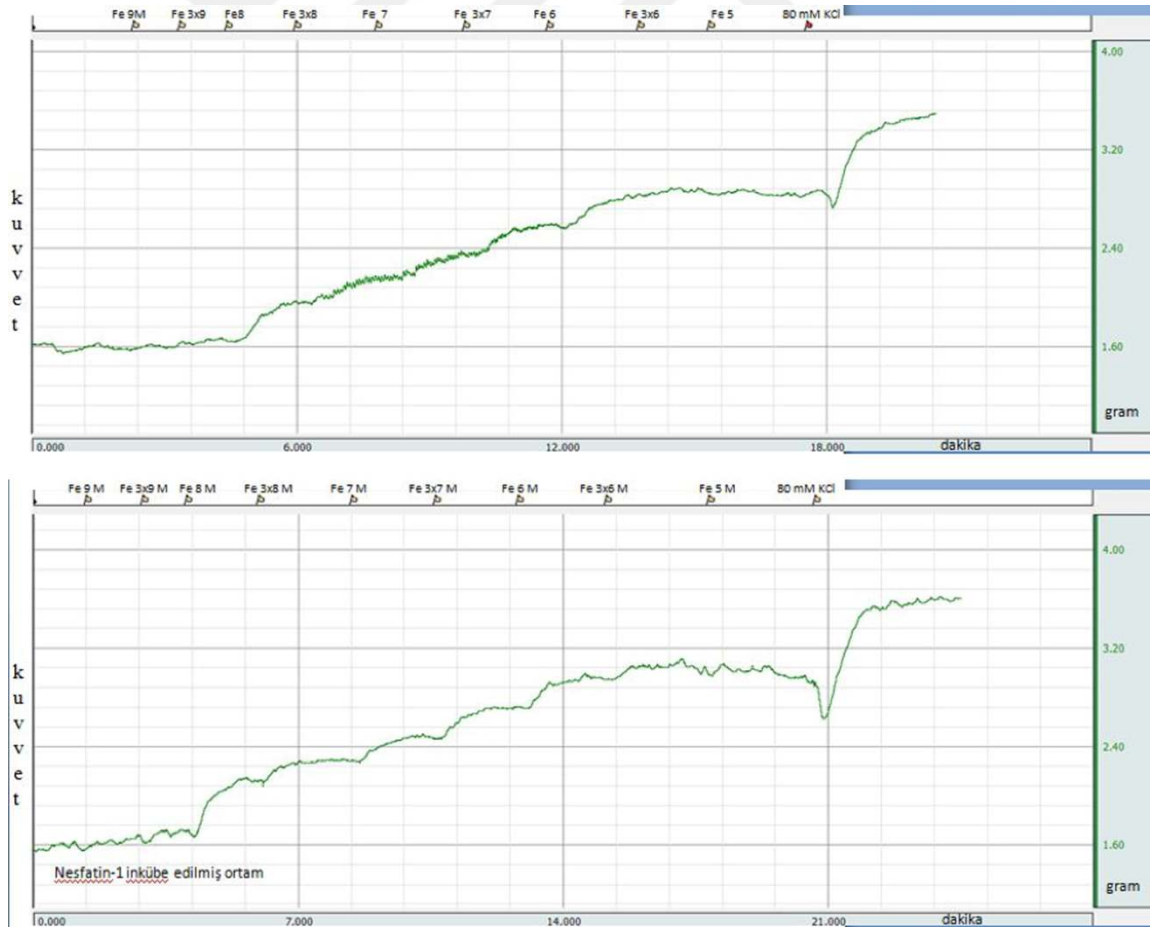


Şekil 4.10: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası KCl konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi

Reseptör bağımlı kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun etkilerini değerlendirmek için, aort dokuları 10 ng/ml Nesfatin-1 ile 60 dakika süre ile inkübe edilmiş ve daha sonra Fe (10^{-9} - 10^{-5} M) ile oluşan kasılma yanıtları elde edilmiştir. Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası alınan yanıtlar inkübasyon öncesi Fe kasılma yanıtları ile karşılaştırılmıştır. 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu Fe ile oluşan kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.11). Nesfatin-1 inkübasyonu sonrası Fe konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi Şekil 4.12’de görülmektedir.

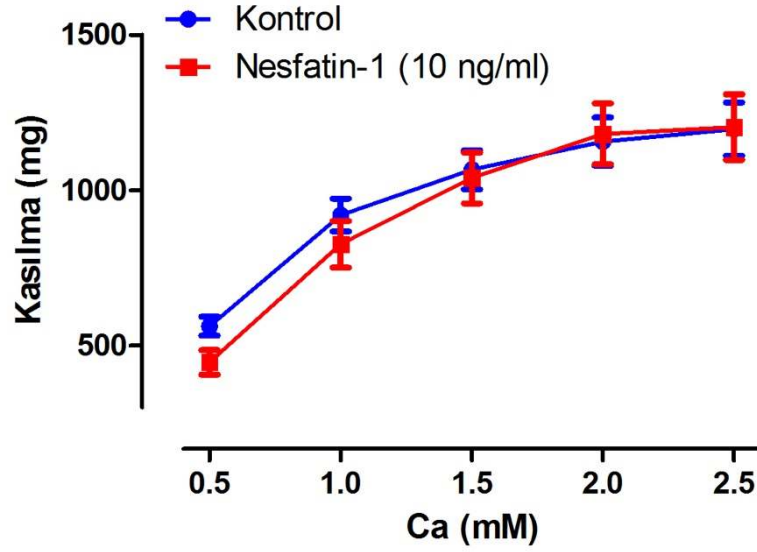


Şekil 4.11: Fenilefrin ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun (10 ng/ml) etkisi (n= 6-8, tüm gruplar için).



Şekil 4.12: Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası Fe konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi

Ca^{+2} 'suz 80 mM KCl ile depolarize edilen dokularda dışarıdan verilen Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıtları, nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası karşılaştırılmıştır. 60 dakika süre ile 10 ng/ml Nesfatin-1 inkübasyonu ekstrasellüler alandan Ca^{+2} girişi ile oluşan kasılma yanıtlarını anlamlı olarak değiştirmemiştir (Şekil 4.13). Ca^{+2} 'suz 80 mM krebs ortamında Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası Ca^{+2} konsantrasyon-yanıt eğrisinin trasesi Şekil 4.14'de görülmektedir.

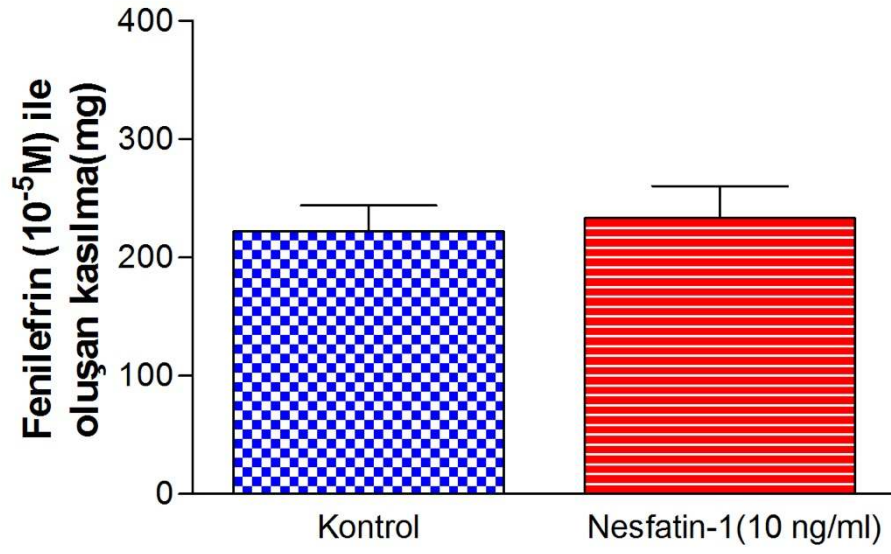


Şekil 4.13: Ca^{+2} 'suz KCl ile depolarize edilen dokularda dışarıdan verilen Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıtları üzerine Nesfatin-1 inkübasyonunun (10 ng/ml) etkisi (n= 6-8, tüm gruplar için).

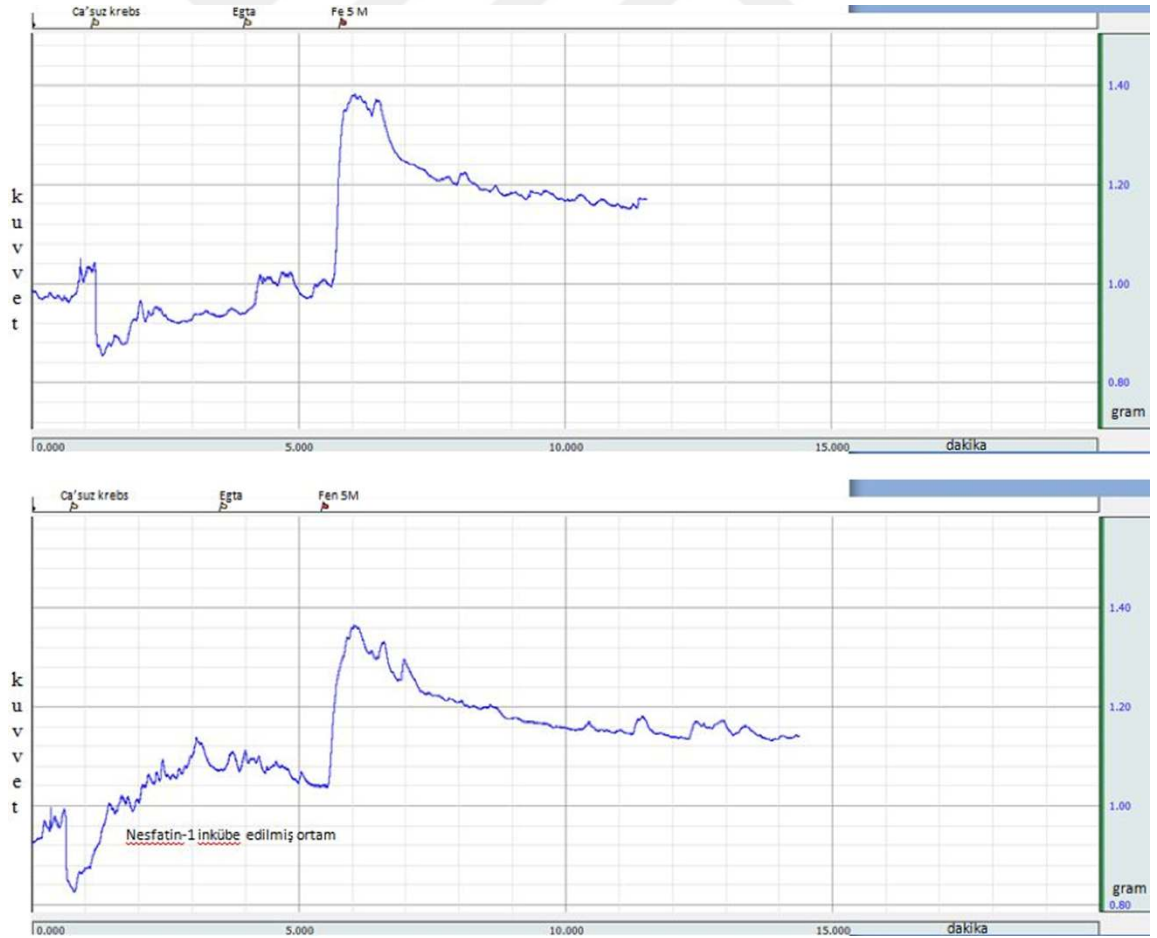


Şekil 4.14: Ca^{+2} 'suz KCl ile depolarize edilen dokularda dışarıdan verilen Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıt eğrisinin trasesi

Ca^{+2} 'suz krebs solüsyonu varlığında dokular nesfatin-1 ile inkübe edildikten önce veya sonra 10^{-5} M Fe ile kasılmış ve elde edilen kasılma yanıtı karşılaştırılmıştır. 60 dakika süre ile 10 ng/ml Nesfatin-1 inkübasyonu Ca^{+2} 'suz krebs varlığında Fe ile oluşan kasılma yanıtlarını anlamlı olarak değiştirmiştir (Şekil 4.15). Ca^{+2} 'suz krebs varlığında Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası Fe ile oluşan kasılmanın trasesi Şekil 4.16'de görülmektedir.



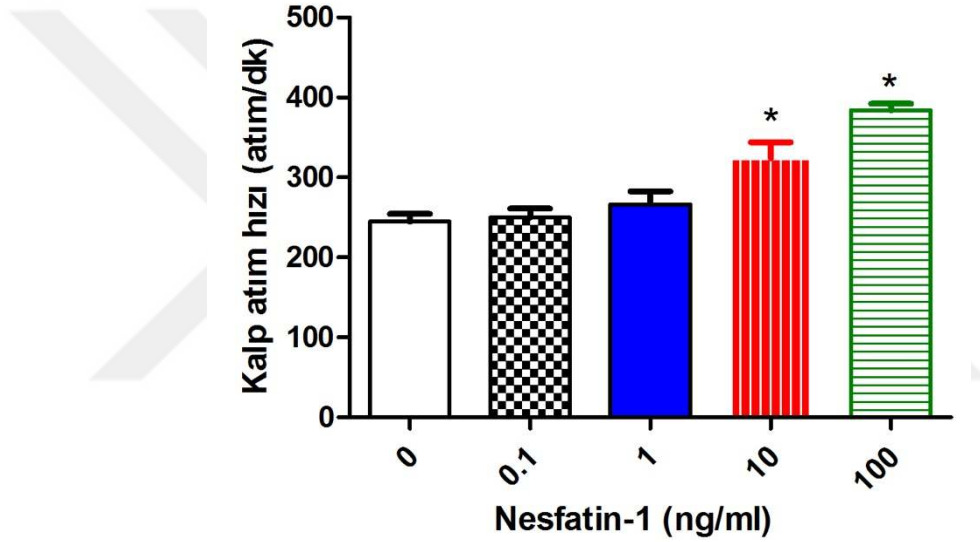
Şekil 4.15: Ca^{+2} 'suz Krebs varlığında fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtlarına Nesfatin-1 inkübasyonunun (10 ng/ml) etkisi (n=6-8, tüm gruplar için).



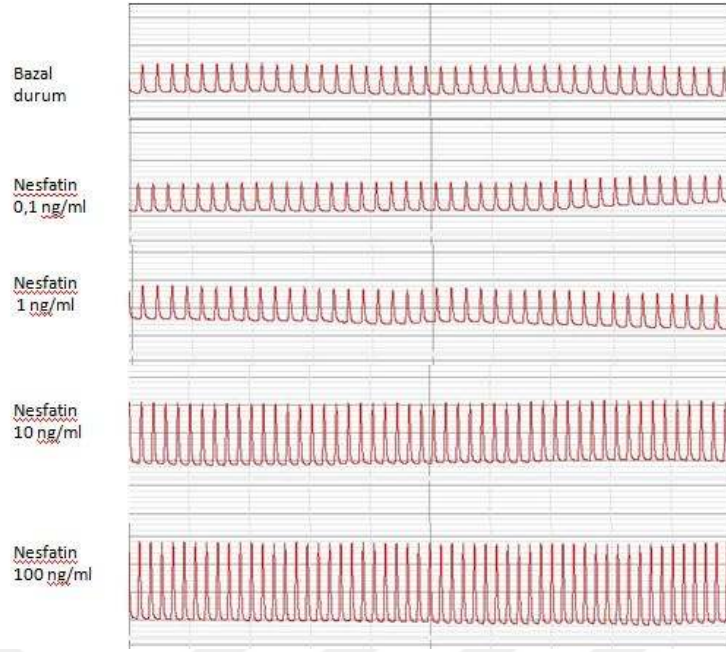
Şekil 4.16: Ca^{+2} 'suz krebs varlığında Nesfatin-1 inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin ile oluşan kasılmanın trasesi

4.5. Nesfatin-1'in Kalp Hızı Üzerine Etkisi

İzole sağ atrium preparatında nesfatin-1'in kalp hızı üzerine etkisini değerlendirmek için, atrium dokusuna 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında nesfatin-1 uygulanmış ve kalp hızındaki değişiklikler kaydedilmiştir. Nesfatin-1, 10 ve 100 ng/ml konsantrasyonlarında kalp hızında anlamlı artışa neden olmuştur (Şekil 4.17). Bazalde 244.8 ± 9.7 atım/dakika olan kalp hızı, 10 ng/ml nesfatin-1 uygulaması sonrasında 324 ± 20.0 atım/dakikaya, 100 ng/ml nesfatin-1 sonrasında ise 384 ± 8.4 atım/dakikaya çıkmıştır. Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp atım hızı değişiminin trasesi Şekil 4.18'de görülmektedir.



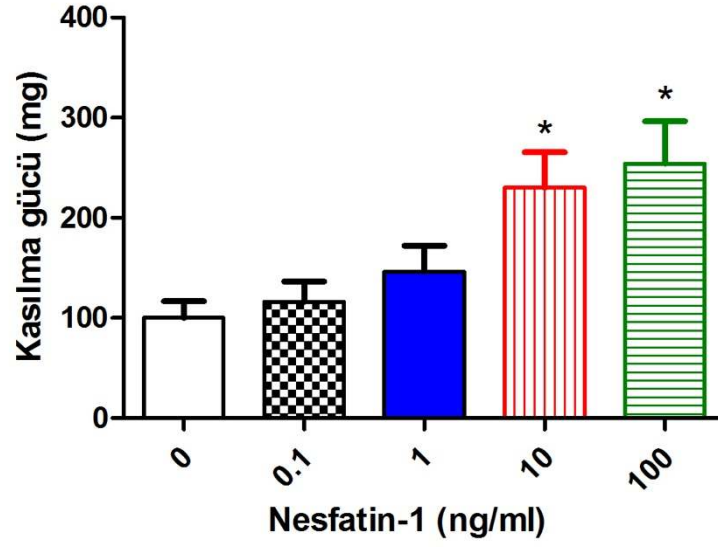
Şekil 4.17: Nesfatin-1'in kalp atım hızı üzerine etkisi. (n= 6-8, tüm gruplar için. *P<0.05 kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı).



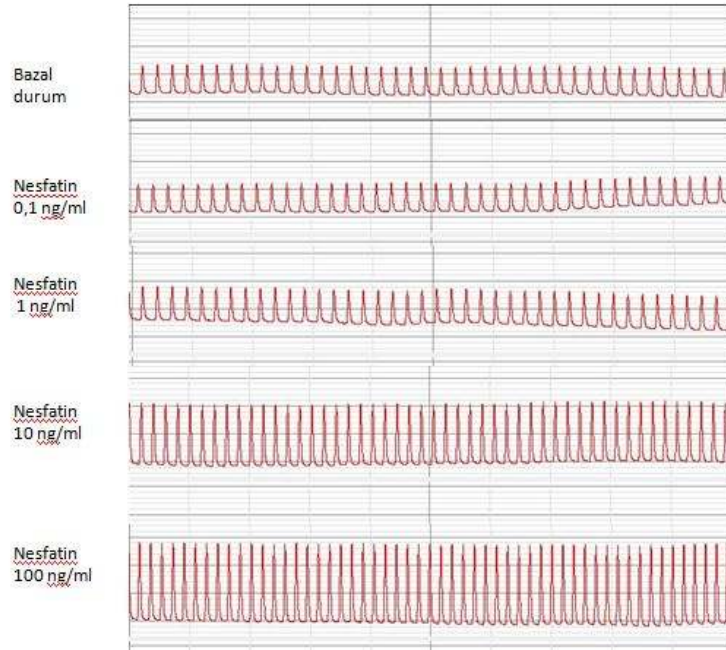
Şekil 4.18: Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp atım hızı değişiminin trasesi

4.6. Nesfatin-1'in Kalp Kasılma Gücü Üzerine Etkisi

İzole sağ atrium preparatında nesfatin-1'in kalp kasılma gücü üzerine etkisini değerlendirmek için, atrium dokusuna 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında nesfatin-1 uygulanmış ve kalp kasılma gücündeki değişiklikler kaydedilmiştir. Nesfatin-1, 10 ve 100 ng/ml konsantrasyonlarında kalp kasılma gücünde anlamlı artışa neden olmuştur (Şekil 4.19). Bazalde 100.0 ± 16.7 mg olan kasılma gücü, 10 ng/ml nesfatin-1 uygulaması sonrasında 230.0 ± 35.6 'ya, 100 ng/ml nesfatin-1 sonrasında ise 254.0 ± 42.6 'ya çıkmıştır. Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp kasılma gücündeki değişiminin trasesi Şekil 4.20'de görülmektedir.



Şekil 4.19: Nesfatin-1'in kalp kasılma gücü üzerine etkisi. (n= 6-8, tüm gruplar için. *P<0.05 kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı).



Şekil 4.20: Nesfatin-1 uygulaması sonrası gözlenen kalp kasılma gücündeki değişiminin trasesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışma izole aort ve sağ atrium preparatında nesfatin-1'in direkt etkisinin birlikte değerlendirildiği ilk in vitro çalışmadır. Bu amaç doğrultusunda, çalışmamızda nesfatin-1'in damar bazal tonusu üzerine etkileri yanı sıra, çeşitli ajanlar ile oluşan kasılma ve gevşeme yanıtları üzerine etkileri değerlendirilmiş ve nesfatin-1'in in vitro olarak uygulanmasının damar reaktivitesini ve kalbin kasılma yanıtlarını etkileyip etkilemediği, ve eğer etkiliyorsa nasıl etkilediği sorularına cevap aranmıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları adipositokin olarak adlandırılan adiposit kaynaklı hormonların periferik kan damarları ve kan basıncında kontraktıl reaktiviteyi etkileyebileceğini göstermiştir (Yamawaki, 2011a; b). Adipositokinlerden visfatin (Yamawaki ve ark., 2009), omentin (Yamawaki ve ark., 2010) ve adiponektin (Cheng ve ark., 2007; Xi ve ark., 2005) ve leptin'in (Kimura ve ark., 2000) izole kan damarlarında NO aracılı endotel bağımlı gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir Diğer yandan, diğer bir adipositokin olan resistin'in kontraktıl veya relaksan etkisi olmadığı, ama insülinle indüklenmiş vasodilatasyonu spesifik olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (Gentile ve ark., 2008). Bununla birlikte, yeni bir adipositokin olan nesfatin-1'in kardiyovasküler sistemdeki direkt etkilerini değerlendiren çalışma sayısı yok denecek kadar azdır.

Daha önce yapılan bir çalışmada nesfatin-1'in santral olarak uygulanmasının kan basıncını arttırdığı ve bu etkinin sempatik sistem aktivasyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Yosten ve Samson, 2009; 2010). Daha sonraki yıllarda Yamawaki ve arkadaşları (2012) intravenöz nesfatin-1 uygulamasının NO üretimini inhibe ederek kan basıncında artışa neden olabileceğini göstermişlerdir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak; Ayada ve arkadaşları (2015c) kronik periferik nesfatin-1 uygulamasının normal ve kronik stres uygulanmış sıçanlarda kan basıncında yükselmeye neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yeni bir adipositokin olan nesfatin-1'in in vivo uygulamasının arteriel kan basıncında artışa sebep olduğu bilinmekle birlikte, periferik kan damarlarında nesfatin-1'in kontraktıl reaktiviteyi etkileyip etkilemediği konusu yeterince incelenmemiştir.

Nesfatin-1'in hipertansif etkisi hem santral sinirlerdeki etkisine, hem de periferik kan damarları üzerine olan etkisine bağlı ortaya çıkıyor olabilir. İn vivo koşullarda kan basıncı üzerine olan etkisinde santral aracılı mekanizmalar kısmen çalışılmış olsa da, nesfatin-1'in periferik damar yanıtları üzerine etkisini araştıran sadece bir çalışma bulunmaktadır. Ayrıca, kan basıncı kan damarlarının reaktivitesi dışında kalbin çalışma hızı ve kasılma gücü ile de düzenlenmektedir (Yamawaki ve ark., 2012). Bu nedenle, nesfatin-1'in kalp üzerine direkt etkisinin incelendiği çalışmalara da gereksinim duyulmakta olup, çalışmamız bu konuyu inceleyen literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda öncelikle izole sıçan aort dokusuna nesfatin-1'in etkisi in vitro koşullarda değerlendirilmiştir. Bazal koşullarda nesfatin-1 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında giderek artan konsantrasyonlarda banyoya uygulanmış ve bazal koşullarda damar tonusu üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür. Daha sonra dokular fenilefrin ile kasılmış ve kasılma platoya eriştikten sonra 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında nesfatin-1 banyoya uygulanmıştır. Nesfatin-1 fenilefrin ile kasılmış olan izole aort dokusunda konsantrasyona bağımlı güçlü bir gevşeme yanıtının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Nesfatin-1 ile oluşan gevşeme yanıtı endotele bağımlı ve/veya bağımsız mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkıyor olabilir. Bu nedenle, bu çalışmada nesfatin-1'in endotel-bağımlı (ACh ile oluşan) ve endotel-bağımsız (SNP ile oluşan) gevşemeler üzerine etkisi incelenmiştir. Submaksimal konsantrasyonda fenilefrin ile kasılan izole aort halkalarında 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu endotel-bağımlı gevşeme oluşturan ACh'e gevşeme yanıtlarını anlamlı olarak arttırmıştır. Bununla birlikte, 10 ng/ml nesfatin-1 inkübasyonu NO donorü SNP ile oluşan endotel-bağımsız gevşeme yanıtlarını da anlamlı olarak potansiyelize etmiştir. ACh ve SNP'in her ikisi de NO ile solubl guanilat siklazın aktivasyonu sonucu sGMP üretiminde artışa neden olarak damarlarda gevşeme yanıtına neden olmaktadır. Ancak, ACh endotelial NO üretimi ile etki gösterirken, SNP bir NO dönörü olarak solubl guanilat siklazı aktive ederek ve sGMP düzeylerini artırarak gevşetici etkisini ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle, bu sonuçlar nesfatin-1'in izole aort preparatındaki gevşetici etkisinde NO üretiminden çok solubl guanilat siklaz/sGMP yolağının aktive edilmesinin rol oynayabileceğini telkin etmektedir. Bu sonuç, izole aort dokusunda sGMP düzeylerinin artması yanı sıra damar düz kasının

sGMP'ye duyarlılığının artmasıyla da ortaya çıkıyor olabilir. sGMP; sGMP-bağımlı protein kinazı aktive ederek sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunu ve/veya kontraktıl proteinlerin Ca^{+2} 'a duyarlılığını azaltarak damar düz kas gevşemesine neden olmaktadır (Karakı ve ark., 1988; Munzel ve ark., 2003). Çeşitli fosfodiesteraz (PDE) enzimleri sGMP hidrolizini sağlamakta ve doku sGMP düzeyi PDE ve solubl guanilat siklaz aktivitesi arasındaki dengeyle sağlanmaktadır. Nesfatin-1 SNP ile indüklenen sGMP aracılı gevşeme yanıtlarını solubl guanilat siklaz aktivitesini arttırarak veya PDE enzim aktivitesini inhibe ederek güçlendiriyor olabilir. Bununla birlikte, önceki bir çalışmada nesfatin-1'in PDE inhibitörlerinin varlığında SNP ile indüklenen gevşeme yanıtını değiştirdiği bildirildiğinden (Yamawaki ve ark., 2012), nesfatin-1'in etkisi olasılıkla solubl guanilat siklaz aktivitesinin değişmesi sonucu ortaya çıkmış olabilir. Çalışmamızın sonuçları nesfatin-1 inkübasyonunun SNP ile oluşan gevşeme yanıtlarını inhibe ettiğinin bildirildiği bu çalışmanın sonuçlarıyla zıt bulunmuştur. Bu farklılık kullanılan deneyin gerçekleştirildiği damar dokusunun yeri ve çapı ve/veya damar preparatının kasılması için kullanılan ajanlar gibi yöntemsel farklılıklara bağlı olabilir. Ayrıca, insanlarda kan nesfatin-1 konsantrasyonunun genel olarak 10 ng/ml den az olduğu (Ghanbari-Niaki ve ark., 2010; Li ve ark., 2010; Ramanjaneya ve ark., 2010), hatta bu değerın yaklaşık olarak 1 ng/ml civarında seyrettiği bildirilmiştir (Dai ve ark., 2013; Liu ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014). Bu nedenle, diğer çalışmada kullanılan nesfatin-1 konsantrasyonu (10 nM = 100 ng/ml) insanlarda bildirilen kan düzeyinden oldukça yüksektir. Bizim çalışmamızda ise 10 ng/ml nesfatin-1 konsantrasyonu seçilmiş olup, bu konsantrasyon insanlarda bildirilen nesfatin-1 düzeyleriyle daha uyumlu bir konsantrasyondur. İki çalışma sonuçları arasında SNP yanıtlarında gözlenen farkın diğer bir nedeni kullanılan konsantrasyonlar arasındaki yaklaşık 10 katlık fark olabilir.

Nesfatin-1'in izole aort halkalarında gevşetici etkisi yanı sıra kasılma yanıtları üzerine etkisi de çalışmamızda değerlendirilmiştir. Fenilefrin gibi vazokonstrüktör ajanlarla oluşan damar düz kas kasılması intrasellüler depolardan Ca^{+2} salınımı yanı sıra ekstrasellüler alandan Ca^{+2} girişı sonucu intrasellüler Ca^{+2} 'un artışı sonucu ortaya çıkmaktadır (Khalil ve van Breemen, 1995). Nesfatin-1'in fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtlarına etkisini değerlendirmek için, izole aort preparatları 10 ng/ml nesfatin-1 ile inkübe edilmiş ve inkübasyon öncesi ve sonrası fenilefrin

konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları nesfatin-1 inkübasyonunun fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtlarını etkilemediğini göstermektedir. Damar kalsiyum hemodinamikleri üzerine nesfatin-1'in etkisini değerlendirmek için, Ca^{+2} 'suz Krebs ortamında fenilefrinle indüklenen kasılma yanıtları da çalışılmıştır. Kasiyumsuz Krebs ortamında fenilefrin ile oluşan kasılma temel olarak intrasellüler depolardan Ca^{+2} salınımı ile oluşurken, KCl ile indüklenen kasılma yanıtı ekstrasellüler alandan Ca^{+2} 'nin damar düz kas hücresinin içine girmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (Lopez-Candales ve ark., 1997). Çalışmamızda Ca^{+2} 'suz krebs varlığında oluşan fenilefrin ile indüklenen kasılma yanıtlarının nesfatin-1 inkübasyonu ile anlamlı olarak değişmediği bulunmuştur. Bu sonuç, nesfatin-1'in izole aort dokusunda intrasellüler depolardan Ca^{+2} salınımını etkilemediğini göstermektedir. Diğer yandan 10-80 mM KCl ile oluşan kasılma yanıtlarına nesfatin-1 inkübasyonunu etkisi de değerlendirilmiş ve nesfatin-1'in KCl ile indüklenen kasılma yanıtlarını da etkilemediği saptanmıştır. Ayrıca, Ca^{+2} 'suz 80 mM KCl ile indüklenen dokularda ortama Ca^{+2} 0.5-2.5 mM konsantrasyon aralığında eklenerek kalsiyum kanalları aracılı ekstrasellüler alandan hücre içine kalsiyum girişi sonucu oluşan kasılma yanıtları da nesfatin-1 varlığında ve yokluğunda değerlendirilmiştir. Hem KCl ile indüklenen kasılma yanıtlarında hem de Ca^{+2} ile oluşan kasılma yanıtlarında nesfatin-1 ile değişiklik gözlenmemesi, nesfatin-1'in ekstrasellüler alandan damar düz kas hücresine Ca^{+2} girişini anlamlı olarak etkilemediğini göstermektedir. Tüm bu sonuçlar birlikte ele alındığında, nesfatin-1'in izole aort dokusunda Ca^{+2} hemodinamiklerini anlamlı olarak değiştirmedığı ileri sürülebilir.

Her ne kadar damar tonusunu düzenlenmesinde NO/solubl guanilat siklaz/sGMP yolağı temel odaklanılan yolak olsa da, damar düz kas gevşemesinde rol oynayan diğer önemli bir mekanizma damar düz kasında adenilat siklaz, sAMP, protein kinaz A ve myozin-hafif zincir kinaz aktivasyonudur (Lamping, 2001). 3',5'-siklik adenozin monofosfat (sAMP) damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir ikinci haberci moleküldür. sAMP'in direkt, endotelden bağımsız gevşetici etkisini açıklamada çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar; sitoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonunun ($[Ca^{+2}]_c$) azalması, kontraktıl filamentelerin $[Ca^{+2}]_a$ duyarlılığının azalması veya bazı K^+ kanal tiplerinin aktivasyonu olabilir (Akata, 2007; Bruce ve ark., 2003; Morgado ve ark., 2012).

sGMP ve sAMP, reseptörlerinin uyarılması sonrası damar gevşemesine neden olan birbirinden bağımsız iki önemli ikinci habercidir (Lincoln, 1989; Murray, 1990). sAMP ve sGMP aracılı sinyal ileti sistemleri arasında etkileşim olduğu bilinmektedir (Vigne ve ark., 1994). "Yin-yang" hipotezine uygun olarak, sGMP sAMP'nin etkilerini dengelemektedir (Goldberg ve ark., 1975). Bununla birlikte, sGMP ve sAMP de artışa neden olan vazodilatörler damar gevşemesinde sinerjistik olarak etkileşim göstermektedir (de Wit ve ark., 1994; Grace ve ark., 1988; Maurice ve ark., 1991). sAMP miktarının artması hem sAMP hem de sGMP-bağımlı protein kinazları aktive ederek vazorelaksasyona neden olmaktadır (Jiang ve ark., 1992; Lincoln ve ark., 1990) sAMP artışı sonucu oluşan damar düz kas gevşemesi sGMP ile potansiyelize edilmektedir (Delpy ve ark., 1996). Wright ve ark. (Wright ve ark., 1994) sAMP/sGMP etkileşiminin PDE düzeyinde ortaya çıktığını ileri sürmüşlerdir. Gerçekten de sGMP ile inhibe edilen PDE (PDE 3)'ün sıçan aort düz kas hücrelerinde bulunduğu (Rose ve ark., 1997), ve selektif PDE3 inhibitörlerinin sAMP düzeylerini arttırarak isoproterenol ile indüklenen gevşeme yanıtını güçlendirdiği bildirilmiştir (Delpy ve ark., 1996; Eckly ve Lugnier, 1994). Bu nedenle, nesfatin-1 sGMP düzeylerini arttırarak damar düz kas gevşemesine neden olabileceği gibi, sGMP ile inhibe edilen PDE üzerinden sAMP düzeylerini arttırarak da gevşetici etkiye katkı sağlıyor olabilir.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada sıçan kalp dokusunda da NUCB2/nesfatin-1 eksprese edildiği bildirilmiştir (Angelone ve ark., 2013). İlk olarak, NUCB2 mRNA'sının fare, insan ve sıçan kalbinde hem atrial hem de ventriküler kardiyomyositlerde eksprese edildiği gösterilmiştir (Feijoo-Bandin ve ark., 2013). İlginç olarak, her ne kadar fare ve sıçanlarda NUCB2 mRNA ekspresyonu mide ile karşılaştırıldığında (periferik nesfatin-1 in temel kaynağı) (Stengel ve ark., 2009b) kalp dokusunda düşük bulunsun da, insanlarda kalp ve mide dokusunda benzer ekspresyon gösterdiği bulunmuştur (Feijoo-Bandin ve ark., 2013) Bu ekspresyon protein düzeyinde de doğrulanmıştır. Bu sonuçlar, kalp kaynaklı, NUCB2/nesfatin-1'in insanlardaki önemli rolüne işaret etmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda nesfatin-1'in izole aort dokusu reaktivitesi üzerine etkisi yanı sıra, izole sağ atrium preparatlarının inotropi ve kronotropi yanıtları üzerine direkt etkisi de değerlendirilmiştir. Bu çalışma, izole sıçan sağ atriumunda nesfatin-1'in

konsantrasyon bağımlı fonksiyonel etkisini ortaya koyan literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda, sıçan izole sağ atrium preparatlarına 0.1-100 ng/ml konsantrasyon aralığında nesfatin-1 giderek artan konsantrasyonlarda uygulanmış ve nesfatin-1 uygulamasının 10 ve 100 ng/ml dozlarda sağ atrium inotropisini anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Benzer konsantrasyonlarda, nesfatin-1 sağ atrium kronotropisini de anlamlı olarak artırmaktadır. Bu sonuçlar nesfatin-1'in sağ atrium preparatı üzerine (+) inotrop ve (+) kronotrop etki yaptığını göstermektedir.

Daha önceki bir çalışmada, sildenafil'in kalp dokusunda kontraksiyonları konsantrasyona bağımlı olarak arttırdığı ve bu etkisinin solubl guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi varlığında bloke edildiği bildirilmiştir (Kano ve Deshpande, 2009). Bu nedenle, kalp kasılma gücünün sildenafil aracılı güçlenmesinin sGMP düzeyleriyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda sGMP PDE3 enzimini inhibe ederek sAMP yıkımı önlemekte ve kalp dokusunda birikimine neden olmaktadır (Kojda ve ark., 1996; Kojda, 2001; Rastaldo ve ark., 2007). Ayrıca, düşük konsantrasyonlarda NO'nin de, sGMP den bağımsız olarak, adenilat siklazı aktive ettiği ve sAMP düzeylerini arttırdığı da bilinmektedir (Rastaldo ve ark., 2007). Dahası, düşük konsantrasyonlarda sGMP'nin beta-adrenoreseptörle ilişkili G proteinin alfa altünitesini aktive ettiği de bildirilmiştir (Langer ve ark., 2003). Kalp dokusunda beta-adrenerjik reseptörler adenilat siklaz aktivitesini ve sAMP üretimini arttırarak pozitif inotropiye neden olmaktadır. Tüm bu mekanizmalar nesfatin-1 ile indüklenerek kalpte sAMP düzeylerini arttırıyor ve pozitif inotrop pozitif kronotrop etkiye aracılık ediyor olabilir. sAMP kalp dokusunda protein kinaz A aktivasyonu sonucu L-tipi Ca^{+2} kanallarını aktive ederek, sarkoplazmik Ca^{+2} düzeylerini arttırabilir ve kontraktilite de artışa neden olabilir. Diğer bir çalışmada da NO'nin guanilat siklaz/sGMP aracılı bir mekanizmayla hiperpolarizasyonla aktive olan "pacemaker" akımlarını (If) uyararak pozitif kronotrop etki gösterdiği bildirilmiştir (Hogan ve ark., 1999a; Hogan ve ark., 1999b; Musialek ve ark., 1997; Musialek ve ark., 2000). Sonuç olarak, spontan atan sağ atrium dokusunda nesfatin-1 in atrial kontraksiyon ve hız üzerine pozitif inotrop pozitif kronotrop etkisi NO/guanilat siklaz aracılı sGMP üretimi sonucu ortaya çıkıyor olabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışmada literatürde ilk defa olmak üzere nesfatin-1'in izole sıçan aort dokusu ve sağ atrium preparatındaki fonksiyonel etkileri birlikte değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, izole sıçan aort preparatında nesfatin-1'in kasılma yanıtlarını anlamlı olarak etkilemediğini ancak konsantrasyon bağımlı şekilde gevşeme yanıtları oluşturduğunu ve bu etkide NO/solubl guanilat siklaz/sGMP yolağının rolü olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, izole sağ atrium preparatlarında da nesfatin-1 pozitif inotrop ve pozitif kronotrop etki ortaya çıkarmaktadır. Tüm bu etkilerin detaylı mekanizmalarının araştırılması için ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Adya R, Tan BK, Pun A, Chen J, Randeve HS. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovasc Res.* 2008;78: 356-365.
- Ahn SG, Lim HS, Joe DY, Kang SJ, Choi BJ, Choi SY *et al.* Relationship of epicardial adipose tissue by echocardiography to coronary artery disease. *Heart.* 2008;94: e7.
- Akata T. Cellular and molecular mechanisms regulating vascular tone. Part 2: regulatory mechanisms modulating Ca²⁺ mobilization and/or myofilament Ca²⁺ sensitivity in vascular smooth muscle cells. *J Anesth.* 2007;21: 232-242.
- Angelone T, Filice E, Pasqua T, Amodio N, Galluccio M, Montesanti G *et al.* Nesfatin-1 as a novel cardiac peptide: identification, functional characterization, and protection against ischemia/reperfusion injury. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70: 495-509.
- Antoniades C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, Stefanadis C. Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease. *Obes Rev.* 2009;10: 269-279.
- Ardanaz N, Pagano PJ. Hydrogen peroxide as a paracrine vascular mediator: regulation and signaling leading to dysfunction. *Exp Biol Med (Maywood).* 2006;231: 237-251.
- Ari M, Ozturk OH, Bez Y, Oktar S, Erduran D. High plasma nesfatin-1 level in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011;35: 497-500.
- Asferg C, Mogelvang R, Flyvbjerg A, Frystyk J, Jensen JS, Marott JL *et al.* Interaction between leptin and leisure-time physical activity and development of hypertension. *Blood Press.* 2011;20: 362-369.
- Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A *et al.* The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res.* 2005;65: 73-82.
- Ayada C, Toru U, Korkut Y. Nesfatin-1 and its effects on different systems. *Hippokratia.* 2015a;19: 4-10.
- Ayada C, Turgut G, Turgut S. The effect of Nesfatin-1 on heart L-type Ca²⁺(+) channel α_1c subunit in rats subjected to chronic restraint stress. *Bratisl Lek Listy.* 2015b;116: 326-329.
- Ayada C, Turgut G, Turgut S, Guclu Z. The effect of chronic peripheral nesfatin-1 application on blood pressure in normal and chronic restraint stressed rats: related with circulating level of blood pressure regulators. *Gen Physiol Biophys.* 2015c;34: 81-88.

- Aydin S, Dag E, Ozkan Y, Erman F, Dagli AF, Kilic N *et al.* Nesfatin-1 and ghrelin levels in serum and saliva of epileptic patients: hormonal changes can have a major effect on seizure disorders. *Mol Cell Biochem.* 2009;328: 49-56.
- Barton M, Baretella O, Meyer MR. Obesity and risk of vascular disease: importance of endothelium-dependent vasoconstriction. *Br J Pharmacol.* 2012;165: 591-602.
- Basar O, Akbal E, Koklu S, Kocak E, Tuna Y, Ekiz F *et al.* A novel appetite peptide, nesfatin-1 in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72: 479-483.
- Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17: 4-12.
- Baudry N, Vicaud E. Role of nitric oxide in effects of tumor necrosis factor-alpha on microcirculation in rat. *J Appl Physiol* (1985). 1993;75: 2392-2399.
- Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK *et al.* Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology.* 2007;148: 5088-5094.
- Brasier AR, Li J, Wimbish KA. Tumor necrosis factor activates angiotensinogen gene expression by the Rel A transactivator. *Hypertension.* 1996;27: 1009-1017.
- Brian JE, Jr., Faraci FM. Tumor necrosis factor-alpha-induced dilatation of cerebral arterioles. *Stroke.* 1998;29: 509-515.
- Brown NK, Zhou Z, Zhang J, Zeng R, Wu J, Eitzman DT *et al.* Perivascular adipose tissue in vascular function and disease: a review of current research and animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34: 1621-1630.
- Bruce JJ, Straub SV, Yule DI. Crosstalk between cAMP and Ca²⁺ signaling in non-excitable cells. *Cell Calcium.* 2003;34: 431-444.
- Busse R, Fleming I. Vascular endothelium and blood flow. *Handb Exp Pharmacol.* 2006: 43-78.
- Cai H, Li Z, Dikalov S, Holland SM, Hwang J, Jo H *et al.* NAD(P)H oxidase-derived hydrogen peroxide mediates endothelial nitric oxide production in response to angiotensin II. *J Biol Chem.* 2002;277: 48311-48317.
- Calabro P, Yeh ET. Obesity, inflammation, and vascular disease: the role of the adipose tissue as an endocrine organ. *Subcell Biochem.* 2007;42: 63-91.
- Cao X, Liu XM, Zhou LH. Recent progress in research on the distribution and function of NUCB2/nesfatin-1 in peripheral tissues. *Endocr J.* 2013;60: 1021-1027.

Cao Y, Tao L, Yuan Y, Jiao X, Lau WB, Wang Y *et al.* Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;46: 413-419.

Charles CJ. Putative role for apelin in pressure/volume homeostasis and cardiovascular disease. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2007;5: 1-10.

Chen C, Jiang J, Lu JM, Chai H, Wang X, Lin PH *et al.* Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299: H193-201.

Cheng KK, Lam KS, Wang Y, Huang Y, Carling D, Wu D *et al.* Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. *Diabetes.* 2007;56: 1387-1394.

Cheranov SY, Jaggar JH. TNF-alpha dilates cerebral arteries via NAD(P)H oxidase-dependent Ca²⁺ spark activation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290: C964-971.

Chuang TY, Au LC, Wang LC, Ho LT, Yang DM, Juan CC. Potential effect of resistin on the ET-1-increased reactions of blood pressure in rats and Ca²⁺ signaling in vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol.* 2012;227: 1610-1618.

Chudek J, Wiecek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacol Rep.* 2006;58 Suppl: 81-88.

Chun HJ, Ali ZA, Kojima Y, Kundu RK, Sheikh AY, Agrawal R *et al.* Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2008;118: 3343-3354.

Cooper D, Stokes KY, Tailor A, Granger DN. Oxidative stress promotes blood cell-endothelial cell interactions in the microcirculation. *Cardiovasc Toxicol.* 2002;2: 165-180.

Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R *et al.* From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes.* 2004;53: 1285-1292.

Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Oie E, Dahl A, Michelsen A *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.

Dai H, Li X, He T, Wang Y, Wang Z, Wang S *et al.* Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with acute myocardial infarction. *Peptides.* 2013;46: 167-171.

Darvall KA, Sam RC, Silverman SH, Bradbury AW, Adam DJ. Obesity and thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33: 223-233.

de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J *et al.* Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007;56: 1655-1661.

de Wit C, von Bismarck P, Pohl U. Synergistic action of vasodilators that increase cGMP and cAMP in the hamster cremaster microcirculation. *Cardiovasc Res*. 1994;28: 1513-1518.

Dekker RJ, Boon RA, Rondaij MG, Kragt A, Volger OL, Elderkamp YW *et al.* KLF2 provokes a gene expression pattern that establishes functional quiescent differentiation of the endothelium. *Blood*. 2006;107: 4354-4363.

Delpy E, Coste H, Gouville AC. Effects of cyclic GMP elevation on isoprenaline-induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle: role of phosphodiesterase 3. *Br J Pharmacol*. 1996;119: 471-478.

Deng G, Long Y, Yu YR, Li MR. Adiponectin directly improves endothelial dysfunction in obese rats through the AMPK-eNOS Pathway. *Int J Obes (Lond)*. 2010;34: 165-171.

Deniz R, Gurates B, Aydin S, Celik H, Sahin I, Baykus Y *et al.* Nesfatin-1 and other hormone alterations in polycystic ovary syndrome. *Endocrine*. 2012;42: 694-699.

Dick GM, Katz PS, Farias M, 3rd, Morris M, James J, Knudson JD *et al.* Resistin impairs endothelium-dependent dilation to bradykinin, but not acetylcholine, in the coronary circulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291: H2997-3002.

Dorresteyn JA, Visseren FL, Spiering W. Mechanisms linking obesity to hypertension. *Obes Rev*. 2012;13: 17-26.

Dyer DC. Evidence for differences in alphaadrenergic receptor affinity in stress susceptible swine. *Experientia*. 1982;38: 1343-1344.

Eckly AE, Lugnier C. Role of phosphodiesterases III and IV in the modulation of vascular cyclic AMP content by the NO/cyclic GMP pathway. *Br J Pharmacol*. 1994;113: 445-450.

Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke J, Ailhaud G *et al.* The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? *Int J Biochem Cell Biol*. 2003;35: 807-825.

Eringa EC, Bakker W, Smulders YM, Serne EH, Yudkin JS, Stehouwer CD. Regulation of vascular function and insulin sensitivity by adipose tissue: focus on perivascular adipose tissue. *Microcirculation*. 2007;14: 389-402.

Eringa EC, Bakker W, van Hinsbergh VW. Paracrine regulation of vascular tone, inflammation and insulin sensitivity by perivascular adipose tissue. *Vascul Pharmacol*. 2012;56: 204-209.

Feijoo-Bandin S, Rodriguez-Penas D, Garcia-Rua V, Mosquera-Leal A, Otero MF, Pereira E *et al.* Nesfatin-1 in human and murine cardiomyocytes: synthesis, secretion, and mobilization of GLUT-4. *Endocrinology*. 2013;154: 4757-4767.

Fesus G, Dubrovskaja G, Gorzelniak K, Kluge R, Huang Y, Luft FC *et al.* Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc Res*. 2007;75: 719-727.

Fitzgibbons TP, Czech MP. Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinical associations. *J Am Heart Assoc*. 2014;3: e000582.

Foo KS, Brauner H, Ostenson CG, Broberger C. Nucleobindin-2/nesfatin in the endocrine pancreas: distribution and relationship to glycaemic state. *J Endocrinol*. 2010;204: 255-263.

Fortuno A, Rodriguez A, Gomez-Ambrosi J, Muniz P, Salvador J, Diez J *et al.* Leptin inhibits angiotensin II-induced intracellular calcium increase and vasoconstriction in the rat aorta. *Endocrinology*. 2002;143: 3555-3560.

Fruhbeck G. Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes*. 1999;48: 903-908.

Galvez-Prieto B, Bolbrinker J, Stocchi P, de Las Heras AI, Merino B, Arribas S *et al.* Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. *J Endocrinol*. 2008;197: 55-64.

Gao YJ, Hirota S, Zhang DW, Janssen LJ, Lee RM. Mechanisms of hydrogen-peroxide-induced biphasic response in rat mesenteric artery. *Br J Pharmacol*. 2003;138: 1085-1092.

Gao YJ, Zeng ZH, Teoh K, Sharma AM, Abouzahr L, Cybulsky I *et al.* Perivascular adipose tissue modulates vascular function in the human internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;130: 1130-1136.

Gao YJ, Takemori K, Su LY, An WS, Lu C, Sharma AM *et al.* Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. *Cardiovasc Res*. 2006;71: 363-373.

Gao YJ, Lu C, Su LY, Sharma AM, Lee RM. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol*. 2007;151: 323-331.

Garcia-Galiano D, Pineda R, Ilhan T, Castellano JM, Ruiz-Pino F, Sanchez-Garrido MA *et al.* Cellular distribution, regulated expression, and functional role of the anorexigenic peptide, NUCB2/nesfatin-1, in the testis. *Endocrinology*. 2012;153: 1959-1971.

Gentile MT, Vecchione C, Marino G, Aretini A, Di Pardo A, Antenucci G *et al.* Resistin impairs insulin-evoked vasodilation. *Diabetes*. 2008;57: 577-583.

Ghanbari-Niaki A, Kraemer RR, Soltani R. Plasma nesfatin-1 and glucoregulatory hormone responses to two different anaerobic exercise sessions. *Eur J Appl Physiol.* 2010;110: 863-868.

Gil-Longo J, Gonzalez-Vazquez C. Characterization of four different effects elicited by H₂O₂ in rat aorta. *Vascul Pharmacol.* 2005;43: 128-138.

Goebel M, Stengel A, Wang L, Lambrecht NW, Tache Y. Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci Lett.* 2009a;452: 241-246.

Goebel M, Stengel A, Wang L, Tache Y. Restraint stress activates nesfatin-1-immunoreactive brain nuclei in rats. *Brain Res.* 2009b;1300: 114-124.

Goebel-Stengel M, Wang L. Central and peripheral expression and distribution of NUCB2/nesfatin-1. *Curr Pharm Des.* 2013;19: 6935-6940.

Goldberg ND, Haddox MK, Nicol SE, Glass DB, Sanford CH, Kuehl FA, Jr. *et al.* Biologic regulation through opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP: the Yin Yang hypothesis. *Adv Cyclic Nucleotide Res.* 1975;5: 307-330.

Gonzalez R, Shepperd E, Thiruppugazh V, Lohan S, Grey CL, Chang JP *et al.* Nesfatin-1 regulates the hypothalamo-pituitary-ovarian axis of fish. *Biol Reprod.* 2012;87: 84.

Grace GC, Macdonald PS, Dusting GJ. Cyclic nucleotide interactions involved in endothelium-dependent dilatation in rat aortic rings. *Eur J Pharmacol.* 1988;148: 17-24.

Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M *et al.* Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. *Circulation.* 2009;119: 1661-1670.

Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 1986;320: 454-456.

Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17: 332-341.

Hall JE, da Silva AA, do Carmo JM, Dubinon J, Hamza S, Munusamy S *et al.* Obesity-induced hypertension: role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins. *J Biol Chem.* 2010;285: 17271-17276.

Handa P, Tateya S, Rizzo NO, Cheng AM, Morgan-Stevenson V, Han CY *et al.* Reduced vascular nitric oxide-cGMP signaling contributes to adipose tissue inflammation during high-fat feeding. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31: 2827-2835.

Hermenegildo C, Oviedo PJ, Garcia-Perez MA, Tarin JJ, Cano A. Effects of phytoestrogens genistein and daidzein on prostacyclin production by human endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;315: 722-728.

Hirata Y, Tabata M, Kurobe H, Motoki T, Akaike M, Nishio C *et al*. Coronary atherosclerosis is associated with macrophage polarization in epicardial adipose tissue. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58: 248-255.

Hogan N, Casadei B, Paterson DJ. Nitric oxide donors can increase heart rate independent of autonomic activation. *J Appl Physiol* (1985). 1999a;87: 97-103.

Hogan N, Kardos A, Paterson DJ, Casadei B. Effect of exogenous nitric oxide on baroreflex function in humans. *Am J Physiol*. 1999b;277: H221-227.

Hui X, Lam KS, Vanhoutte PM, Xu A. Adiponectin and cardiovascular health: an update. *Br J Pharmacol*. 2012;165: 574-590.

Iacobellis G, Pistilli D, Gucciardo M, Leonetti F, Miraldi F, Brancaccio G *et al*. Adiponectin expression in human epicardial adipose tissue in vivo is lower in patients with coronary artery disease. *Cytokine*. 2005;29: 251-255.

Japp AG, Cruden NL, Amer DA, Li VK, Goudie EB, Johnston NR *et al*. Vascular effects of apelin in vivo in man. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52: 908-913.

Japp AG, Newby DE. The apelin-APJ system in heart failure: pathophysiologic relevance and therapeutic potential. *Biochem Pharmacol*. 2008;75: 1882-1892.

Jiang H, Colbran JL, Francis SH, Corbin JD. Direct evidence for cross-activation of cGMP-dependent protein kinase by cAMP in pig coronary arteries. *J Biol Chem*. 1992;267: 1015-1019.

Juan CC, Chuang TY, Lien CC, Lin YJ, Huang SW, Kwok CF *et al*. Leptin increases endothelin type A receptor levels in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;294: E481-487.

Kagiyama S, Fukuhara M, Matsumura K, Lin Y, Fujii K, Iida M. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul Pept*. 2005;125: 55-59.

Kanoo S, Deshpande SB. Sildenafil increases the force of right atrial contractions in vitro via the NO-guanylyl cyclase pathway involving beta-adrenoceptor linked mechanisms. *Pharmacol Rep*. 2009;61: 1146-1152.

Karaki H, Sato K, Ozaki H, Murakami K. Effects of sodium nitroprusside on cytosolic calcium level in vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol*. 1988;156: 259-266.

Karastergiou K, Evans I, Ogston N, Miheisi N, Nair D, Kaski JC *et al.* Epicardial adipokines in obesity and coronary artery disease induce atherogenic changes in monocytes and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30: 1340-1346.

Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol.* 2001;132: 1255-1260.

Kaya M, Yeniterzi M, Yazici P, Diker M, Celik O, Erturk M *et al.* Epicardial adipose tissue is associated with extensive coronary artery lesions in patients undergoing coronary artery bypass grafting: an observational study. *Maedica (Buchar).* 2014;9: 135-143.

Ketonen J, Shi J, Martonen E, Mervaala E. Periadventitial adipose tissue promotes endothelial dysfunction via oxidative stress in diet-induced obese C57Bl/6 mice. *Circ J.* 2010;74: 1479-1487.

Khalil RA, van Breemen C (1995). Mechanisms of calcium mobilization and homeostasis in vascular smooth muscle and their relevance to hypertension. In: Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. JH Laragh and BM Brenner editors. New York (NY): Raven, pp. 523-540.

Kim SH, Chung JH, Kwon BJ, Song SW, Choi WS. The associations of epicardial adipose tissue with coronary artery disease and coronary atherosclerosis. *Int Heart J.* 2014;55: 197-203.

Kimura K, Tsuda K, Baba A, Kawabe T, Boh-oka S, Ibata M *et al.* Involvement of nitric oxide in endothelium-dependent arterial relaxation by leptin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;273: 745-749.

Klein D, Weisshardt P, Kleff V, Jastrow H, Jakob HG, Ergun S. Vascular wall-resident CD44⁺ multipotent stem cells give rise to pericytes and smooth muscle cells and contribute to new vessel maturation. *PLoS One.* 2011;6: e20540.

Kleinz MJ, Skepper JN, Davenport AP. Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regul Pept.* 2005;126: 233-240.

Kojda G, Kottenberg K, Nix P, Schluter KD, Piper HM, Noack E. Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circ Res.* 1996;78: 91-101.

Kojda G. Mechanisms of inotropic effects induced by nitric oxide. *Ital Heart J.* 2001;2 Suppl 3: 48S-49S.

Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295: H1514-1521.

Lamping K. Interactions between NO and cAMP in the regulation of vascular tone. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21: 729-730.

Langenberg C, Bergstrom J, Scheidt-Nave C, Pfeilschifter J, Barrett-Connor E. Cardiovascular death and the metabolic syndrome: role of adiposity-signaling hormones and inflammatory markers. *Diabetes Care.* 2006;29: 1363-1369.

Langer M, Luttecke D, Schluter KD. Mechanism of the positive contractile effect of nitric oxide on rat ventricular cardiomyocytes with positive force/frequency relationship. *Pflugers Arch.* 2003;447: 289-297.

Langheim S, Dreas L, Veschini L, Maisano F, Foglieni C, Ferrarello S *et al.* Increased expression and secretion of resistin in epicardial adipose tissue of patients with acute coronary syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;298: H746-753.

Lee DL, Sturgis LC, Labazi H, Osborne JB, Jr., Fleming C, Pollock JS *et al.* Angiotensin II hypertension is attenuated in interleukin-6 knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290: H935-940.

Lembo G, Vecchione C, Fratta L, Marino G, Trimarco V, d'Amati G *et al.* Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes.* 2000;49: 293-297.

Leoni G, Patel HB, Sampaio AL, Gavins FN, Murray JF, Grieco P *et al.* Inflamed phenotype of the mesenteric microcirculation of melanocortin type 3 receptor-null mice after ischemia-reperfusion. *FASEB J.* 2008;22: 4228-4238.

Leung YM, Kwan CY. Dual vascular effects of leptin via endothelium: hypothesis and perspective. *Chin J Physiol.* 2008;51: 1-6.

Li JB, Nishida M, Kaimoto K, Asakawa A, Chaolu H, Cheng KC *et al.* Effects of aging on the plasma levels of nesfatin-1 and adiponectin. *Biomed Rep.* 2014;2: 152-156.

Li QC, Wang HY, Chen X, Guan HZ, Jiang ZY. Fasting plasma levels of nesfatin-1 in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and the nutrient-related fluctuation of nesfatin-1 level in normal humans. *Regul Pept.* 2010;159: 72-77.

Li R, Andersen I, Aleke J, Golubinskaya V, Gustafsson H, Nilsson H. Reduced anti-contractile effect of perivascular adipose tissue on mesenteric small arteries from spontaneously hypertensive rats: role of Kv7 channels. *Eur J Pharmacol.* 2013;698: 310-315.

Lincoln TM. Cyclic GMP and mechanisms of vasodilation. *Pharmacol Ther.* 1989;41: 479-502.

Lincoln TM, Cornwell TL, Taylor AE. cGMP-dependent protein kinase mediates the reduction of Ca²⁺ by cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 1990;258: C399-407.

Liu F, Yang Q, Gao N, Liu F, Chen S. Decreased plasma nesfatin-1 level is related to the thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res.* 2014;2014: 128014.

Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ *et al.* Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J.* 1998;12: 57-65.

Lohn M, Dubrovskaja G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J.* 2002;16: 1057-1063.

Lopez-Candales A, Holmes DR, Liao S, Scott MJ, Wickline SA, Thompson RW. Decreased vascular smooth muscle cell density in medial degeneration of human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol.* 1997;150: 993-1007.

Lu C, Su LY, Lee RM, Gao YJ. Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte-derived angiotensin II. *Eur J Pharmacol.* 2010;634: 107-112.

Lu C, Zhao AX, Gao YJ, Lee RM. Modulation of vein function by perivascular adipose tissue. *Eur J Pharmacol.* 2011;657: 111-116.

Lu H, Boustany-Kari CM, Daugherty A, Cassis LA. Angiotensin II increases adipose angiotensinogen expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292: E1280-1287.

Lucchesi PA, Belmadani S, Matrougui K. Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. *J Hypertens.* 2005;23: 571-579.

Lynch FM, Withers SB, Yao Z, Werner ME, Edwards G, Weston AH *et al.* Perivascular adipose tissue-derived adiponectin activates BK(Ca) channels to induce anticontractile responses. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;304: H786-795.

Maenhaut N, Boydens C, Van de Voorde J. Hypoxia enhances the relaxing influence of perivascular adipose tissue in isolated mice aorta. *Eur J Pharmacol.* 2010;641: 207-212.

Mahabadi AA, Reinsch N, Lehmann N, Altenbernd J, Kalsch H, Seibel RM *et al.* Association of pericoronary fat volume with atherosclerotic plaque burden in the underlying coronary artery: a segment analysis. *Atherosclerosis.* 2010;211: 195-199.

Makowski L, Hotamisligil GS. Fatty acid binding proteins--the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. *J Nutr.* 2004;134: 2464S-2468S.

Mallamaci F, Zoccali C, Cuzzola F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S *et al.* Adiponectin in essential hypertension. *J Nephrol.* 2002;15: 507-511.

Margaritis M, Antonopoulos AS, Digby J, Lee R, Reilly S, Coutinho P *et al.* Interactions between vascular wall and perivascular adipose tissue reveal novel roles for adiponectin in the regulation of endothelial nitric oxide synthase function in human vessels. *Circulation.* 2013;127: 2209-2221.

Mark AL, Shaffer RA, Correia ML, Morgan DA, Sigmund CD, Haynes WG. Contrasting blood pressure effects of obesity in leptin-deficient ob/ob mice and agouti yellow obese mice. *J Hypertens.* 1999;17: 1949-1953.

Marvar PJ, Hammer LW, Boegehold MA. Hydrogen peroxide-dependent arteriolar dilation in contracting muscle of rats fed normal and high salt diets. *Microcirculation.* 2007;14: 779-791.

Maurice DH, Crankshaw D, Haslam RJ. Synergistic actions of nitrovasodilators and isoprenaline on rat aortic smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1991;192: 235-242.

Meijer RI, Serne EH, Smulders YM, van Hinsbergh VW, Yudkin JS, Eringa EC. Perivascular adipose tissue and its role in type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Curr Diab Rep.* 2011;11: 211-217.

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

Mimee A, Smith PM, Ferguson AV. Nesfatin-1 influences the excitability of neurons in the nucleus of the solitary tract and regulates cardiovascular function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;302: R1297-1304.

Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Castro A, Sabater M, Ricart W, Fernandez-Real JM. Circulating omentin as a novel biomarker of endothelial dysfunction. *Obesity (Silver Spring).* 2011;19: 1552-1559.

Morgado M, Cairrao E, Santos-Silva AJ, Verde I. Cyclic nucleotide-dependent relaxation pathways in vascular smooth muscle. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69: 247-266.

Munzel T, Feil R, Mulsch A, Lohmann SM, Hofmann F, Walter U. Physiology and pathophysiology of vascular signaling controlled by guanosine 3',5'-cyclic monophosphate-dependent protein kinase [corrected]. *Circulation.* 2003;108: 2172-2183.

Murray KJ. Cyclic AMP and mechanisms of vasodilation. *Pharmacol Ther.* 1990;47: 329-345.

Musialek P, Lei M, Brown HF, Paterson DJ, Casadei B. Nitric oxide can increase heart rate by stimulating the hyperpolarization-activated inward current, I(f). *Circ Res.* 1997;81: 60-68.

Musialek P, Nash M, Thornton J, Casadei B, Paterson DJ. The nitric oxide donor sodium nitroprusside increases heart rate in the absence of changes in arterial blood pressure when applied topically to the sino-atrial node in the anaesthetised pig. *J Physiol-London*. 2000;523: 267p-268p.

Nakata M, Manaka K, Yamamoto S, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca(2+) influx through L-type channels in mouse islet beta-cells. *Endocr J*. 2011;58: 305-313.

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.

Northcott JM, Yeganeh A, Taylor CG, Zahradka P, Wigle JT. Adipokines and the cardiovascular system: mechanisms mediating health and disease. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90: 1029-1059.

Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Nakahara T, Ushikai M, Haruta I *et al*. Plasma nesfatin-1 concentrations in restricting-type anorexia nervosa. *Peptides*. 2011;32: 150-153.

Oh IS, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K *et al*. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*. 2006;443: 709-712.

Ohkawa F, Ikeda U, Kawasaki K, Kusano E, Igarashi M, Shimada K. Inhibitory effect of interleukin-6 on vascular smooth muscle contraction. *Am J Physiol*. 1994;266: H898-902.

Okui H, Hamasaki S, Ishida S, Kataoka T, Orihara K, Fukudome T *et al*. Adiponectin is a better predictor of endothelial function of the coronary artery than HOMA-R, body mass index, immunoreactive insulin, or triglycerides. *Int J Cardiol*. 2008;126: 53-61.

Oriowo MA. Perivascular adipose tissue, vascular reactivity and hypertension. *Med Princ Pract*. 2015;24 Suppl 1: 29-37.

Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nagaretani H *et al*. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*. 2003;42: 231-234.

Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11: 85-97.

Ozen G, Daci A, Norel X, Topal G. Human perivascular adipose tissue dysfunction as a cause of vascular disease: Focus on vascular tone and wall remodeling. *Eur J Pharmacol*. 2015;766: 16-24.

Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R *et al.* Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91: 3165-3170.

Palasz A, Krzystanek M, Worthington J, Czajkowska B, Kostro K, Wiaderkiewicz R *et al.* Nesfatin-1, a unique regulatory neuropeptide of the brain. *Neuropeptides.* 2012;46: 105-112.

Pan W, Hsueh H, Kastin AJ. Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides.* 2007;28: 2223-2228.

Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2007;7: 803-815.

Prieur X, Mok CY, Velagapudi VR, Nunez V, Fuentes L, Montaner D *et al.* Differential lipid partitioning between adipocytes and tissue macrophages modulates macrophage lipotoxicity and M2/M1 polarization in obese mice. *Diabetes.* 2011;60: 797-809.

Quehenberger P, Exner M, Sunder-Plassmann R, Ruzicka K, Bieglmayer C, Endler G *et al.* Leptin induces endothelin-1 in endothelial cells in vitro. *Circ Res.* 2002;90: 711-718.

Rajsheker S, Manka D, Blomkalns AL, Chatterjee TK, Stoll LL, Weintraub NL. Crosstalk between perivascular adipose tissue and blood vessels. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10: 191-196.

Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, Tripathi G, Hallschmid M, Patel S *et al.* Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology.* 2010;151: 3169-3180.

Rastaldo R, Pagliaro P, Cappello S, Penna C, Mancardi D, Westerhof N *et al.* Nitric oxide and cardiac function. *Life Sci.* 2007;81: 779-793.

Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation.* 2005;111: 932-939.

Riva M, Nitert MD, Voss U, Sathanoori R, Lindqvist A, Ling C *et al.* Nesfatin-1 stimulates glucagon and insulin secretion and beta cell NUCB2 is reduced in human type 2 diabetic subjects. *Cell Tissue Res.* 2011;346: 393-405.

Rose RJ, Liu H, Palmer D, Maurice DH. Cyclic AMP-mediated regulation of vascular smooth muscle cell cyclic AMP phosphodiesterase activity. *Br J Pharmacol.* 1997;122: 233-240.

Salcedo A, Garijo J, Monge L, Fernandez N, Luis Garcia-Villalon A, Sanchez Turrion V *et al.* Apelin effects in human splanchnic arteries. Role of nitric oxide and prostanoids. *Regul Pept.* 2007;144: 50-55.

Schrader LI, Kinzenbaw DA, Johnson AW, Faraci FM, Didion SP. IL-6 deficiency protects against angiotensin II induced endothelial dysfunction and hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27: 2576-2581.

Shankar A, Xiao J. Positive relationship between plasma leptin level and hypertension. *Hypertension.* 2010;56: 623-628.

Shargorodsky M, Boaz M, Goldberg Y, Matas Z, Gavish D, Fux A *et al.* Adiponectin and vascular properties in obese patients: is it a novel biomarker of early atherosclerosis? *Int J Obes (Lond).* 2009;33: 553-558.

Shen W, Tian C, Chen H, Yang Y, Zhu D, Gao P *et al.* Oxidative stress mediates chemerin-induced autophagy in endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2013;55: 73-82.

Shibata M, Parfenova H, Zuckerman SL, Leffler CW. Tumor necrosis factor- α induces pial arteriolar dilation in newborn pigs. *Brain Res Bull.* 1996;39: 241-247.

Shimizu H, Inoue K, Mori M. The leptin-dependent and -independent melanocortin signaling system: regulation of feeding and energy expenditure. *J Endocrinol.* 2007;193: 1-9.

Shimizu H, Oh IS, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N *et al.* Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology.* 2009a;150: 662-671.

Shimizu H, Oh IS, Okada S, Mori M. Nesfatin-1: an overview and future clinical application. *Endocr J.* 2009b;56: 537-543.

Silaghi A, Achard V, Paulmyer-Lacroix O, Scridon T, Tassistro V, Duncea I *et al.* Expression of adrenomedullin in human epicardial adipose tissue: role of coronary status. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293: E1443-1450.

Soltis EE, Cassis LA. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clin Exp Hypertens A.* 1991;13: 277-296.

Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Monnikes H *et al.* Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology.* 2009a;150: 4911-4919.

Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T *et al.* Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology.* 2009b;150: 232-238.

Stengel A, Tache Y. Nesfatin-1--role as possible new potent regulator of food intake. *Regul Pept.* 2010;163: 18-23.

Stengel A, Tache Y. Role of brain NUCB2/nesfatin-1 in the regulation of food intake. *Curr Pharm Des.* 2013;19: 6955-6959.

Su Y, Zhang J, Tang Y, Bi F, Liu JN. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391: 1039-1042.

Szasz T, Webb RC. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. *Clin Sci (Lond).* 2012;122: 1-12.

Tagaya Y, Miura A, Okada S, Ohshima K, Mori M. Nucleobindin-2 is a positive modulator of EGF-dependent signals leading to enhancement of cell growth and suppression of adipocyte differentiation. *Endocrinology.* 2012;153: 3308-3319.

Takemori K, Gao YJ, Ding L, Lu C, Su LY, An WS *et al.* Elevated blood pressure in transgenic lipoatrophic mice and altered vascular function. *Hypertension.* 2007;49: 365-372.

Tan BK, Adya R, Randeve HS. Omentin: a novel link between inflammation, diabetes, and cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2010;20: 143-148.

Tan KC, Xu A, Chow WS, Lam MC, Ai VH, Tam SC *et al.* Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89: 765-769.

Tanida M, Mori M. Nesfatin-1 stimulates renal sympathetic nerve activity in rats. *Neuroreport.* 2011;22: 309-312.

Temiz A, Gokmen F, Gazi E, Akbal A, Barutcu A, Bekler A *et al.* Epicardial adipose tissue thickness, flow-mediated dilatation of the brachial artery, and carotid intima-media thickness: Associations in rheumatoid arthritis patients. *Herz.* 2015;40 Suppl 3: 217-224.

Terata K, Miura H, Liu Y, Loberiza F, Gutterman DD. Human coronary arteriolar dilation to adrenomedullin: role of nitric oxide and K(+) channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;279: H2620-2626.

Thalmann S, Meier CA. Local adipose tissue depots as cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res.* 2007;75: 690-701.

Thatcher S, Yiannikouris F, Gupte M, Cassis L. The adipose renin-angiotensin system: role in cardiovascular disease. *Mol Cell Endocrinol.* 2009;302: 111-117.

Thengchaisri N, Kuo L. Hydrogen peroxide induces endothelium-dependent and -independent coronary arteriolar dilation: role of cyclooxygenase and potassium channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285: H2255-2263.

Tsuchiya T, Shimizu H, Yamada M, Osaki A, Oh IS, Ariyama Y *et al.* Fasting concentrations of nesfatin-1 are negatively correlated with body mass index in non-obese males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;73: 484-490.

Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K, Chen D, Witzenbichler B, Kearney M *et al.* Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med.* 1997;3: 879-886.

Van de Voorde J, Pauwels B, Boydens C, Decaluwe K. Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. *Metabolism.* 2013;62: 1513-1521.

Vecchione C, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G *et al.* Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes.* 2002;51: 168-173.

Verdecchia P, Angeli F, Mazzotta G, Gentile G, Reboldi G. The renin angiotensin system in the development of cardiovascular disease: role of aliskiren in risk reduction. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4: 971-981.

Verlohren S, Dubrovskaja G, Tsang SY, Essin K, Luft FC, Huang Y *et al.* Visceral periaortic adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. *Hypertension.* 2004;44: 271-276.

Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD *et al.* Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation.* 2003;108: 736-740.

Vigne P, Lund L, Frelin C. Cross talk among cyclic AMP, cyclic GMP, and Ca(2+)-dependent intracellular signalling mechanisms in brain capillary endothelial cells. *J Neurochem.* 1994;62: 2269-2274.

Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN *et al.* Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25: 2054-2061.

Williams P, Tulke S, Ilegems E, Berggren PO, Broberger C. Expression of nucleobindin 1 (NUCB1) in pancreatic islets and other endocrine tissues. *Cell Tissue Res.* 2014;358: 331-342.

Wojcicka G, Jamroz-Wisniewska A, Atanasova P, Chaldakov GN, Chylinska-Kula B, Beltowski J. Differential effects of statins on endogenous H₂S formation in perivascular adipose tissue. *Pharmacol Res.* 2011;63: 68-76.

Wort SJ, Ito M, Chou PC, Mc Master SK, Badiger R, Jazrawi E *et al.* Synergistic induction of endothelin-1 by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma is due to enhanced NF-kappaB binding and histone acetylation at specific kappaB sites. *J Biol Chem.* 2009;284: 24297-24305.

Wright IK, Amirchetty-Rao S, Kendall DA. Potentiation by forskolin of both SNP- and ANP-stimulated cyclic GMP accumulation in porcine isolated palmar lateral vein. *Br J Pharmacol.* 1994;112: 1146-1150.

Xi W, Satoh H, Kase H, Suzuki K, Hattori Y. Stimulated HSP90 binding to eNOS and activation of the PI3-Akt pathway contribute to globular adiponectin-induced NO production: vasorelaxation in response to globular adiponectin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;332: 200-205.

Yamada M, Horiguchi K, Umezawa R, Hashimoto K, Satoh T, Ozawa A *et al.* Troglitazone, a ligand of peroxisome proliferator-activated receptor- γ , stabilizes NUCB2 (Nesfatin) mRNA by activating the ERK1/2 pathway: isolation and characterization of the human NUCB2 gene. *Endocrinology.* 2010;151: 2494-2503.

Yamawaki H, Hara N, Okada M, Hara Y. Visfatin causes endothelium-dependent relaxation in isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;383: 503-508.

Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;393: 668-672.

Yamawaki H. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biol Pharm Bull.* 2011a;34: 307-310.

Yamawaki H. Mechanisms of action of novel adipocytokines on the vascular system. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 2011b;137: 131-135.

Yamawaki H, Takahashi M, Mukohda M, Morita T, Okada M, Hara Y. A novel adipocytokine, nesfatin-1 modulates peripheral arterial contractility and blood pressure in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;418: 676-681.

Yang M, Zhang Z, Wang C, Li K, Li S, Boden G *et al.* Nesfatin-1 action in the brain increases insulin sensitivity through Akt/AMPK/TORC2 pathway in diet-induced insulin resistance. *Diabetes.* 2012;61: 1959-1968.

Yiannikouris F, Gupte M, Putnam K, Cassis L. Adipokines and blood pressure control. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19: 195-200.

Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H *et al.* A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2014;307: R225-236.

Yosten GL, Samson WK. Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009;297: R330-336.

Yosten GL, Samson WK. The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;298: R1642-1647.

Yosten GL, Samson WK. Neural circuitry underlying the central hypertensive action of nesfatin-1: melanocortins, corticotropin-releasing hormone, and oxytocin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014;306: R722-727.

Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD. "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet*. 2005;365: 1817-1820.

Zeng ZH, Zhang ZH, Luo BH, He WK, Liang LY, He CC *et al*. The functional changes of the perivascular adipose tissue in spontaneously hypertensive rats and the effects of atorvastatin therapy. *Clin Exp Hypertens*. 2009;31: 355-363.

Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD *et al*. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol*. 2010a;16: 1735-1741.

Zhang C, Hein TW, Wang W, Kuo L. Divergent roles of angiotensin II AT1 and AT2 receptors in modulating coronary microvascular function. *Circ Res*. 2003;92: 322-329.

Zhang C, Wang Y, Wang Y, Li J, Liu R, Liu H. Decreased levels of serum nesfatin-1 in patients with preeclampsia. *Biomarkers*. 2014;19: 402-406.

Zhang DX, Yi FX, Zou AP, Li PL. Role of ceramide in TNF- α -induced impairment of endothelium-dependent vasorelaxation in coronary arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283: H1785-1794.

Zhang H, Park Y, Wu J, Chen X, Lee S, Yang J *et al*. Role of TNF- α in vascular dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116: 219-230.

Zhang L, Curhan GC, Forman JP. Plasma resistin levels associate with risk for hypertension among nondiabetic women. *J Am Soc Nephrol*. 2010b;21: 1185-1191.

Zhang Z, Li L, Yang M, Liu H, Boden G, Yang G. Increased plasma levels of nesfatin-1 in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012;120: 91-95.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ayşe	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Barutcigil	Tel no	05452012553
Doğum tarihi	29.10.1984	e-posta	abarutcigil@akdeniz.edu.tr

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Erzurum Fen Lisesi	2000-2003
Lisans	Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2003-2007
Yüksek Lisans		
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Şube Müdürü	Elazığ İl Sağlık Müdürlüğü	2007-2008
Mesul Müdür	Çağlayan Eczanesi/Erzurum	2008-2011
Eczacı	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi	2011-2011
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	2013-Halen

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YDS 2015	71,25

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
TYL-2014-119	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi	2014-2016