

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İZOLE İNSAN UMBİLİKAL ARTERİNDE HİDROJEN  
PEROKSİDE BAĞLI KASILMA CEVAPLARI ÜZERİNE  
LEPTİNİN ETKİSİ**

Emine DAĞTEKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

KONYA 2017

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İZOLE İNSAN UMBİLİKAL ARTERİNDE HİDROJEN  
PEROKSİDE BAĞLI KASILMA CEVAPLARI ÜZERİNE  
LEPTİNİN ETKİSİ**

Emine DAĞTEKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

KONYA 2017

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Emine DAĞTEKİN'** in “**İZOLE İNSAN UMBİLİKAL ARTERİNDE HİDROJEN PEROKSİDE BAĞLI KASILMA CEVAPLARI ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA, 18/08/2017

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Hülagü BARIŞKANER

S.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Salim Yalçın İNAN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 4.09/17 tarih ve ..18../10... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**EFFECTS OF LEPTİN ON HYDROGEN PEROXİDE-INDUCED CONTRACTIONS IN ISOLATED HUMAN UMBİLICAL ARTERY**” by “**Emine DAĞTEKİN**” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Master of Science** in department of “**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

KONYA 18/08/2017

Principal Advisor

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.

Examination Committee Member

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Examination Committee Member

Prof. Dr. Hülagü BARIŞKANER

S.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Examination Committee Member

Yrd. Doç. Dr. Salim Yalçın İNAN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

## BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Emine DAĞTEKİN

[Ödevler](#)  
[Öğrenciler](#)  
[Not Defteri](#)  
[Kütüphaneler](#)  
[Takvim](#)  
[Tartışma](#)  
[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev gelen kutunuzdur. Bir ödevi görüntülemek için, ödev başlığına tıklayın. Orijinallik Raporu'nu görmek için, benzerlik kolonundaki orijinallik raporu ikonuna tıklayın. Bu ikon tıklanabilir durumda değilse, orijinallik raporu henüz oluşturulmamış demektir.

## TEZ

### Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder GradeMark Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

[Sili](#) [İndir](#) [Suraya taşı...](#)

	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
	oğuz raşit karakulak	DANA KARDİYAK VENİNDE BUPİVAKAİNİN ETKİL...	%3 %3	3%	0%	0%	--	--	ödev indir	793796312	04-Nis-2017
	Emine Dağtekin	İzole İnsan Umbilikal Arterinde Hidrojen...	%17 %17	12%	7%	10%	--	--	ödev indir	835819743	08-Ağu-2017

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince özellikle tez çalışmam sırasında kıymetli vakti, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, destek olan, ilgisini ve önerilerini esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN' e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Eğitimim boyunca bilimsel destekleri için Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK' a, Doç. Dr. Burak Cem SONER' e, Yrd. Doç. Dr. Salim Yalçın İNAN' a, Yrd. Doç. Dr. Mehmet KILIÇ ve Yrd. Doç. Dr. İpek DUMAN' a teşekkür ederim. Bu süre zarfında yanımda olan aileme minnettarım.

Emine DAĞTEKİN

## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	<i>ii</i>
<i>Approval</i> .....	<i>iii</i>
<i>Tez Beyan Sayfası</i> .....	<i>iv</i>
<i>Teşekkür</i> .....	<i>v</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>vi</i>
<i>Şekiller Listesi</i> .....	<i>vii</i>
<i>Tablolar Listesi</i> .....	<i>viii</i>
<i>Özet</i> .....	<i>ix</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>x</i>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. <i>Leptin</i> .....	3
2.2. <i>Umbilikal Kord</i> .....	5
2.3. <i>Vasküler Yapılar</i> .....	6
2.4. <i>Reaktif Oksijen Türleri ve Hidrojen Peroksid</i> .....	8
2.5. <i>Nitrik Oksid</i> .....	9
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>10</b>
3.1. <i>Genel</i> .....	10
3.2. <i>DeneySEL Prosedür</i> .....	10
3.3. <i>Kullanılan Kimyasallar</i> .....	11
3.4. <i>İstatistiksel Yöntemler</i> .....	11
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>12</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>14</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	<b>17</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	<b>18</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>22</b>



## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1. Zamanında doğum olayı gerçekleşmiş umbilikal kord kesiti.....5
- Şekil 2. Arteriyel duvarın yapısı.....7
- Şekil 3. İnsan umbilikal arter halkalarında  $H_2O_2$  ( $10^{-3}$  M) ile alınan kasılma cevapları üzerine leptinin ( $10^{-11}$  - $10^{-7}$  M) etkileri ve L-NAME varlığında değişimleri.....13



## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 <sup>-3</sup> M) ile kasılan insan umbilikal arterinde leptin (10 <sup>-11</sup> -10 <sup>-7</sup> M) varlığında alınan cevaplar.....	12
Tablo 2. Leptin ile inkübe edilen insan umbilikal arterinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 <sup>-9</sup> -10 <sup>-3</sup> M) için hesaplanan E <sub>max</sub> ve pD <sub>2</sub> (-log EC <sub>50</sub> ) değerleri.....	13



## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### İzole İnsan Umbilikal Arterinde Hidrojen Peroksit Bağlı Kasılma Cevapları Üzerine Leptinin Etkisi

Emine DAĞTEKİN

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA 2017

Bu in vitro çalışmada, anoreksijenik bir hormon olan leptinin deneysel çalışmalarda oksidatif stres oluşturmak amacıyla kullanılan  $H_2O_2$ ' ye bağlı kasılma cevapları üzerine etkileri incelenmiştir.

Umbilikal arter halkaları sıcaklığı  $37^\circ C$ ' de sabit tutulan %95  $O_2$ -%5  $CO_2$  karışımı ile gazlandırılan ve Krebs-Henseleit (KHS) solüsyonu içeren 10 ml'lik izole organ banyolarına alındı. Uygulanan prosedürlere verilen cevaplar izometrik olarak kaydedildi. Umbilikal arter halkalarının bazal tonusu üzerine leptinin etkilerinin araştırıldığı bölümde, kümülatif tarzda banyoya uygulanan leptin ( $10^{-11}$ -  $10^{-7}$  M) dokuların bazal tonusunu etkilemedi. Benzer şekilde L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile inkübe edilen dokularda da kümülatif leptin ilavesi dokuların bazal tonusunu değiştirmeydi. Umbilikal arter halkalarında  $H_2O_2$  ( $10^{-3}$  M) ile maksimum kasılma cevabı alındıktan sonra organ banyosuna kümülatif olarak uygulanan leptin konsantrasyona bağımlı olarak gevşeme cevapları oluşturdu. Organ banyosuna  $10^{-4}$  M L-NAME ilave edilmesi  $H_2O_2$ ' ye bağlı kasılma cevapları üzerine leptinin  $10^{-11}$  ve  $10^{-10}$  M konsantrasyonlarında gözlenen gevşeme cevaplarını etkilemedi; leptinin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  ve  $10^{-7}$  M konsantrasyonlarda umbilikal arter şeritlerine oluşturduğu gevşeme cevaplarını ise anlamlı olarak inhibe etti. Leptin ile inkübe edilen umbilikal arter halkalarında  $H_2O_2$ ' nin etkilerinin araştırıldığı bölümde, dokuların  $10^{-10}$  M ve  $10^{-7}$  M leptin ile inkübe edilmesi kümülatif uygulanan  $H_2O_2$ ' nin  $pD_2$  (-log  $EC_{50}$ ) ve  $E_{max}$  değerlerini değiştirmeydi.

Bu sonuçlar; insan umbilikal arterinde leptinin uygulanan tüm konsantrasyonlarında,  $H_2O_2$ ' ye bağlı kasılma cevapları üzerine gevşetici etki oluşturduğunu, leptinin yüksek konsantrasyonlarında gözlenen gevşeme cevaplarına kısmen  $NO$ ' in aracılık ettiğini; ayrıca umbilikal arterlerin bazal tonusu ve bazal tonus düzeyinde uygulanan  $H_2O_2$ ' ye bağlı kasılma cevapları üzerinde leptinin inhibitör etki oluşturmadığını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Hidrojen Peroksit; Leptin; L-NAME; Umbilikal Arter

## ABSTRACT

### Effects of Leptin on Hydrogen Peroxide-Induced Contractions in Isolated Human Umbilical Artery

In this in vitro study, the effects of leptin, an anorexigenic hormone, on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced contraction responses were investigated. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was used as an oxidative stress generator in experimental studies.

Umbilical artery rings were placed in tissue baths containing Krebs-Henseleit Solution (KHS) gassed with 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub> at 37°C. The responses to the procedures performed were recorded isometrically. In the part where the effects of leptin on basal tonus of umbilical artery rings were investigated, cumulative leptin (10<sup>-11</sup>-10<sup>-7</sup> M) did not change basal tonus of tissues. Similarly, the cumulative leptin addition on tissues incubated with L-NAME (10<sup>-4</sup> M) did not change the basal tonus of the tissues. After receiving maximal contraction with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup> M), cumulatively administered leptin to the organ bath resulted in concentration-dependent relaxation responses. Addition of 10<sup>-4</sup> M L-NAME to the organ bath did not change relaxation responses observed at 10<sup>-11</sup> and 10<sup>-10</sup> M concentrations of leptin on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced contractile responses; however L-NAME significantly inhibited relaxation responses at 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-8</sup> and 10<sup>-7</sup> M concentrations of leptin in the umbilical artery strips. In the part where the effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the umbilical artery rings incubated with leptin were investigated, incubation of the tissues with 10<sup>-10</sup> and 10<sup>-7</sup> M leptin did not change the pD<sub>2</sub> (-log EC<sub>50</sub>) and E<sub>max</sub> values of cumulative applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

These results demonstrate that leptin exerts a relaxant effect on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced contractile responses at all applied concentrations in human umbilical artery, and the relaxation responses observed at high concentrations of leptin were partially mediated by NO. Furthermore, our results show that leptin has no inhibitory effect on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced contraction responses at basal tone and basal tonus levels of umbilical arteries.

Key words: Hydrogen Peroxide; Leptin; L-NAME; Umbilical Artery

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Leptin vücuttaki yağ hücreleri tarafından salgılanarak, iştahı azaltan ve yağ yakımı ile ilgili birimleri harekete geçiren anoreksijenik etkili bir hormondur. Tokluk hormonu olarak tanımlanan leptin, hipotalamusu etkileyerek iştahın kapanmasını sağlar. Besin alımını baskıladığı ve negatif enerji dengesine yol açtığı için anti-obezite faktör hormonu olarak da adlandırılan leptinin; besin alımı ve metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olduğu ve vücut adipoz doku miktarındaki değişimleri negatif feed-back döngüsü ile merkezi sinir sistemine ileterek, besin alımını azaltıp enerji harcanmasını artırdığı gösterilmiştir.

Leptin hormonunun iştah ile ilgili etkilerinin yanı sıra, vücudun diğer önemli işlevlerini de etkilediğinin bulunması, araştırmaları bu hormon üzerine yoğunlaştırmıştır. Multifonksiyonel bir hormon olan leptin ile yapılan in vitro çalışmalarda çeşitli damar yatakları üzerine vazoaaktif etkilerinin olduğu saptanmıştır.

Hidrojen peroksid ( $H_2O_2$ ), oksidazların yan ürünleri olan süperoksid anyonların enzimatik veya spontan bozunumundan meydana gelmekte ve insan vücudunda yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Yüksek zar geçirgenliğine sahip olan ve çeşitli patofizyolojik süreçlerde rol oynayan  $H_2O_2$ , insan plazmasında mikromolar düzeylerde bulunmakta; bazı durumlarda ise milimolar konsantrasyonlara çıkabilmektedir. Vasküler yapılar üzerinde  $H_2O_2$ ' in kasıcı ya da gevşetici etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. Artmış  $H_2O_2$  seviyesi ile oksidatif stres meydana gelmekte ve endotel disfonksiyonu gibi patolojik durumlar ile sonuçlanabilmektedir. Gebelik süresince oluşan plasental oksidatif stres preeklampsi, eklampsi, embriyopatiler, fetal büyüme kısıtlaması, preterm doğum, düşük doğum ağırlığı ve spontan düşüklere yol açabilmektedir.

Umbilikal kordun otonom inervasyonu olmadığı için endojen veya ekzojen vazokonstriktör ya da vazodilatör maddeler fetoplasental vasküler tonusun kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Gebelerde fetal dokular ve plasentadan da salgılanan leptinin gebelik süresi ile artan düzeyde umbilikal arter ve venden alınan kan örneklerinde bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı izole insan umbilikal

arterinin bazal tonusu ve  $H_2O_2$ ' ye bağlı kasılma cevapları üzerine leptin hormonun etkileri ve bu etkilerde nitrik oksit' in (NO) rolünü araştırmaktır. Artan oksidatif stres durumunda leptinin umbilikal arterler üzerine olan direkt etkileri ile ilgili bilgilerin yetersiz olması nedeniyle çalışmanın orijinal nitelikte olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı dūřunılmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Leptin

Leptin ilk kez 1994 yılında tanımlanmış, adipozitler tarafından sentezlenen, Ob (obezite) geninden kodlanan ve molekül ağırlığı 16 kDA olan protein yapıda bir hormondur [1]. Leptinin bulunması ile adipoz dokunun sadece yağ için bir depo fonksiyonu olmadığı, aynı zamanda önemli bir endokrin bez işlevi olduğu ortaya çıkmıştır. Leptinin önceleri sadece beyaz adipoz dokusundan sentezlendiği düşünülürken, sonraki çalışmalarda kahverengi adipoz dokusu, hipotalamus, pituiter bez, gastrik epitelyum, iskelet kası gibi diğer dokularda da sentezlendiği bulunmuştur [2].

İştahı azaltarak ve metabolik süreçleri değiştirerek vücut ağırlığında azalma oluşturan [3-5] leptin, kardiyovasküler ve üriner sistemde homeostazın sürdürülmesinde, pubertenin başlangıcının kontrolünde, hipotalamik-hipofizer fonksiyonların regülasyonunda, insülin direncinde, termogeneze, nöroendokrin (büyüme hormonu, tiroid ve adrenal) sistemde ve immun fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır [6]. Ayrıca, hematopoez, gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi, anjiogenez, osteogenezis [7] ve akciğer gelişimi [8] gibi olaylarda da fizyolojik etki göstermektedir.

Leptinin fizyolojik olaylarda önemli etkilerinin yanı sıra parkinson, epilepsi, serebral iskemi, migren, kognitif gerileme ve demans gibi nörolojik hastalıklar ile şizofreni, borderline kişilik bozukluğu, depresyon gibi psikiyatrik bozukluklar ile ilişkili olabileceği de bildirilmiştir [9]. Leptin reseptörlerinin beyinde yaygın bulunması nedeniyle davranışsal düzenlemeyi etkileyebileceği düşünülmüş, insanlarda düşük ve yüksek leptin seviyelerinin psikopatoloji ile bağlantılı olabileceği yayınlanmıştır [10].

Kan Beyin Bariyeri ni aktif olarak geçebilen, kanda serbest ve proteine bağlı olarak bulunan leptin aktivitesinden serbest formun sorumlu olduğu ve obez bireylerde serumdaki leptinin çoğunlukla serbest formda olduğu bulunmuştur. Leptinin yarılanma ömrü insanlarda yaklaşık 25 dakika, sıçanda 3-10 dakika arası ve farelerde ise 1-3 saat arasındadır [6].

Zayıf deneklerde leptin serbest form olarak düşük seviyelerde (5-15 ng/mL) dolaşmakta ve bağlayıcı proteinlere bağlanmaktadır [11]. Yapılan başka bir çalışmada leptinin plazmada ve diğer dokularda radioimmünoassey yöntemiyle ölçülmüş ve normal sağlıklı erişkinlerde plazma leptininin fizyolojik sınırları 5-20 ng/ml düzeylerinde olduğu bulunmuştur [12]. Diğer bir çalışmada ise, leptinin fizyolojik konsantrasyonun 250 pmol/l ( $2,5 \cdot 10^{-10}$  M) ya da 4ng/ml, obezlerdeki konsantrasyonun 625 pmol/l olduğu saptanmış, normal leptin konsantrasyonunun 3-5 ng/ml ve morbid obez insanlarda ise 90-95 ng/ml düzeylerinde seyrettiği raporlanmıştır [13].

Dolaşımdaki leptinin öncelikle böbrekler tarafından elimine edildiği, renal tübüllerde metabolik degradasyon ve glomerüler filtrasyon ile hızlıca dolaşımdan uzaklaştırıldığı bulunmuştur [14].

Leptin düzeyinin temel belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi (VKİ)' dir. Ancak farklı faktörler leptin salınımı üzerinde etki etmektedirler. İnsülin, glukokortikoidler ve prolaktin leptin sentezi üzerine pozitif etki ederken tiroid hormonları, büyüme hormonu, somatostatin, serbest yağ asitleri, uzun süre soğuğa maruz kalma ve katekolaminler leptin sentezi üzerine negatif etki göstermektedirler [7]. Yağ ve VKİ' ye göre yağ dokusunun toplam kütlesi ve serum leptin düzeyleri arasında doğru orantı vardır [6]. Leptin yağ hücre sayısı ve yağ hücre büyüklüğü oranında organizmada üretilir ve plazma leptin seviyesi vücut yağ kitlesini yansıtmaktadır [15].

Kan leptin düzeyini etkileyen faktörlerden bir diğeri ise cinsiyettir. Normal kilolu kadınlarda serum leptin seviyesinin yine normal kilolu erkeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu durum kadınlarda yağ dokusu fazlalığı ve ciltaltı/visseral yağ oranının daha fazla olması [16] ve yapılan bir çalışmada erkeklerde testosteronun leptin seviyesini baskılamasının bulunması [17] ile açıklanmaktadır. Bu çalışmanın bulgularını destekleyen başka bir çalışmada ise VKİ' ye bağlı olmaksızın kadınlarda serum leptin seviyesinin erkeklere göre 2 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde obez kadınlarda da obez erkeklere göre leptin seviyesinin yüksek olduğu bulunmuştur [18].



## 2.2. Umbilikal Kord



Şekil 1. Zamanında doğum olayı gerçekleşmiş umbilikal kord kesiti.

- a-) Amniyotik Epitelyum
- b-) Sub-amniyotik Wharton Jeli
- c-) Wharton Jel İçi
- d-e-) Sirküler ve Longitudinal Vasküler Kas Tabakası
- f-) Vasküler Endotelyum
- ua-) Umbilikal Arter
- uv-) Umbilikal Ven

Umbilikal kord fetüse kan ile besin transportundan sorumlu olan ve fetüs ile plasenta arasında bağlantı kuran organ olarak bilinmektedir. Şekil 1' de [19] de görüldüğü gibi zamanında doğum olayı gerçekleşmiş insan umbilikal kordda iki arter bir venin etrafında sarılı şekilde olmak üzere üç adet kan damarı bulunmaktadır. Bu damarlar su, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar ve kollajen fiberlerden zengin, yoğun bir extraselüler matris ile az miktarda mezenkimal stromal hücrelerden oluşmuş mukoz bir doku olan Wharton Jeli ile çevrilidir [20,21].

Kordun bağ dokusu veya Wharton jeli ekstraembriyonik mezoblastlardan köken almaktadır. McKay ve ark. [22] embriyo dışı keseleri içinde bulunduran bir boŐluk olan ekzoklomdaki bu jöle benzeri yapıyı dokunulduğunda sıvılaŐmasından dolayı ‘tikotropik jel’ olarak adlandırmıŐtır.

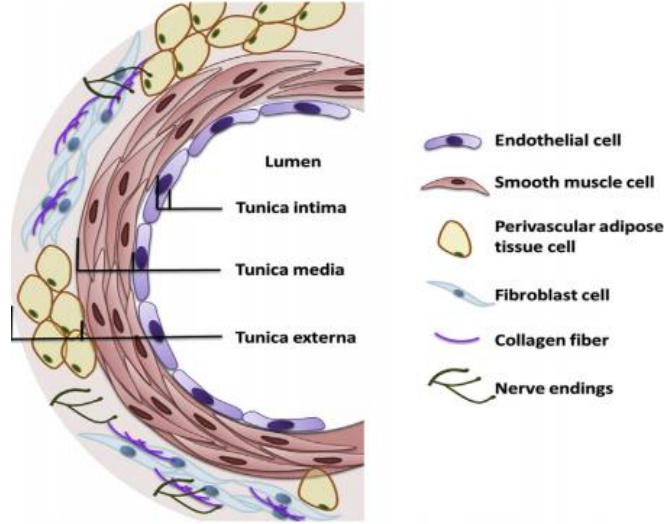
Doğumda yaklaşık 50-60 cm uzunluğunda ve 12 mm çapında olan matur kord 100 cm’ den uzun ve 30 cm’ den kısa olabilmektedir [23]. Umbilikal kordun vasküler düz kası umbilikal ve plasental dolaşım düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan araŐtırmalarda plasentanın nevrал bir kaynağa sahip olmadığı [24] ve intrafetal segment haricinde umbilikal kordun otonom inervasyonu olmadığı bulunmuştur [25].

Yapılan çalışmalarda hamile kadınların uterus amniyon hücreleri ile plasenta trofoblast gibi non-adipoz dokuların leptin ürettiği ve üretilen leptinin amniyotik sıvıya sekrete edildiği tespit edilmiştir [26]. Hamilelik esnasında üretilen leptinin aynı zamanda meme bezlerindeki sekretuar epitalyal hücreler tarafından da üretildiği [27] ve leptinin dolaşımdan süte geçtiği daha sonra da emzirme yoluyla bebeğin kanına transfer edildiği gösterilmiştir [28].

Fetoplasental dolaşımdaki leptinin yerini araŐtıran bir çalışmada umbilikal arterde leptin seviyesi ortalama 9.8 ng/ml; umbilikal vende ise ortalama 12.9 ng/ml olarak ölçülmüŐtür. Umbilikal arter düzeyi ven düzeyine göre düşük olduğu tespit edilen leptinin umbilikal korddaki seviyesinin maternal ven leptin seviyesinden (ortalama 29.5 ng/ml) de düşük olduğu gösterilmiştir [29].

### 2.3. Vasküler Yapılar

Kan damarları tek katmanlı endotelial hücrelerin oluşturduğu tunica intima, vasküler düz kasların oluşturduğu tunica media (adventisya olarak da adlandırılır) ve tunica externa olmak üzere üç tabakadan oluşur (Şekil 2) [30].



Şekil 2. Arteriyel duvarın yapısı.

Endotel hücrelerin tek katmanlı intimal tabakası, en küçük kapillerden gelen tüm damar dallarını kaplayarak tüm damarların iç yüzeyini oluşturur ve bu da lümende kan ile çevredeki dokular arasında bir bariyer görevi üstlenir. Damar düz kas tabakaları ise kan damarlarının daralmasına ve dilatasyonuna aracılık eder [31]. Endotel hücreleri fiziksel, biyolojik ve kimyasal uyaranlara yanıt olarak bir dizi otokrin ve parakrin maddelerin dengeli salınması yoluyla vasküler homeostazı koruma işlevini yerine getirir [32]. Vasküler tonusun kontrolü, kan hücre trafiği, doğal ve kazanılmış bağışıklık ve hemostaz gibi birçok fizyolojik fonksiyonlarda önemli bir rol oynadığı bilinen endotel, prokoagülan ve antikoagülanlar, inflamatuvar ve antiinflamatuvar faktörler, fibrinolitikler ve antifibrinolitikler, oksitleyici ile antioksidan maddeler, vazodilatörler, vazokonstriktörler ve diğer faktörler gibi vazoaktif faktörleri üretebilme kapasitesine sahiptir [33].

Vasküler endotel, endotelden vasküler düz kasa vazokonstriktör ve vazodilatör maddelerin salınması ile vasküler tonusun ve yapının lokal olarak düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Endotelin, anjiotensin II, Tromboksan A<sub>2</sub>, prostaglandin H<sub>2</sub>, etkisini prostasiklin üretimini baskılayarak eNOS üretimini azaltması sonucu ortaya çıkaran yüksek konsantrasyonlu reaktif oksijen türleri vazokonstriksiyon; NO, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör, prostasiklin gibi faktörler vazodilatör etkilerini esas olarak serbest sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda [Ca<sup>+2</sup>]<sub>i</sub> belirgin değişimler yapması sonucu ortaya çıkarmaktadır [34].

#### 2.4. Reaktif Oksijen Türleri ve Hidrojen Peroksid ( $H_2O_2$ )

Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ), Hidroksil Radikali ( $OH^\cdot$ ) ve Hidrojen Peroksid ( $H_2O_2$ ) gibi Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species-ROS) oksijenin kısmi indirgenmesiyle oluşan radikal ve radikal olmayan oksijen türlerinden oluşur. Hücresel ROS mitokondriyal oksidatif fosforilasyon sürecinde olduğu gibi endojen olarak üretilir veya ksenobiyotik bileşikler gibi ekzojen kaynaklarla olan etkileşimlerden de ortaya çıkabilir [35].

Vasküler hücrelerdeki ROS' un hücre ölümü, diferansiyasyon, kontraksiyon ve hücre proliferasyonu gibi birçok hücresel olayların düzenlenmesi yoluyla vasküler homeostazda hem fizyolojik hem de patofizyolojik bir rol oynadığı görülmüştür. Bu elemental moleküller ateroskleroz, restenoz, hipertansiyon, diyabetik vasküler komplikasyonlar ve kalp yetmezliği gibi çeşitli patolojik süreçlere yol açması sebebiyle vaskülatür için zararlı kabul edilirler [36].

$H_2O_2$  en fazla oluşan reaktif oksijen metabolitidir.  $H_2O_2$ ' in dolaşımdaki seviyesinin birkaç yüz mikromolar düzeyinde seyrettiği bulunmuştur. Fizyolojik  $H_2O_2$  konsantrasyonunun  $300 \mu M$  olduğu öne sürülmüş [37]; yapılan diğer bir çalışmada insan plazmasında  $80-480 \mu M$  konsantrasyon aralığında bulunduğu, aktive olmuş nötrofillerde yoğun  $H_2O_2$  üretimi ve salınması ile belirli alanlarda  $H_2O_2$  konsantrasyonlarının milimolar düzeylere ( $>1-2 mM$ ) ulaşabileceği gösterilmiştir [38].

Hücre membranını kolayca geçebilmesi ve oldukça potent olan hidroksil radikallerini oluşturabilmesi nedeniyle oksidatif strese bağlı fonksiyonel ve metabolik disfonksiyon gelişiminde önemli bir maddedir [39]. Bu nedenle in vitro deneysel çalışmalarda ortama  $H_2O_2$  ilavesi oksidatif stres modeli olarak kullanılmaktadır [40-42].

Yapılan çalışmalarda  $H_2O_2$ ' in, türe, vasküler yatağa ve kontraktil duruma göre değişen şekilde damarlarda kasılma veya gevşeme oluşturduğu gösterilmiştir. Ekzojen uygulanan  $H_2O_2$  ile oluşturulan oksidatif stresin insan umbilikal arter şeritleri üzerindeki vazoaktif etkilerini inceleyen bir çalışmada  $H_2O_2$  konsantrasyona bağlı kontraksiyon oluşturmuştur [43].

## 2.5. Nitrik Oksid

Nitrik Oksid (NO) serbest radikal niteliğinde bir gaz molekülüdür. Canlılardaki rolü ile ilgili bulgular 1980 yılında ortaya çıkarılmıştır. İlk defa Furchgott ve Zawadzki [44] tavşan aortasında asetilkolinin yol açtığı endotele bağımlı damar gevşemelerinden Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör' ün (EDRF) sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Damar endotelinden salıverilen bu faktörün daha sonra NO olduğu ortaya konulmuştur.

NO organizmada, Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyonla, L-arjinin' in L-sitrülin' e dönüşümü sırasında açığa çıktığı bilinmektedir. En küçük sinyal molekülü olarak bilinen NO, NOS' un üç izoformu tarafından üretilmektedir. Üç izoform içerisinde birincisi olan Nöronal NOS (nNOS-NOS I) merkezi ve periferik nöronlarda ve diğer bazı hücre tiplerinde yapısal olarak eksprese edilmektedir. İndüklenebilir NOS (iNOS-NOS II) lipopolisakkaritler, sitokinler veya diğer ajanlara yanıt olarak birçok hücre tipinde eksprese edilmektedir. Endotelyal NOS (eNOS-NOS III) çoğunlukla endotel hücrelerde eksprese edilmektedir [45].

NO, vasküler sistemde vazodilatör etki gösterir. Damar endoteli tarafından sentezlenen NO, hem bazal koşullarda salgılanarak sürekli damar tonusunu düzenlemektedir hem de çeşitli endojen ve ekzojen uyarılarla salgılanabilmektedir. Endoteli sağlam damarlarda; asetilkolin, ADP, ATP, anjiotensin II, noradrenalin, vazoaaktif intestinal peptid, araziidonik asit, P maddesi, histamin, bradikinin, serotonin, endotelin, trombin, vazopresin, basınç, damar çeperindeki sürtünme stresi (shear stress), NO salgılanmasını uyarak gevşemeye neden olur [46].

Yarılanma zamanı 4-6 saniye ve lipofilik olan vazodilatör özellik gösteren, platelet agregasyonunu inhibe eden ve endotel hücrelere lökositlerin adezyonunu önleyen NO' in üretimi, N<sup>G</sup>-nitro-l-arginine-methyl-ester (L-NAME) tarafından inhibe olmaktadır. L-arjinin analogu olan L-NAME' in NOS' a kompetitif bir şekilde bağlanarak NO' in üretimini azalttığı gösterilmiştir [47]. Deneysel çalışmalarda ise endotel kaynaklı NO üretimine bağlı gevşeme yanıtları L-NAME ile bloke edilmektedir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Genel

Yapılan bu çalışmada Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda miadında olan doğumlardan tıbbi atık olarak ayrılan umbilikal kordon örnekleri kullanıldı. Soğuk Krebs-Henseleit Solüsyonu (KHS) içinde Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarına getirilen umbilikal kordonlardan izole edilen arterler, çevre dokulardan temizlenerek 3-4 mm genişliğinde halka preparatlar hazırlandı. Hazırlanan umbilikal arter halkaları sıcaklığı 37°C' de sabit tutulan %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli gazlandırılan KHS solüsyonu içeren 10 ml'lik izole organ banyolarına alındı. Dokular 1 gr istirahat gerilimi altında 60 dakika süreyle dinlendirildi ve bu süre boyunca dokular 15 dakika aralıklarla KHS ile yıkandı. Dinlenme periyodunun bitiminde uygulanan ajanlara alınan cevaplar bir transdüser (BIOPAC MP36, California USA) yardımı ile izometrik olarak (Commat, Ankara, TÜRKİYE) kaydedildi.

#### 3.2. Deneysel Prosedür

Çalışmanın ilk grubunda leptinin umbilikal arter halkalarında bazal tonus üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla 10<sup>-3</sup> M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile maksimum kasılma cevapları alındıktan sonra dokular yıkanarak dinlendirildi ve bazal tonus düzeyinde banyoya kümülatif olarak ilave edilen leptin (10<sup>-11</sup> M- 10<sup>-7</sup> M) ile konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi. Bazı dokular leptin ilavesinden önce 20 dk süreyle nitrik oksit sentez inhibitörü N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginin metil lester (L-NAME, 10<sup>-4</sup> M) ile inkübe edildi.

Çalışmanın diğer bölümünde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile kasılan umbilikal arter halkalarında leptinin etkileri araştırıldı. Banyoya 10<sup>-3</sup> M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek kasılma cevapları alındı. Kasılma cevapları maksimum düzeye ulaştığında ortama kümülatif tarzda leptin (10<sup>-11</sup> M- 10<sup>-7</sup> M) ilave edilerek konsantrasyon-cevap eğrileri kaydedildi. Bazı dokular leptin ilavesinden önce 20 dk süreyle 10<sup>-4</sup> M L-NAME ile inkübe edildi.

Diğer çalışma gruplarında ise leptin ile inkübe edilen dokularda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye bağlı kasılma cevapları araştırıldı. Bu amaçla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-9</sup>- 10<sup>-3</sup> M) ile kümülatif konsantrasyon-cevap eğrileri alındıktan sonra dokular yıkanarak dinlendirildi. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

ile ikinci konsantrasyon-cevap eğrisi alınmadan önce ortama  $10^{-10}$  M leptin ilave edilerek 20 dk süreyle inkübasyon yapıldı. Aynı prosedür  $10^{-7}$  M leptin ile tekrarlandı.

### 3.3. Kullanılan Kimyasallar

Human Recombinant Leptin (Sigma)

Hidrojen Peroksid ( $H_2O_2$ , Merck)

Nu-nitro-L-arginin metil lester (L-NAME, Sigma)

Krebs-Henseleit Solüsyonu (KHS) [mM]: NaCl 118.3; KCl 4.69;  $KH_2PO_4$  1.18;  $CaCl_2$  1.25;  $MgSO_4$  1.17;  $NaHCO_3$  25.0; Glikoz 11.1

### 3.4. İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada uygulanan ajanlara alınan cevaplar  $10^{-3}$  M  $H_2O_2$  ile alınan maksimum kasılma cevabının yüzdesi (%) şeklinde değerlendirildi. İkinci grupta leptin varlığında  $H_2O_2$  kasılmalarındaki değişimler; üçüncü grupta ise  $H_2O_2$  için  $E_{max}$  (% maksimum kasılma) ve  $pD_2$  (%50 oranında kasılma oluşturan konsantrasyonun negatif logaritması) değerleri hesaplandı.

Elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılarak SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı yardımıyla analiz edildi. Tamamı sürekli sayısal nitelikte olan verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Tümü normal dağılıma uygun olan verilerin özetlenmesinde aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) kullanıldı. Grupların karşılaştırılması amacıyla bağımsız gruplarda Student t testi uygulandı. Analizlerde  $p < 0.05$  bulunduğunda aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

$10^{-3}$  M  $H_2O_2$  umbilikal arter halkalarında tekrarlanabilir nitelikte ve zamana bağlı değişim göstermeyen kasılma cevapları oluşturdu. Umbilikal arter halkalarının bazal tonusu üzerine leptinin etkilerinin araştırıldığı bölümde, kümülatif tarzda banyoya uygulanan leptin ( $10^{-11}$  –  $10^{-7}$  M) dokuların bazal tonusunu etkilemedi. Benzer şekilde L-NAME ile inkübe edilen dokularda da kümülatif leptin ilavesi dokuların bazal tonusunu değiştirmedii.

Diğer grupta  $H_2O_2$  ile kasılan umbilikal arter halkalarında leptinin gevşetici etkileri araştırıldı.  $10^{-3}$  M  $H_2O_2$  ile maksimum kasılma cevabı alındıktan sonra organ banyosuna kümülatif olarak uygulanan leptin konsantrasyona bağımlı olarak umbilikal arter halkalarında gevşeme oluşturdu ( $p<0.05$  n=8; Tablo 1). Organ banyosuna  $10^{-4}$  M L-NAME ilave edilmesi  $H_2O_2$ 'ye bağılı kasılma cevapları üzerine leptinin  $10^{-11}$  ve  $10^{-10}$  M konsantrasyonlarında gözlenen gevşeme cevaplarını etkilemedi. Leptinin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  ve  $10^{-7}$  M konsantrasyonlarda umbilikal arter şeritlerine oluşturduğu gevşeme cevaplarını ise anlamlı olarak azalttı ( $p<0.05$  n=8; Tablo 1; Şekil 3).

	Leptin $10^{-11}$ M	Leptin $10^{-10}$ M	Leptin $10^{-9}$ M	Leptin $10^{-8}$ M	Leptin $10^{-7}$ M
Kontrol	95.12±4.94*	88.50±5.90*	78,62±5.65*	72.00±6.92*	59.75±10.37*
L-NAME	95.87±4.32	91.37±7.30	88.75± 8.64**	84.7± 1.87**	77.25±10.06**

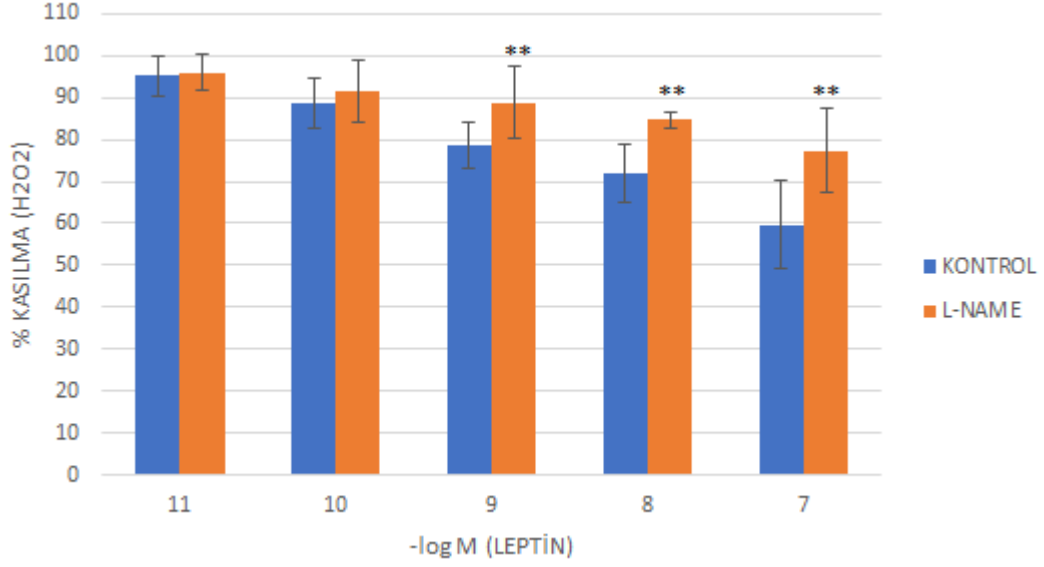
Tablo 1.  $H_2O_2$  ( $10^{-3}$  M) ile kasılan insan umbilikal arterinde leptin ( $10^{-11}$ – $10^{-7}$  M) varlığında alınan cevaplar (n=8).

( $10^{-3}$  M  $H_2O_2$  ile alınan maksimum kasılmanın yüzdesi olarak ifade edilmiştir.)

\* $10^{-3}$  M  $H_2O_2$  kasılmasına göre  $p<0.05$

\*\*kontrol leptin değerlerine göre  $p<0.05$





Şekil 3. İnsan umbilikal arter halkalarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup> M) ile alınan kasılma cevapları üzerine leptinin (10<sup>-11</sup> -10<sup>-7</sup> M) etkileri (kontrol) ve L-NAME varlığında değişimleri (n=8).

Leptin ile inkübe edilen umbilikal arter halkalarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin etkilerinin araştırıldığı bölümde leptin 10<sup>-10</sup> ve 10<sup>-7</sup> M konsantrasyonlarda kullanıldı. Kümülatif olarak uygulanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-9</sup>–10<sup>-3</sup> M) umbilikal arter halkalarında tekrarlanabilir nitelikte ve zamana bağlı değişim göstermeyen kasılma cevapları oluşturdu. Dokuların 10<sup>-10</sup> M ve 10<sup>-7</sup> M leptin ile inkübe edilmesi kümülatif uygulanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin pD<sub>2</sub> (- log EC<sub>50</sub>) ve E<sub>max</sub> değerlerini değiştirmede (n=7 Tablo 2).

	Leptin10 <sup>-10</sup> M	Leptin10 <sup>-7</sup> M
E <sub>max</sub>	102.57 ± 7.09	103.71±10.09
pD <sub>2</sub>	5.323 ± 0.34	5.768 ± 0.581

Tablo 2. Leptin ile inkübe edilen insan umbilikal arterinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-9</sup> -10<sup>-3</sup> M) için hesaplanan E<sub>max</sub> ve pD<sub>2</sub> (- log EC<sub>50</sub>) değerleri (n=7).

(10<sup>-3</sup> M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile alınan maksimum kasılmanın yüzdesi olarak ifade edilmiştir.)

## 5. TARTIŞMA

İzole insan umbilikal arterinde yapılan bu çalışmada; leptin dokuların bazal tonusunu değiştirmemiş, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile önceden kasılan arterlerde ise gevşeme oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda leptin ilave edilmesi kümülatif uygulanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile alınan kasılma cevaplarını etkilememiştir.

Fetal dolaşım sırasında insan plasentasının otonom uyarımı ve sınırları yoktur [25]. Bu nedenle umbilikal damar tonusunu etkileyen endojen veya ekzojen maddeler umbilikal-plasental dolaşımın düzenlenmesi ve fetüsün gelişimi açısından önemlidir [48]. Vazoaktif bir hormon olan leptinin, adipoz doku yanı sıra gebelerde fetal dokular ve plasentadan da salgılandığı ve umbilikal arter ve venden alınan kan örneklerinde gebelik süresince artan düzeyde bulunduğu gösterilmiştir [49,50].

Normal hücrel oksidatif metabolizmanın yan ürünü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en fazla oluşan ve hücre membranını kolayca geçebilen reaktif oksijen metabolitidir. Fiziyojik şartlarda, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından suya indirgendiğinden, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nadiren birikir. Ancak bazı patolojik durumlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu milimolar düzeylere ulaşabilmektedir [38]. Damarlarda düz kas ve endotel hücrelerinde de oluşabilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' in ekzojen olarak ortama ilavesi in vitro deneysel çalışmalarda oksidatif stres modeli olarak kullanılmaktadır [40].

Bu çalışmada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile önkasılma oluşturulan umbilikal arter halkalarında leptin konsantrasyona bağlı tarzda gevşeme cevapları oluşturmuştur. Bu bulgu insan umbilikal arterinde oksidatif strese bağlı kasılma cevapları üzerine leptinin gevşetici etki oluşturduğunu göstermektedir. Bulgularımızla uyumlu olarak, norepinefrin ile kasılmış insan internal mamarian arter halkalarına 1 µM leptin uygulanması gevşeme oluşturmuştur [51]. Benzer şekilde aynı çalışma içerisinde hem izole Wistar rat, hem de zayıf Zucker rat ve mongrel köpek koroner arteriyollerinde leptin, konsantrasyona bağımlı olarak vazodilatasyon yapmıştır [52].

Endotel hücrelerinde L-arjinine nitrik oksit sentez enziminin etkimesiyle NO oluştuğu ve oldukça lipofilik olan bu maddenin, düz kas tabakasında guanilat siklazı aktive ederek gevşeme oluşturduğu bilinmektedir [53]. Vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde leptin reseptörlerinin varlığı gösterilmiş [54] ve leptine bağlı vazodilatasyonla endotel faktörlerin rolü araştırılmıştır. Fenilefrin (10<sup>-6</sup> M) ile

kasılan tavşan aort halkalarında yapılan bir çalışmada  $10^{-12}$  - $10^{-9}$  M konsantrasyon aralığında leptin uygulanmış, oluşan vazodilatasyona NO' in aracılık ettiği gösterilmiştir [55]. İzole rat aortasında yapılan başka bir çalışmada ise endotel tabakasının zedelenmesi fenilefrinle kasılmış dokunun leptine verdiği gevşeme cevabını ortadan kaldırmış ve  $10^{-4}$  M NO sentez inhibitörü L-NAME leptine bağlı gevşeme cevaplarını inhibe etmiştir [56]. Fenilefrinle kasılan rat mezenterik arterinde de benzer şekilde NO-bağımlı gevşeme cevapları ortaya çıkmıştır [57]. Sunulan bu çalışmada, insan umbilikal arter halkalarının L-NAME ile inkübe edilmesi leptinin düşük konsantrasyonlarında ( $10^{-11}$  ve  $10^{-10}$ ) alınan gevşeme cevaplarını etkilememiş;  $10^{-9}$  - $10^{-7}$  M konsantrasyonlarında ise leptine bağlı gevşeme cevaplarında kısmen fakat anlamlı inhibisyon oluşturmuştur. Bu sonuçlar insan umbilikal arterinde oksidatif strese bağlı kasılma cevapları üzerine leptinin yüksek konsantrasyonlarında gözlenen gevşeme cevaplarına kısmen NO' in aracılık ettiğini göstermektedir.

Buna karşın, insan safen veni ve internal mamarian arterinde yapılan bir çalışmada endotel tabakasının zedelenmesi veya NO sentezinin inhibe edilmesi leptine bağlı gevşeme cevaplarını etkilememiştir. Araştırmacılar, leptinin endotelden bağımsız mekanizmaları da aktive ettiğini öne sürmüşlerdir [58]. Fenilefrin ( $10^{-6}$  M) ile ön kasılma uygulanmış rat aortik ve mezenter arter halkalarına  $10^{-13}$  –  $5 \times 10^{-10}$  M doz aralığında insan rekombinant leptin uygulanmış ve doza-bağımlı gevşeme cevapları gözlenmiştir. Aortik halkalarında oluşan leptine bağlı vazodilatasyon  $3 \times 10^{-4}$  M L-NAME ile bloke edilmiş, mezenterik arterde ise L-NAME inhibitör etki göstermemiştir [59]. Leptinin insanların önkol dolaşımına etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada NO sentez inhibitörü varlığında ve yokluğunda intra-arteriyel leptin infüzyonu gerçekleştirilmiştir. 1, 10 ve 100 ng/kg/dak leptin infüzyonu NO sentez inhibitörü varken ve yokken önkol kan akışında anlamlı bir artış ve önkol vasküler rezistansta anlamlı bir düşüşe sebep olmuştur. Araştırmacılar, leptinin NO-bağımsız bir mekanizma ile vazodilatasyon oluşturduğunu öne sürmüşlerdir [60].

Bu çalışmada kümülatif uygulanan leptin insan umbilikal arterinin bazal tonusunu etkilememiştir. Ayrıca dokuların bazal tonus düzeyinde leptinin çalışmada kullanılan düşük ve yüksek konsantrasyonları ile inkübe edilmesi de kümülatif uygulanan  $H_2O_2$  ile alınan kasılma cevaplarını etkilememiştir. Her iki çalışma grubunda, umbilikal arter halkalarının leptin yanı sıra L-NAME inkübasyonu bu sonuçları değiştirmemiştir. İzole insan internal mamarian arter halkalarında da  $1 \mu M$

leptin bazal tonus üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır [51]. Lembo ve ark. [59] rat mezenterik arteri ve mezenterik aortunda yaptığı çalışmada leptinin bazal tonusu anlamlı olmayan düzeyde azalttıklarını yayınlamışlardır.

Bu araştırmaların aksine spontan hipertansif ratların pulmoner arter ve torasik aortasında yapılan bir çalışmada kümülatif olarak uygulanan leptin torasik aortada, pulmoner artere göre daha fazla olmak üzere kasılma oluşturmuştur [61]. Diğer bir çalışmada ise izole rat aort düz kas hücrelerinin 48 saat süreyle  $10^{-7}$  M leptin ile inkübasyonu 12. saatten sonra düz kas hücrelerine Endotelin-1 bağlanmasını artırmıştır.  $10^{-9}$  –  $10^{-7}$  M leptin varlığında ise düz kas hücrelerinde ET<sub>A</sub>R protein seviyesinde artış tespit edilmiştir. Leptinin bu konsantrasyonlar aralığında Endotelin-1 seviyesinde yükselmeye sebep olmasından dolayı vazokonstriksiyon yapabileceği de öne sürülmüştür [62].

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada insan umbilikal arterinde  $H_2O_2$ ' e bağılı kasılma cevapları üzerine leptin ilavesi, uygulanan tüm konsantrasyonlarda anlamlı olarak gevşeme cevapları oluşturmuştur. Leptin yüksek konsantrasyonlarında gözlenen gevşeme cevaplarının L-NAME ile kısmen fakat anlamlı inhibisyonu bu gevşemelere NO' in aracılık ettiğini göstermektedir. Ayrıca umbilikal arterlerin bazal tonusu ve bazal tonus düzeyinde uygulanan  $H_2O_2$  kasılmaları üzerinde leptinin inhibitör etki oluşturmadığı saptanmıştır.

Umbilikal-plasental dolaşımın düzenlenmesinde endojen vazoaaktif maddelerin etkileri önemlidir ve vazoaaktif bir hormon olan leptin düzeyi gebelik süresince artış göstermektedir. Bu nedenle, endojen olarak bulunan diğer vazokonstriktör ajanlar varlığında umbilikal damarlarda leptinin etkileri ve etki mekanizmalarının incelenmesi amacıyla yeni çalışmalar yapılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994; 372: 425-32.
2. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu.Rev.Physiol*. 2000; 62: 413-437.
3. Rentsch J, Levens N, Chiesi M. Recombinant ob-gene product reduces food intake in fasted mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 214:131-136.
4. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995; 269:540-543.
5. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant Mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 1995; 269:546-549.
6. Comba A, Mert H, Comba B. Leptin ve metabolik etkileri, *YYU Vet Fak Der*, 2014; 25 (3), 87-91.
7. Aslan K, Serdar Z, Tokullugil HA. Multifonksiyonel hormon: Leptin. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2004; 30 (2) 113-118.
8. Torday JS, Sun H, Wang L. Et al. Leptin mediates the parathyroid hormone-related protein paracrine stimulation of fetal lung maturation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: 405-10.
9. Aslan A, Sarı S, Arabacı S. Leptin Hormonunun Özellikleri. *ODÜ Tıp Dergisi/ODU Journal of Medicine*. 2015; e36-e40
10. Valteau JC and Sullivan EL. The Impact of Leptin on Perinatal Development and Psychopathology. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2014; (61-61): 221-232.
11. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, et al.: Evidence of free and bound leptin on human circulation. Studies in lean subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest*. 1996; 98:1277-1282.
12. Ergün A. Leptin (Ob Protein), *T Klin Tıp Bilimleri* 1999; 19:130-136.
13. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension*. 1998; 31: 409-14.
14. Cumin F, Baum H-P and Levens N. Mechanism of leptin removal from the circulation by the kidney. *Journal of Endocrinology* 1997; 155: 577-585.
15. Frühbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001; 283: E827-E-847.
16. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plazma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-13.
17. Himms Hagen J. Physiological roles of the leptin endocrine system: Differences between Mice and Humans. *Crit Rew Cl Lab Sci*. 1999; 36(6): 575-655.
18. Wallace AM. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem*. 2000; 37: 244-252.

19. Mauro A, Buscemi M, Provenzano S, Gerbino A. Human umbilical cord expresses several vasoactive peptides involved in the local regulation of vascular tone: protein and gene expression of Orphanin, Oxytocin, ANP, eNOS and iNOS. *Folia Histochemica et Cytobiologia*. 2011; 49(2): 211-218.
20. Meyer FA, Laver-Rudich Z, Tenenbaum R. Evidence for a mechanical coupling of glycoprotein microfibrils with collagen fibrils in Wharton's Jelly. *Biochim Biophys Acta*. 1983; 755: 376-387.
21. Sobolewski K, Bankowski E, Chyczewski L, Jaworski S. Collagen and glycosaminoglycans of Wharton's jelly. *Biol Neonate*. 1997; 71: 11-21.
22. McKay DG, Roby CC, Hertig AT, Richardson MV. Studies of the function of early human trophoblast. II. Preliminary observations on certain chemical constituents of chorionic and early amniotic fluid. *Amer. J. Obstet. Gynecol*. 1955; 69: 735-741.
23. Krakowiak P, Smith EN, de Bruyn G, et al. Risk factors and outcomes associated with a short umbilical cord. *Obstet Gynecol*. 2004; 103: 119-127.
24. Spivack M. On the presence or absence of nerves in the umbilical blood vessels of man and guinea pig. *Anat. Rec*. 1943; 85: 85-109.
25. Fox SB, Khong TY. Lack of innervation of human umbilical cord. An Immunohistological and histochemical study. *Plasenta*. 1990; 11 (1): 59-62.
26. Masuzaki H, Ogawa Y, Saqawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H, Yoshimasa Y, Tanaka I, Mori T, Nakao K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med*. 1997; 3(9): 1029-33.
27. Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanaqe VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83(5): 1810-3.
28. Casabiell X, Pineiro V, Tome MA, Peino R, Dieguez C, Casanueva FF. Presence of Leptin in Colostrum and/or Breast Milk from Lactating Mothers: A Potential Role in the Regulation of Neonatal Food Intake. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82 (12): 4270-4273.
29. Shigeo Yura MD, Norimasa Sagawa MD, Hiroko Mise MD, Takahide Mori MD, Hiroaki Masuzaki MD, Yoshihiro Ogawa MD, Kazuwa Nakao MD. A positive umbilical venous-arterial difference of leptin level and its rapid decline after birth. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 926-30.
30. Zhao Y, Vanhoutte MP, Leung WSS. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2015; 129: 83-94.
31. Cahill PA, Redmond EM. Vascular endothelium – Gatekeeper of vessel health. *Atherosclerosis*. 2016; 248: 97-109.
32. Gori T, Dragoni S, Di Stolfo G, Forconi S. "Endothelium and haemorrhology" *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*. 2007; 43(2): 124-129.
33. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and Its Alterations in Cardiovascular Diseases: Life Style Intervention. *BioMed Research International*. 2014; Article ID 801896, 28 pages.
34. Bauer V and Sotnikova R. Nitric oxide-the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions. *Gen. Physiol. Biophys*. 2010; 29: 319-340.
35. Ray DP, Huang BW and Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012; 24 (5): 981-990.

36. Park WH. The effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on cell death, reactive oxygen species and glutathione levels in calf pulmonary artery and human umbilical vein endothelial cells. *International Journal of Molecular Medicine*.2013; 31: 471-476.
37. Barlow RS, White RE. Hydrogen peroxide relaxes porcine coronary arteries by stimulating BK<sub>Ca</sub> channel activity. *Am J Physiol* 1998; 275: H1283-H1289.
38. Duman İ. İnsan Umbilikal Arterinde Hidrojen Perokside Bağlı Kasılma Cevaplarının Mekanizması ve Hipoterminin Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya, 2005 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necdet DOĞAN).
39. Pal Yu B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*. 1994; 74: 139-162.
40. Rodriguez-Martinez, MA, Garcia-Cohen, EC, Baena AB, Gonzalez R, Salaices M, Marin J. Contractile responses elicited by hydrogen peroxide in aorta from normotensive and hypertensive rats. Endothelial modulation and mechanism involved. *Br J Pharmacol*. 1998; 125: 1329-1335.
41. Lakomkin VL, Konovalova GG, Kalenikova EI, Zabbarova IV, Kaminyi AI, Tikhaze AK, Lankin VZ, Ruuge EK, Kapelko VI. Changes in antioxidant status of myocardium during oxidative stress under the influence of coenzyme Q<sub>10</sub>. *Biochemistry*. 2005; 70: 79-84.
42. Şahin AS, Görmüş N, Duman A. Preconditioning with levosimendan prevents contractile dysfunction due to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in human myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007; 50:419-423.
43. Duman İ, Doğan N. Vasoactive Effects of Oxidative Stress Elicited by Hydrogen Peroxide in the Human Umbilical Artery: An in Vitro Study. *Pharmacology & Pharmacy*. 2011; 2: 347-353.
44. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373-376.
45. Förstermann U and Sessa CW. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*. 2012; 33: 829-837.
46. Prof. Dr. Oğuz Kayaalp. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt 13. Baskı Pelikan Yayıncılık, 2012.
47. Adaramoye OA, Nwosu IO, Farombi EO. Sub-acute effect of N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl-ester (L-NAME) on biochemical indices in rats: Protective effects of Kolaviron and extract of *Curcuma longa* L. *Phcog Res*. 2012; 4: 127-33.
48. Rodriguez I and Gonzalez M. Physiological mechanisms of vascular response induced by shear stress and effect of exercise in systemic and placental circulation. *Front Pharmacol*. 2014; 5: 209.
49. Yoshimitsu N, Douchi T, Kamio M, Nagata Y. Differences in umbilical venous and arterial leptin levels by mode of delivery. *Obstetrics & Gynecology*. 2000; 96: 342-345.
50. Mouzo SH, Lepercq J, Catalano P. The known and unknown of leptin in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*. 2006; 194: 1537-1545.
51. Burma O, Ozcan M, Kacar E, Uysal A, Şahna E, Ayar A. In vitro effects of sodium nitroprusside and leptin on norepinephrine-induced vasoconstriction in human internal mammary artery. *Cardiovasc J Afr*. 2015; 26: 4-7.
52. Knudson JD and et al. Leptin receptors are expressed in coronary arteries, and hyperleptinemia causes significant coronary endothelial dysfunction. *Am J Physiol*. 2005; 289: H48- H56.



53. Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ and Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther.* 1981; 218: 739-749.
54. Papadopoulos DP, Makris TK, Krepsi PG, Poulakou M, Paizis IA, Hatzizacharias AN, Perrea D And Votteas VV. Human soluble leptin receptor number in healthy normotensive individuals with high normal blood pressure, *Am J Hypertens.* 2005; 18: 1001-1004.
55. Şahin AS, Barışkaner H. The mechanism of vasorelaxant effect of leptin on isolated rabbit aorta. *Fundamental & Clinical Pharmacology.* 2007; 21: 595-600.
56. Kimura K, Tsuda K, Baba A, Kawabe T, Boh-oka S, Ibata M, Morwaki C, Hano T, Nishio I. Involvement of Nitric Oxide in Endothelium-Dependent Arterial Relaxation by leptin. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2000; 273(2): 745-749.
57. Jamroz-Wishiewska A, Gertler A, Solomon G, Wood ME, Whiteman M, et al. Leptin-Induced Endothelium-Dependent Vasorelaxation of Peripheral Arteries in Lean and Obese Rats: Role of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide. *PLoS ONE.* 2014; 9(1): e86744
58. Momin AU, Melikian N, Shah AM, Grieve DJ, Wheatcroft SB, John L, El Gamel A, Desai JB, Nelson T, Driver C, Sherwood RA and Kearney MT. Leptin is an endothelial-independent vasodilator in humans with coronary artery disease: evidence for tissue specificity of leptin resistance, *Eur Heart J.* 2006; 27: 2294-2299.
59. Lembo G, Vecchione C, Fratta L, Marino G, Trimarco V, d'Amati G and Trimarco B. Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanism, *Diabetes.* 2000; 49: 293-297.
60. Nakagawa K, Higashi Y, Sasaki S, Oshima T, Matsuura H and Chayama K. Leptin Causes Vasodilation in Humans. *Hypertens Res* 2002; 25: 161-165.
61. Gomart S, Gaudreau-Menard C, Jaspers P, Dilek OG, Hupkens E, Hanthazi A, Naeije R, Melot C, Labranche N, Dewachter L, Entee KM. Leptin-Induced Endothelium-Independent Vasoconstriction in Thoracic Aorta and Pulmonary Artery of Spontaneously Hypertensive Rats: Role of Calcium Channels and Stores. *PLoS ONE.* 2017; 12(1): e0169205.
62. Juan CC, Chuang TY, Lien CC, Lin YJ, Huang SW, Kwok CF and Ho LT. Leptin increases endothelin type A receptor levels in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 294: E481- E487.

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılı Konya Meram doğumluyum. İlk ve orta öğretimimi Konya’ da tamamladıktan sonra 2011 yılında Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik bölümünden mezun oldum. Özel Karaman Mümine Hatun Hastanesi’ nde kısa süre hemşire olarak çalıştıktan sonra Konya Numune Hastanesi’ ne atandım. Selçuk Üniversitesi’ nde başladığım Tıbbi Farmakoloji yüksek lisans eğitimimi üniversitelerin ayrılması nedeniyle nakil olarak Necmettin Erbakan Üniversitesi’ de 2017 yılında tamamladım. Halen Konya Numune Hastanesi Genel Yoğun Bakım Servisi’ nde hemşire olarak çalışmaktayım.