

164249

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

**SOĞUK STRESİNE MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA DAMAR DÜZ
KAS AKTİVİTESİNİN YAĞ DOKUSU İLE İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESİN PEKER

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. NEŞE TUNÇEL

TEMMUZ -2005

KABUL VE ONAY SAYFASI

Esin PEKER'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı “Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Sıçanlarda Damar Düz Kas Aktivitesinin Yağ Dokusuyla İlişkisi” başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

05.07.2005

ÜYE

Prof. Dr. Ziya KAYGISIZ

ÜYE

Prof. Dr. Neşe TUNÇEL

ÜYE

Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

ÜYE

Prof. Dr. Kevser EROL

ÜYE

Doç. Dr. Yasemin AYDIN

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..07.07.2005.. tarih ve ...644/1906. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tezimin hazırlanmasında değerli bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, yakın ilgisini, desteğini ve sevgisini esirgemeyen sevgili danışman hocam Prof. Dr. Neşe Tunçel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Muzaffer Tunçel'e ve asistanı Erol Şener'e, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Firdevs Gürer'e, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gülgün Ozansoy'a, Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Zeynep Filiz'e, yüksek lisansa başladığım günden itibaren bilgileri ve sevgileriyle daima destek olan Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri sevgili hocalarıma teşekkür ederim.

Tanıştığımız günden bugüne her zaman yanımda olup beni sevgiyle destekleyen nişanlım Gökhan Kuş'a ve ailesine çok teşekkür ederim.

Sevgi ve ilgileriyle beni daima destekleyerek bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan biricik anneme, babama ve kardeşime gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	1
SUMMARY	3
GİRİŞ VE AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	7
GEREÇ VE YÖNTEM	16
BULGULAR	20
TARTIŞMA	27
SONUÇ	31
SİMGE VE KISALTMALAR	32
ŞEKİLLER DİZİNİ	33
TABLolar DİZİNİ	34
KAYNAKLAR DİZİNİ	35
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

Bu tez çalışmasında, soğuk stresine maruz bırakılan sıçanların interskapular kahverengi (KYD) ve karın içi beyaz (BYD) yağ dokularından, damarlar için gevşetici etki gösterebilen molekül veya moleküllerin salgılanıp salgılanmadığının bio-assay olarak, cinsiyet farkı da dikkate alınarak araştırılması amaçlanmıştır.

Deneyler; izole organ banyosu ve data acquisition sistemi kullanılarak, dişi ve erkek sıçanlardan izole edilen damar preparatlarının norepinefrine (NE) (10^{-8} – 10^{-3} M), KYD/BYD varlığı ve yokluğunda verdiği kümülatif kasılma yanıtlarının izlenmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde Sprague-Dawley cinsi (150-200 g), 24 adet (12 dişi, 12 erkek) sıçan kullanılmıştır. Deney grupları: Kontrol (dişi ve erkek); soğuk stresi uygulanan (dişi ve erkek) olmak üzere 4 grup şeklinde oluşturulmuştur. Soğuk stresi: Sıçanların, 5 gün boyunca günde 2'şer saat (8.00-10.00 saatlerinde) $+4^{\circ}\text{C}$ 'de kolayca hareket edebilecekleri bir kafes içinde tutulmaları ile oluşturulmuştur. Sıçanlar 5. günde servikal dislokasyonla öldürülüp thorasic aorta izole edilmiştir. Banyo ortamına ilave etmek için kahverengi ve beyaz yağ dokuları; stresli sıçanların karın içinden (beyaz) ve kürek kemiklerinin arasından (kahverengi), izole edilmiştir.

Kontrol grubu sıçanlardan elde ettiğimiz bulgularımız, dişi ve erkeklerin aort damarlarının NE için reseptör afinitesinin farklı olduğuna işaret etmektedir. Cinsiyete bağlı bu afinite farkı, soğuğa maruz bırakılan sıçanlardan çıkarılan KYD varlığında ortadan kalkarken, BYD için benzer bir etki gözlenmemiştir. Stres grubu sıçanlardan elde ettiğimiz sonuçlar, KYD ve BYD'nun dişi ve erkeklerin damarlarında farklı etkiye sahip olduğunu işaret etmektedir. KYD erkeklerin damarlarında NE reseptör sayısını azaltırken, BYD hem reseptör afinitesini hem de sayısını azaltmaktadır. Dişilerde ise KYD, erkeklerde BYD için elde edilen verilere benzer etki göstermektedir.

Sonuç olarak: Çalışmamız, soğuğa maruziyette yağ dokularının endokrin bir etki göstererek damarların NE'e verdikleri kasılma yanıtlarını etkileyebileceğini, damar düz kas aktivitesine sadece KYD'nun değil BYD'nun da etkili olabileceğini, erkeklerde BYD'nun, dişiler de ise KYD'nun daha etkili olabileceğini, soğuğa maruziyette gelişebilecek aşırı vazokonstriksiyona karşı yağ dokularının sınırlandırıcı bir görev üstlenebileceğini, işaret etmektedir.



Anahtar Kelimeler: Yağ dokusu, Kahverengi yağ dokusu, Beyaz yağ dokusu, Aorta, Soğuk maruziyeti, Adiposit kaynaklı gevşetici faktör, Stres.

SUMMARY

The aim of the present study, applying a bio-assay method and taking into account gender differences, was to investigate whether a relaxing molecule(s) release from inter-scapular brown adipose tissue (BAT) and abdominal white adipose tissue (WAT) of cold-stressed female and male rats.

Experiments were realised by using an isolated organ bath and data acquisition system. Aorta rings were mounted with or without BAT and WAT in the organ bath medium. Cumulative dose response curves to norepinephrine (NE) (10^{-8} – 10^{-3} M) were recorded.

In the experiment 12 females and 12 males Spraque-Dawley rats (150-200g) were used. Rats were divided into four groups: Controls (females and males); Cold-stressed (females and males). Cold stress procedure: The rats were exposed to a cold/freely moving stress for 2 h (from 8.00 to 10.00 h) each day for 5 consecutive days. Rats were put in a cage that they able to move freely and placed into refrigerator (+ 4° C). At the end of the exposure to cold on day 5, the rats were killed by cervical dislocation and thoracic aorta was excised. BAT and WAT isolated from inter-scapular and abdominal regions of stressed animals, respectively.

Data from control groups show that receptor affinity to NE is significantly different between females and males. Presence of BAT but not WAT in the bath medium disappeared gender differences to NE affinity. Results of cold-stressed groups indicate that the effect of BAT and WAT on isolated aortas of females and males was not similar. In the aorta of male rats, possibly, BAT reduces receptor density and WAT diminishes both receptor density and affinity to NE. On the other hand, similar results were observed in the aorta of females' rat when BAT put into the organs bath medium.

Conclusions: Our study suggests that adipose tissues may affect contractile responses of vessels to NE possibly by an endocrine pathway during exposure to cold. Not only BAT but also WAT can affect vascular smooth muscle activity. While the effect of BAT is more potent on the aorta of females, WAT has efficacious action on the aorta of males. Thus, it can be suggested that adipose tissue may set a limit to excessive cold-induced vasoconstriction.

Key Words: Adipose tissue, Brown adipose tissue, White adipose tissue, Aorta, Cold exposure, Adipocyte-derived relaxing factor, Stress.

GİRİŞ VE AMAÇ

Uzun yıllar pasif bir doku olarak kabul edilen yağ dokusunun bugün, aktif bir endokrin organ olduğu, normal fizyolojik homeostazis için gerekli çok sayıda biyoaktif molekülü salgıladığı kabul görmektedir. Yağ dokusundan salıverilen bazı moleküllerin vazoaaktif özellikte olduğu, dahası adipositlerin, ADRF [Adiposit kaynaklı gevşetici faktör (Adiposit-derived relaxing factor)] olarak adlandırılan bir molekül ile arteriyel tonusun düzenlenmesine katıldığı ileri sürülmektedir. Bu nedenle, yağ dokusunun damar düz kas aktivitesindeki rolü üzerine çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Bu bağlamda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalar, periadventitial kahverengi yağ dokusu sıyrılmış damarların norepinefrine (NE) verdiği cevaplarda artış olduğunu; yağ dokusunun, damar düz kasının vazoaaktif maddelere karşı yanıtlarını değişikliğe uğrattığını göstermektedir. Tüm çalışmalar periadventitial kahverengi yağ dokusunun parakrin etkisi üzerinde durmakta ve tartışmaktadır.

Stres, hücrelerin mikro çevre kimyasını nöronal, humoral ve lokal faktörlerle değişikliğe uğratan kompleks bir mekanizmadır. Bu nedenle, damarların vazoaaktif maddelere verdiği yanıtlar stres koşullarında değişebilmektedir. Strese neden olan etkenler çok çeşitlidir. Soğuğa maruziyet, soğukta hareketsiz kalmak bir çeşit stres uyarandır. Soğukta hareketsizlik stresine maruz bırakılan sıçanların aort damarlarının, NE'e verdiği yanıtlarda azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar periadventitial kahverengi yağ dokusu sağlam olan damarlarda elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Yapılan diğer bazı çalışmalarda soğuğa maruziyetin interskapular kahverengi yağ dokusunu arttırdığını bildirmektedir.

Damar düz kasları sadece periadventitial kahverengi yağ dokusundan parakrin değil, gerek interskapular kahverengi yağ dokusundan gerekse diğer organlarda bulunan beyaz yağ dokusundan kana salıverilen vazoaaktif maddelerden de etkilenebilirler. Böylece soğuğa maruziyetle artan interskapular kahverengi yağ dokusu ve bu dokudan salıverilen vazoaaktif moleküllerin aort düz kasının NE'e

verdiği cevaplardaki azalmadan kısmen de olsa sorumlu olabileceği düşüncesi gelişmiştir. Bu bağlamda tarafımızca yapılan incelemede,

- a) Soğuğa maruziyette damarların vazoaaktif maddelere verdiği yanıt değişiklikleri için ne periadventitial ne de damar dışı kahverengi yağ dokusu (KYD) ve beyaz yağ dokusu (BYD) ile ilişkilendirilmiş çalışmaya rastlanmamış olması,
- b) Dişi ve erkeklerde yağ dokusu oranlarının farklılığını dikkate alarak, damar yanıtlarının yağ dokusundan etkilenmesi bağlamında herhangi bir çalışmanın bulunmaması,
- c) Beyaz yağ dokusunun damar düz kas aktivitesi üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya da rastlanmamış olması nedeniyle,

bu tez çalışması planlanmıştır. Çalışmamızda, soğuk stresine maruz kalan dişi ve erkek sıçanların gerek kahverengi (interskapular) ve gerekse beyaz yağ dokularından (karın içi) damarlar için gevşetici özellikte bir molekül salgılanıp salgılanmadığının bio-assay yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır. Deneylerin sonucunda elde edilen verilerin bir ölçüde yağ dokusu ve damar düz kas aktivitesi arasındaki ilişkiye açıklık getireceğini ve yeni hipotezlere yol açacağını umuyoruz.

GENEL BİLGİLER

Kan basıncının ve dokuların kan akımının düzenlenmesi, damarların düz kas aktivitesinin çeşitli nöronal, humoral ve lokal faktörlerle değiştirilmesi ile gerçekleşmektedir. Yapılan araştırmalarla damarların aktivitesini düzenleyen faktörlere her gün bir yenisi ilave olmaktadır. Son yıllarda periaortik kahverengi yağ dokusundan ve genel anlamda yağ dokusundan salınan moleküller yoğun dikkat toplamaya başlamış ve bu moleküllerin etkileri üzerine yapılan araştırmalardan bir kısmı, yağ dokusundan salınan moleküllerin damar düz kas aktivitesini etkilediğini göstermiştir (9,13,14,22,28,32).

Yağ Dokusu (Adipoz Doku)

Bağ dokusunun özel bir tipi olan yağ dokusu, adiposit adı verilen hücrelerden oluşmaktadır. Normal ağırlıktaki bir insanda yağ dokusu vücut ağırlığının erkeklerde %15-20'sini, kadınlarda ise %20-25'ini oluşturmaktadır (1,12). Memelilerin çoğunda beyaz yağ dokusu (BYD) ve kahverengi yağ dokusu (KYD) olarak adlandırılan, birbirlerinden renk, dağılım, damarlanma ve metabolik aktivite açılarından farklılık gösteren, iki ayrı yağ dokusu bulunmaktadır (1,2,16).

Yağ dokusunda bulunan hücreler, yağ dokusunun tipine göre, hücre hacminin büyük bir kısmını dolduran tek bir yağ damlası içerirken, bazıları da çok sayıda küçük yağ damlacıkları içermektedir. BYD hücreleri tek ve büyük bir yağ damlası içeren, tek damlacıklı hücre tipinden oluşmaktadır. KYD'nun ise tipik olarak çok damlacıklı hücrelerden oluştuğu gözlenmektedir. Beyaz ve kahverengi yağ dokusunun renklerindeki farklılık, içerdikleri damar ve mitokondri miktarından kaynaklanmaktadır. KYD'nda zengin bir damar ağı ve yoğun mitokondri paketleri bulunmaktadır (1,2). BYD'nun damarlanması, KYD'na kıyasla azdır ancak BYD'nun her bir hücresi en azından bir kapillerle bağlantı kurmaktadır (2).

İnsanlarda BYD, birçok organ çevresinde ve deri altında geniş olarak yerleşirken, kalp, epikardium, perikardium, geniş kan damarları, büyük lenf nodülleri ve beyinde parasellüler bölgede küçük depo alanları şeklinde bulunmaktadır. KYD ise böbreklerin, adrenal bezlerin, aortun çevresinde, kürek kemiklerinin arasında ve boyunun içinde bulunmaktadır (6).

Yağ dokusunun genel olarak 3 önemli işlevi bulunmaktadır (10) :

- * Aşırı metabolik enerjiyi trigliserit şeklinde depolama.
- * Nöronal, endokrin ve metabolik kontrol altında depolanan trigliseritlerden enerji salınımı.
- * Çeşitli biyoaktif moleküller salgılayarak gerek lokal ve gerekse sistemik olarak fizyolojik olayları düzenleme.

Yağ hücrelerinin enerji depolama ve salınımındaki rolleri uzun yıllardan beri bilinmekte iken endokrin bir organ olarak sergiledikleri etki yeni yeni ortaya konmaktadır. Deri altında bulunan BYD bedende iyi bir yalıtıcı olarak görev yapmaktadır. Bu bağlamda sıcaklık izolasyonu etkinliği yağ dokusunun kalınlığı ile orantılı olmaktadır. Yağ dokusu, ayrıca iç organların etrafını sararak organların fiziksel sarsıntılara karşı korunmasını da sağlamaktadır (10).

Enerji deposu olan yağ dokusu, enerji alımı ile enerji kullanımı arasındaki herhangi bir dengesizlikte önemli tamponlama görevine sahiptir (2). Yağ hücrelerinde depo edilen yağın % 99'u trigliserid şeklindedir. Glukoz yağ hücrelerine girdiğinde gliserol fosfata dönüştürülmekte ve serbest yağ asitleri ile birleştirilerek trigliserid oluşturulmaktadır. Yağ hücreleri α_2 ve β_3 adrenerjik reseptörleri bulundurmaktadır. β_3 reseptörlerinin uyarılması trigliseritlerin parçalanmasını artırırken, α_2 reseptörlerinin uyarılması trigliserid depolanmasını arttırmaktadır. KYD'nda bulunan β_3 reseptörlerinin uyarılması ise termogenezis yoluyla ısı oluşumunu artırarak enerji tüketimine neden olmaktadır. Bu nedenle, sempatik sinir sisteminin uyarıldığı durumlarda BYD'nda lipoliz artırılırken, KYD'nda ısı üretimi artırılmaktadır. Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi BYD daha çok metabolik enerjiyi düzenlemede görev

alırken, KYD ısı enerjisini düzenlemede görev almaktadır. Çevresel sıcaklığın azaldığı ve besin alımının arttığı koşullarda KYD'nun aktivitesinin hızlandığı, bu artışa sempatik sinir sisteminin aracılık ettiği bildirilmektedir (4,15,25). Bilindiği gibi, sıcakkanlı hayvanlar, çeşitli fizyolojik sıcaklık düzenleyici mekanizmalar ile vücut sıcaklıklarını sabit tutma kapasitesine sahiptirler. Soğuk bir ortamda, sıcaklık düzenleyici cevaplardan en önemlisi, kahverengi yağ dokusunun etkinliği ile gerçekleşen titreme olmaksızın sıcaklık düzenlenmesidir (8). Normalde kış uykusuna yatmayan hayvanlarda kahverengi yağ dokusu metabolik olarak daha az aktifken, soğuğa maruziyet KYD'nu aktive etmektedir (2). Soğuk maruziyeti sempatik sinir sistemini de aktive ederek, damarlarda vazokonstriksiyonla ve iskelet kaslarındaki kasılmalara bağlı titremeye, beden sıcaklığını düzenlemektedir. Uzun süren soğuğa maruziyet durumlarında sempatik aktivitenin artışı beden sıcaklığının uzun süreli düzenlenmesi yönünde titreme olmaksızın termogenezis ile yapılmaktadır (20). Uzun süreli soğukla aktive olan sempatik sinir sistemi, KYD'nda bulunan β_3 adrenoseptörlerin aracılığıyla güçlü bir şekilde yağ dokusunu uyararak uncoupling protein-1 (UCP-1) aracılı termogenezle ısı üretimini arttırmaktadır (4,15,20).

Uzun zamandan beri, yağ dokusunun pasif olarak yağ depo eden, ısı kaybına karşı koruyucu bir tabaka oluşturan ve vücudun bazı bölgelerine mekanik destek sağlayan; ancak metabolik olarak hareketsiz bir doku olduğu sanılmaktaydı (1,11). Ancak yağ dokusu üzerine yapılan yeni çalışmalar, bu dokunun sadece lipitleri depolayan ve salgılayan bir enerji deposu olmadığını aynı zamanda adipokin olarak adlandırılan birçok bioaktif molekül salgıladığını göstermektedir (5,6). Yağ dokusu, yağ hücrelerine ilaveten fibroblastları, lökositleri, makrofajları ve preadiposit hücreleri de içermektedir (2). Yağ dokusunun biyoaktif molekülleri salgılayan ana birimleri adipositler ve fibroblastlardır. Yağ dokusundan salgılanan endokrin, parakrin ve otokrin etkiye sahip bu biyoaktif moleküller **adipokinler** veya **adipositokinler** olarak adlandırılmaktadır (Tablo 1). Yağ hücrelerinin ve yağ doku fibroblastlarının salgıladığı adipokinler; sitokinler, büyüme faktörleri, matriks proteinleri, hormonlar, enzimler ve komplement faktörlerinden oluşmaktadır. Adipokinler, lipid ve glukoz homeostazisindeki önemli etkilerine ilaveten, pleiokrin yolağı (endokrin, parakrin,

otokrin yolların ortak adı) kullanarak osteogenezde, hematopoezde, inflamasyonda, hemostazda, komplement aktivitesinde, üremede, anjiogenezde, hemoreoloji ve beslenme davranışlarının düzenlenmesinde de önemli etkiye sahiptir (6).

Tablo 1. Adipokinler (4,5,6,10,11).

Adenozin	Leptin
Adipsin	Monobütirin
Adipofilin	MIF
Adiponektin(adipoQ)	Nitrik oksit (NO)
Agouti protein	PAI-1
Anjiyotensinojen	Prostoglandinler(PG)
Asilasyon-uyarıcı protein(ASP)	Resistin
Apolipoprotein E (Apo E)	Sinir büyüme faktörü (NGF)
Bazal membran proteinleri	Steroidler
Damar endotel büyüme faktörü(VEGF)	Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF)
Doku faktörü	TNF- α
IGF-I	T3
IL-6	TGF β
İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF I)	Yağ asitleri
Komplement faktörler	

Adipokinlerin damar düz kas aktivitesi üzerine etkileri

Yağ dokusu damar düz kas aktivitesini ya salgıladığı vazoaktif ajanlarla direkt olarak ya da sempatik sinirlerce salıverilen nörotransmitterleri geri alma (reuptake) mekanizması ile indirekt olarak etkilemektedir (28). Yağ dokusundan salıverilen vazoaktif moleküller Tablo 2’de verilmiştir (13).

Tablo 2: Yağ dokusundan salıverilen vazoaktif moleküller (13).

MOLEKÜL	ETKİSİ
Vazokonstriktörler	
Anjiyotensinojen ve anjiyotensin II	Anjiyotensin AT ₁ reseptörlerinin uyarılması ile endotel hücrelerinden bağımsız vazokonstriksiyon.
Vazodilatörler	
Leptin	Endotel bağımlı ve endotelden bağımsız vazodilatasyon.
Prostaglandin I ₂	Endotelden bağımsız vazodilatasyon.
İnterlökin 6	Parankimal vazodilatasyon.
TNF- α	Endotel bağımlı ve endotelden bağımsız vazodilatasyon.
Adiponektin	Endotelde TNF- α inhibisyonu.
ADRF	Endotelden bağımsız vazodilatasyon.

Yapılan çalışmalar, yağ dokusu sıyrılmış damarların vazoaktif ajanlara yanıtlarının değiştiğini göstermiştir (9,13,14,22,28,32). Bir grup araştırmacı yağ dokusu sıyrılmış ve sağlam bırakılmış izole damar preparatları kullanarak yaptıkları çalışmalarda, intakt periadventitial yağ dokusunun kastırıcı ajanlara karşı damar cevabını azalttığını bildirmektedir (9,13,22,28,32). Buna karşın Gonzales ve arkadaşları ise yağ dokusu sıyrılmış damarlarda kasılma cevabının azaldığını bildirmişlerdir (14).

Soltis ve Cassis çalışmalarında izole aort preparatları kullanarak NE'e verilen cevap değişikliğini incelemişlerdir ve yağ dokusu sağlam olan damarlarda NE'e olan duyarlılıkta önemli bir azalma olduğunu gözlemişlerdir. NE'e karşı azalan bu damar cevabının NE uptake blokörü kullanılması ile ortadan kalkmış olmasını, NE'in yağ doku tarafından geri alınmasına bağlamışlardır (28). Ancak yağ dokusunun damar düz kas aktivitesi üzerine etkisi ile ilgili yapılan diğer çalışmalar, yağ dokusunun vazodilatör bir madde salgılayabileceğini ileri sürmektedir (9,13,22,32).

Verlohren ve arkadaşları, periadventitial yağ dokusu sıyrılmış ve sağlam bırakılmış izole mesenterik arter preparatları kullanarak yaptıkları çalışmada; yağ dokusu sağlam damarların serotonine, fenilefrine (FE) ve endotelin I'e verdikleri kasılma cevaplarında önemli bir azalma olduğunu bildirmişlerdir (32).

Löhn, Dubrovka, Gollasch ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar sonucunda yağ dokusundan vazodilatör bir maddenin salındığını ileri sürmekte ve ADRF olarak adlandırdıkları bu maddenin etki mekanizması ile ilgili veriler sunmaktadırlar (9,13,22). Löhn ve arkadaşları çalışmalarında intakt damarların anjiotensin II (ANGII), serotonin ve FE'e karşı kasılma cevaplarında perivasküler yağ dokusu sıyrılmış damarlara kıyasla azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu antikontraktıl etki, tirozinkinaz inhibitörü ve ATP bağımlı K⁺ kanal inhibitörü kullanılarak ortadan kaldırıldığı için, periadventitial yağ dokusundan salınan gevşetici maddenin, muhtemelen bu iki yolu kullanarak etkisini gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. İlaveten ADRF'nin gerek sentezinin ve gerekse etkisinin siklooksijenaz yolağına, sitokrom P450 yolağına, NO oluşumuna, adenozin reseptör aktivitesine, leptin reseptörlerinin varlığına bağlı olmadığını ve maddenin ısınmayla inaktif hale geldiğini bildirmektedirler (22). Dubrovka ve arkadaşları ise izole aort preparatı kullanarak yaptıkları çalışma sonucunda periadventitial yağ dokusundan ADRF'nin salınımının, olasılıkla Ca⁺⁺ iyonuna bağımlı olduğunu ve hücre içi sinyal yollarından tirozinkinaz ve proteinkinaz A aracılığıyla düzenlendiğini bildirmişlerdir (9). Gollasch ve arkadaşları ise ADRF molekülün özelliklerini şu şekilde bildirmişlerdir (13):

- * Periadventitial yağ dokusundan salıverilir.
- * Yağ dokusundan salıverilmesi ekstrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonuna bağlıdır.
- * Yağ dokusundan salıverilmesi tirozinkinaz yada proteinkinaz A inhibitörleri ile bloklanabilir.
- * Damar gevşetici etkisi, leptin reseptörlerinden, adenozin reseptörlerinden, vanilloid reseptörlerinden, kannabinoit reseptörlerinden ve kalsitonin gen-ilişkili peptit reseptörlerinden, siklooksijenaz yolağından, sitokrom P450 yolağından, nitrikoksit oluşumundan ve endotelden bağımsızdır.
- * ADRF ısı ile inaktive olur ve esansiyel yağ asit-serbest serum albumin ile adsorbe olmaz.

Yağ dokusunun damar düz kas kasılması üzerine etkisini araştırmak için yapılan bu çalışmalar, yağ dokusunun parakrin olarak gösterdiği vazodilatör etkiyi ortaya koymaktadır.

Stres maruziyetinin damar düz kas aktivitesi üzerine etkisi

Açlık, soğuk, enfeksiyon gibi canlıyı tehdit eden metabolik değişimlere adaptasyon için, nöroendokrin düzenleyiciler ve yağ doku sinyallerinin birlikte rol aldığı, lokal ve sistemik sinyaller bedenini sesini oluşturmaktadır (11). Stres koşullarına adaptasyon cevapları nöroendokrin ve nöroimmün reaksiyonları gerektirmektedir. Böylece stres, vasküler düz kasların, perivasküler sinirlerin, endotelin ve mast hücrelerinin fonksiyonlarında değişikliğe neden olmaktadır (30). Yapılan çalışmalarda stres koşullarında, damarların vazoaktif yanıtlarında değişiklikler olduğu bildirilmektedir (3,7,19,30). Tunçel ve arkadaşları 3 gün boyunca günde 3 saat hareketsiz bir şekilde soğuğa maruz bırakarak stres oluşturdukları sıçanların aort damar düz kaslarında vazopressin (VP), ANG II, NE için kasılma cevabının azaldığını bildirmişlerdir. Bu cevap azalmasına muhtemelen azalan reseptör ilgisinin, yoğunluğunun ya da azalan efektör ilgisinin neden olduğunu belirtmişlerdir (30). Bryar ve arkadaşları 5-15 hafta soğukta tutulan sıçanların aort

damar düz kaslarında FE ve NE için kasılma cevaplarında azalma yarattığını bildirmişlerdir (3). Cordellini ve arkadaşları da 15 gün boyunca, günde 1 saat kronik soğuk stresi ardından, 2 saatlik akut soğuk stresi uyguladıkları sıçanların damar cevaplarında NE'e karşı kasılmada azalma olduğunu bildirmişlerdir ancak bunun nedenini endotel bağımlı vazodilatörlere bağlamışlardır (7). Kim ve arkadaşları ise izole edilmiş aort preparatlarına uygulanan 42°C'lik ısı şokunun vasküler kasılmayı arttırdığını bildirmişlerdir (19). Sonuçta yapılan bu çalışmalar soğuk stresinin damar düz kas kasılma cevaplarında azalmaya sebep olduğunu göstermektedir.

Soğukla muamele sonrası sıçanlarda fizyolojik, farmakolojik ve biyokimyasal değişimler gözlenmektedir (29). Yapılan çalışmalarda soğuğa maruz bırakılan sıçanların KYD miktarlarının arttığı bildirilmiştir (8,23). Periadventitial KYD sağlam damarlarda görülen kasılma cevabı azalmasında olduğu gibi, soğuk stresine maruz bırakılmış sıçanların damar kasılma cevaplarındaki azalmadan, soğuğa maruziyet sonucunda artan kahverengi yağ dokusundan salıverilen moleküllerin sistemik etkilerinin de sorumlu olabileceği varsayılabilir.

Yağ dokusunun önemi

Yağ dokusu salgıladığı biyoaktif moleküllerle fizyolojik homeostazise katılırken, bu moleküllerin eksikliği ya da fazlalığı da vücutta birçok fonksiyon bozukluğuna alt yapı oluşturabilmektedir. Örneğin obezite, tüm dünyada giderek artan sıklığı, tip II diyabet ve kalp damar hastalıklarının gelişmesinde en önemli risk faktörü olması, birincil ve ikincil sağlık bakım giderlerine büyük bir yük oluşturması nedeniyle günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olarak görülmektedir (15,18). Obezite ve ona bağlı olan pek çok diğer patolojiyi yağ dokusunun kontrol ettiğine inanılmaktadır (16). Yağ dokusunun fazlalığının; koroner arter hastalığı, hipertansiyon, dislipidemi, tip 2 diyabet ve kanser riskini artırdığı bildirilmektedir (26). Arterioskleroz ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların patobiyolojisinde adipokinlerin nöroimmün etkilerinin olduğu düşünülmektedir (5,6). Son yıllarda birçok çalışma; insülin etkisi, metabolik parametrelerin ayarlanması ve enerji

dengesinin korunmasının düzenleyicisi olarak adipokinlerin rolüne işaret etmektedir (24). Leptin, adiponektin ve resistin enerji dengesinin sağlanmasında rol oynayan moleküller olarak ele alınmaktadır (26). Leptin beyne, besin depoları hakkındaki bilgiyi ileten en önemli ögedir. Plazmadaki leptin hipotalamustaki reseptörlerini etkileyerek besin alımını azaltmaktadır. Leptin geninin mutasyonları ve leptinin komple yetmezliği şiddetli obezite ile sonuçlanmaktadır (15,21). Leptin yetmezliği olan hastaya leptin uygulanması değerleri normale döndürüp hastayı giderek zayıflatmaktadır (15,31). Son zamanlarda keşfedilen iki adipokin olan adiponektin (adipoQ) ve resistin kas ve karaciğerde glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol alırlar (24). Araştırmalar obez hastalarda adiponektin seviyelerinin düşük olduğunu bildirmektedir (24,26). Çoğu çalışma kemirgenlerde ve insanlarda vücut kitle indeksi, plazma glukozu, insülin ve serum trigliseridlerinin artışına bağlı olarak adiponektin seviyelerinin azaldığını bildirmiştir. Sağlıklı bireylerde bazal plazma adiponektin seviyesinin azalması gelecekte insülin direnci gelişimi için altyapı oluşturmaktadır (24).

Obesitenin risk faktörü olduğu bir çok hastalık için lipodistrofi de eşit şiddette bir risk faktörüdür (26). Bu bağlamda, yağ dokusunun aşırılığında ve yoksunluğunda organizmanın normal fizyolojik dengesinin benzer patolojilere kaydığı anlaşılmaktadır. Bu bilgiler ışığında yağ dokusunun birçok fizyolojik mekanizmanın işleyişindeki kritik rolü ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bizim çalışmamızın da dahil edilebileceği, yağ dokusu üzerine yapılan ve yapılacak olan çalışmaların, yeni mekanizmaların aydınlatılmasında önemli olacağı düşünülmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları :

Deneylerde Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı hayvan laboratuvarında yetiştirilmiş Spraque-Dawley cinsi (150-200g), 12 dişi 12 erkek olmak üzere 24 adet sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar standart sanayi yemleri ve çeşme suyu ile beslenmiştir.

Gruplar :

- Grup I : Dişi kontrol (n = 6).
- Grup II : Erkek kontrol (n = 6).
- Grup III: Dişi stresli (n = 6).
- Grup IV: Erkek stresli (n = 6).

Stres Maruziyeti :

Soğuk stresi oluşturmak için sıçanlar, 5 gün boyunca günde 2'şer saat (8.00-10.00 arası) +4°C'de buzdolabında kolayca hareket edebilecekleri bir kafes içinde tutulmuştur. Kontrol grubu sıçanlar ise benzer kafes içinde aynı süre boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur.

Damarların İzolasyonu :

Soğuk stresine maruz bırakılan sıçanlar 5. günde servikal dislokasyon ile öldürülmüştür. Ayrıca her stresli hayvanla aynı anda oda sıcaklığında tutulan kontrol hayvanı yine servikal dislokasyon yoluyla öldürülmüştür. Öldürülen hayvanların göğüs bölgesi açılarak thoracic aorta titizlikle çıkarılıp hemen Krebs solüsyonu (NaCl: 118 mM/L, Glikoz: 10 mM/L, NaHCO₃: 25 mM/L, KH₂PO₄: 1,2 mM/L, KCl: 4,6 mM/L, MgSO₄.7H₂O: 1,2 mM/L, CaCl₂.2H₂O: 2,5 mM/L) içine alınmıştır.

Yağ Dokularının İzolasyonu :

Beyaz ve kahverengi yağ dokusu yalnızca strese maruz bırakılan hayvanlardan izole edilmiştir. Yağ dokularının her defasında eşit büyüklükte alınmasına dikkat edilmiştir.

Beyaz yağ dokusu, stresli hayvanın karın içinden 2 parça halinde izole edilip içinde 1 ml Krebs solüsyonu bulunan tüp içine alınmıştır.

Kahverengi yağ dokusu, stresli hayvanın kürek kemiklerinin arasından 2 parça halinde izole edilip içinde 1 ml Krebs solüsyonu bulunan tüp içine alınmıştır.

Damar preparatlarının hazırlanması ve deney protokolü:

Biri stresli hayvandan diğeri kontrol hayvanından olmak üzere çıkarılan iki thorasic aorta çevre dokulardan temizlenip, 2-3 mm'lik halka şeklinde kesilmiştir. Hazırlanan damar preparatları organ banyosunda (Schuler organ banyosu) 20 ml Krebs solüsyonu içeren iki ayrı bölüme asılmıştır. Böylece banyolardan birine kontrol sıçanından elde edilen damar, diğesine stresli sıçandan elde edilen damar asılmış olmaktadır. İzole organ banyosunun sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur ve banyoya % 95 O₂ - % 5 CO₂ gaz karışımı verilerek dokuların oksijenlenmesi sağlanmıştır. İzole organ banyosuna asılan damarlar 0,7 g gerim altında 15 dk arayla Krebs solüsyonu ile yıkanarak 45 dk boyunca bekletilerek dengede tutulmuştur. Bu sürenin sonunda öncelikle damarların asılı olduğu banyoya 100 mM KCl depolarize solüsyonu (27) (NaCl: 22,6 mM/L, Glikoz: 10 mM/L, NaHCO₃: 25 mM/L, KH₂PO₄: 1,2 mM/L, KCl: 98,8 mM/L, MgSO₄.7H₂O: 1,2 mM/L, CaCl₂.2H₂O: 2,5 mM/L) doldurulup 5 dk boyunca damarların kasılması kaydedilerek damarların çalışması kontrol edilmiştir. Bu süre sonunda banyo Krebs solüsyonu ile doldurularak damarlar tekrar 45 dk dinlendirilmiştir. Dinlenmeden sonra;

1. aşama; damarlara yağ dokusuz ortamda NE'in 10^{-8} – 10^{-3} M konsantrasyon aralığındaki dozları 2 dk arayla kümülatif olarak uygulanarak doz-cevap eğrisi elde edilmiştir. Ardından damarlar Krebs solüsyonu ile yıkayıp 45 dk dinlendirilmiştir. 45 dk sonunda banyolar 100 mM KCl depolarize solüsyonu ile doldurularak damarların kasılabilirliği kontrol edilmiştir. Damarlar tekrar 45 dk dinlendirilip 2. aşamaya geçilmiştir.
2. aşama; 45 dk dinlenmeden sonra aynı damarların bulunduğu banyo ortamına daha önce stresli sıçandan çıkarılmış olan KYD sallandırılarak NE'in 10^{-8} – 10^{-3} M konsantrasyondaki dozları 2 dk arayla kümülatif olarak uygulanmıştır. Böylece kontrol sıçanından ve stresli sıçandan elde edilen thorasic aortanın, KYD eklenmiş ortamda NE için doz-cevap eğrisi elde edilmiştir. Sonra damarlar Krebs solüsyonu ile yıkayıp 45 dk dinlendirilmiştir. 45 dk sonunda banyolar 100 mM KCl depolarize solüsyonu ile doldurularak damarların kasılabilirliği kontrol edilmiştir. Damarlar tekrar 45 dk dinlendirilip 3. aşamaya geçilmiştir.
3. aşama; aynı damarların bulunduğu banyo ortamına stresli sıçandan çıkarılmış olan BYD sallandırılarak NE'in 10^{-8} – 10^{-3} M konsantrasyondaki dozları 2 dk arayla kümülatif olarak uygulanmıştır. Böylelikle kontrol sıçanından ve stresli sıçandan elde edilen thorasic aortanın, BYD eklenmiş ortamda NE için doz-cevap eğrisi elde edilmiştir. Sonra damarlar Krebs solüsyonu ile yıkayıp 45 dk dinlendirilmiştir. 45 dk sonunda banyolar 100 mM KCl depolarize solüsyonu ile doldurularak damarların kasılabilirliği kontrol edilmiştir.

Sonuçta stres (dişi-erkek) ve kontrol (dişi-erkek) grubunun thorasic aorta preparatlarının; yağ dokusu eklenmemiş ortamda, KYD eklenmiş ortamda, BYD eklenmiş ortamda olmak üzere NE'in 10^{-8} – 10^{-3} M konsantrasyondaki dozları için doz-cevap eğrileri elde edilmiştir.

Damar düz kasının izometrik yanıtları; izole organ banyosunda (Hugo Sachs), izometrik çevireç kullanılarak data aquisition analiz sistemi (MP100 Biopak) ile eşleştirilerek kaydedilmiştir.

İstatistiksel değerlendirme:

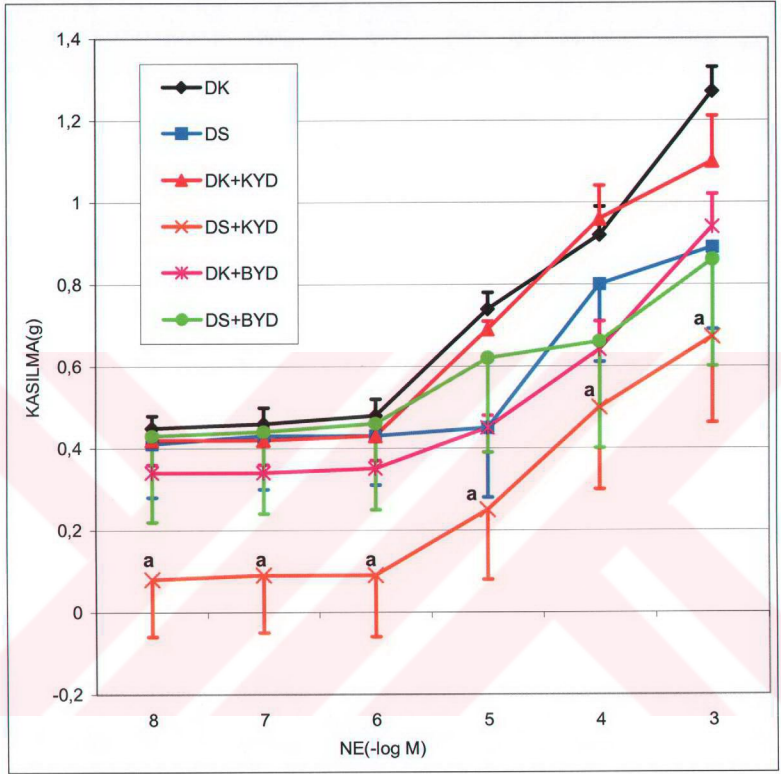
Kontrol gruplarının istatistiksel değerlendirilmesi ve pD₂ değerleri 1990-1993 GraphPad Software V2.04 a+ istatistik programında Student-Newman-Keuls çoklu karşılaştırma testi uygulanarak yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırma SPSS istatistik programı kullanılarak, iki yönlü varyans analiziyle değerlendirilmiştir. Grupların izole aort damar preperatlarının NE için kasılma cevapları ve reseptör afinitesini gösteren pD₂ değerleri ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir. P < 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

1. Dişi kontrol (DK) ve stres (DS) grubu sıçanlarda izole aort preperatlarının NE doz-cevap eğrileri ve yağ dokusunun etkisi

NE'in 10^{-8} - 10^{-3} M konsantrasyon aralığındaki doz-cevap eğrileri şekil 1'de gösterilmiştir. Strese maruziyet damarların 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlarda NE'e verdiği yanıtlarda DK grubuna kıyasla azalmaya neden olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde ortama BYD ilave edildiğinde DK ve DS grubuna ait damarların 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlarda NE'e verdiği yanıtlarda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir azalma gözlenmektedir.

Banyo ortamına stresli sıçanlardan çıkarılan BYD ve KYD ilavesi, kontrol grubunun damar yanıtlarında, anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. NE'e verilen yanıtlarda en belirgin azalma, strese maruz bırakılan sıçanların aorta preperatlarının bulunduğu banyoya KYD'nun ilavesi ile elde edilmiştir. KYD ilavesi, NE'nin tüm dozları için damar cevaplarını anlamlı olarak azaltarak doz-cevap eğrisini sağa kaydırmıştır. pD_2 değeri ise DK grubuna kıyasla anlamlı olarak artmıştır (Tablo 3).



Şekil 1: Dişilerde kontrol grubuna ve stresli gruba ait sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE (10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevap eğrisi.

Veriler grup ortalaması \pm standart hata şeklinde ifade edildi. DK: Dişi Kontrol, DS: Dişi Stresli, DK+KYD: Dişi Kontrol+ Kahverengi Yağ Dokusu, DS+KYD: Dişi Stresli+ Kahverengi Yağ Dokusu, DK+BYD: Dişi Kontrol+ Beyaz Yağ Dokusu, DS+BYD: Dişi Stresli+ Beyaz Yağ Dokusu.

a: Diğer tüm gruplardan anlamlı farklı ($P < 0.05$).

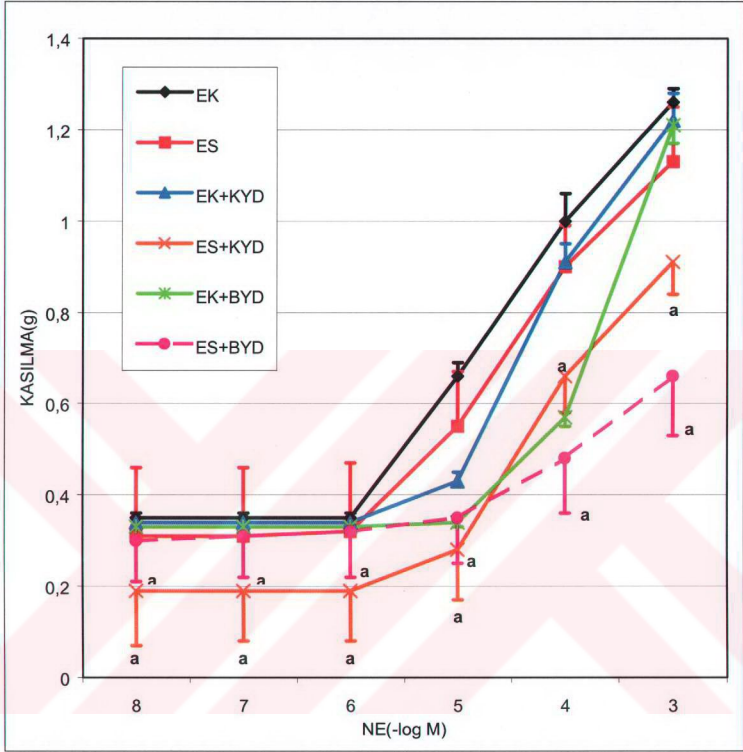
Tablo 3: Dişi sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 (-log EC_{50}) değerleri.

Grup	$pD_2 \pm SEM$	n
DK	7.10 ± 0.21	6
DS	6.14 ± 0.45	6
DK+KYD	6.37 ± 0.19	6
DS+KYD	$4.99 \pm 0.47^*$	6
DK+BYD	6.52 ± 0.20	6
DS+BYD	5.80 ± 0.68	6

* DK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklı. ($P < 0.05$)

2. Erkek kontrol (EK) ve stres (ES) grubu sıçanlarda izole aort preparatlarının NE doz-cevap eğrileri ve yağ dokusunun etkisi

NE'in 10^{-8} - 10^{-3} M konsantrasyon aralığındaki doz-cevap eğrileri şekil 2'de gösterilmiştir. Strese maruziyet damarların NE'e verdikleri kasılma yanıtlarında anlamlı olmamakla birlikte 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlarda azalmaya sebep olmuştur. Banyo ortamına yağ dokularının ilavesi EK grubunun damar yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. ES grubunun damar yanıtları ise ortama BYD ve KYD ilavesi ile değişerek EK ve ES grubuna kıyasla NE'in tüm dozları için anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. pD_2 değerinde anlamlı değişiklik ise BYD ilave edilen damarların yanıtlarında gözlenmiştir. Stresli grubun BYD ilave edilmiş damarlarının pD_2 değeri EK, ES ve EK+BYD grubuna kıyasla anlamlı olarak artmıştır (Tablo 4).



Şekil 2: Erkeklerde kontrol grubuna ve stresli gruba ait sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE(10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevab eğrisi.

Veriler grup ortalaması \pm standart hata şeklinde ifade edildi. EK: Erkek Kontrol, ES: Erkek Stresli, EK + KYD: Erkek Kontrol + Kahverengi Yağ Dokusu, ES + KYD: Erkek Stresli + Kahverengi Yağ Dokusu, EK + BYD: Erkek Kontrol + Beyaz Yağ Dokusu, ES + BYD: Erkek Stresli + Beyaz Yağ Dokusu.

a : EK ve ES grubundan anlamlı farklı. ($P < 0.05$).

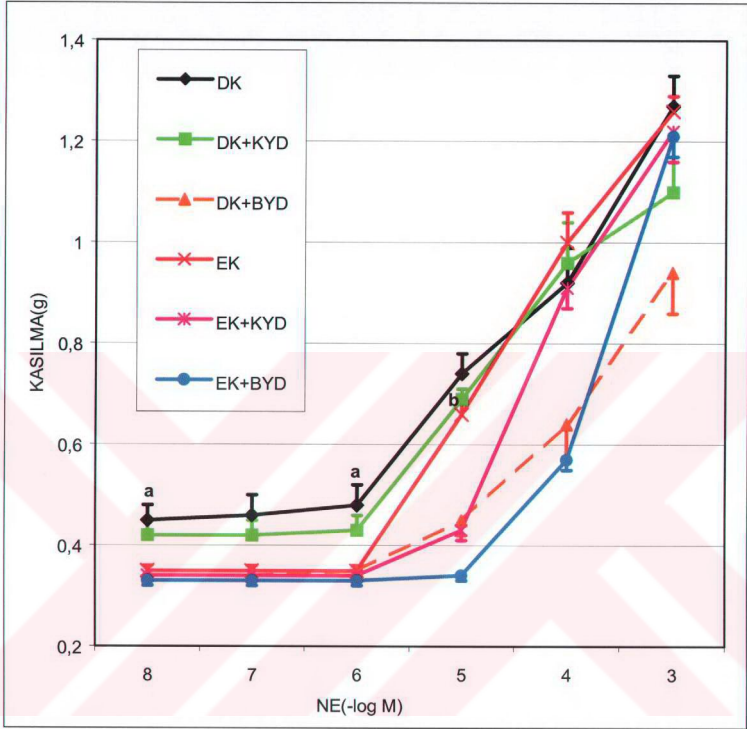
Tablo 4: Erkek sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri.

Grup	$pD_2 \pm SEM$	n
EK	6.45 ± 0.06	6
ES	5.63 ± 0.43	6
EK+KYD	6.08 ± 0.05	6
ES+KYD	5.29 ± 0.30	6
EK+BYD	5.79 ± 0.09	6
ES+BYD	$4.44 \pm 0.61^*$	6

* EK, ES, EK+BYD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklı. ($P < 0.05$)

3. Kontrol grubu dişi (DK) ve erkek (EK) sıçanlara ait damarların yanıtlarına yağ dokusunun etkisi

Dişi ve erkek sıçan izole aort damarlarının NE'in 10^{-8} - 10^{-3} M konsantrasyon aralığındaki dozlarına verdiği kasılma cevapları şekil 3'de gösterilmiştir. 10^{-8} ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda, EK grubu sıçanların aort preperatlarının NE kasılma cevapları DK grubuna kıyasla anlamlı düşük bulunmuştur. Bu eğrilerin pD_2 değerleri arasında da anlamlı fark gözlenmiştir (Tablo 5). Kontrol grubu sıçanların aort preperatlarının bulunduğu banyoya KYD'nun ilavesi damarların 10^{-5} M NE'ye verdiği cevapları erkeklerde dişilere kıyasla anlamlı azaltmıştır. Kontrol grubu sıçanların aort preperatlarının bulunduğu banyoya BYD'nun ilavesi erkeklerde eğriyi sağa kaydırarak pD_2 değerini dişilere kıyasla anlamlı arttırmıştır (Tablo 5).



Şekil 3: Kontrol grubu dişi ve erkek sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE(10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevap eğrisi.

Veriler grup ortalaması \pm standart hata şeklinde ifade edildi. DK: Dişi Kontrol, DK+KYD: Dişi Kontrol+ Kahverengi Yağ Dokusu, DK+BYD: Dişi Kontrol+ Beyaz Yağ Dokusu, EK: Erkek Kontrol, EK + KYD: Erkek Kontrol + Kahverengi Yağ Dokusu, EK + BYD: Erkek Kontrol + Beyaz Yağ Dokusu.

a: EK grubundan anlamlı farklı.($P < 0.05$).

b: EK+KYD anlamlı farklı.($P < 0.05$).

Tablo 5: Kontrol grubu dişi ve erkek sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri.

Cinsiyet	Grup	$pD_2 \pm SEM$	n
Dişi	DK	$7.10 \pm 0.21^*$	6
	DK+KYD	6.37 ± 0.19	6
	DK+BYD	$6.52 \pm 0.20^{**}$	6
Erkek	EK	6.45 ± 0.06	6
	EK+KYD	6.08 ± 0.05	6
	EK+BYD	5.79 ± 0.09	6

* EK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklı. ($P < 0.05$).

** EK+BYD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklı. ($P < 0.05$).

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonuçları, soğuğa maruz bırakılan sıçanların kürek kemikleri arasından KYD, karın içinden BYD çıkarılarak, izole aort preparatlarının bulunduğu banyo ortamına sallandırılmasıyla elde edilmiştir. Bu nedenle bulgularımız, soğuğa maruziyette interskapular ve karın içi yağ dokularının endokrin bir yolakla damar düz kas aktivitesini etkileyebileceğine işaret etmektedir. Bu iki yağ dokusunun varlığında damar düz kas aktivitesinde gözlenen azalmadan, olasılıkla periadventitial yağ dokusundan salıverildiği diğer araştırmacılarla ileri sürülen, gevşetici bir molekülün veya farklı diğer moleküllerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir. İlaveten, çalışmamız, BYD ve KYD'nun dişi ve erkeklerin damarlarının NE'e verdiği yanıtları farklı etkilediğini de göstermektedir.

Periadventitial KYD sıyrılmış ve sağlam bırakılmış izole aort preparatları kullanılarak yapılan çalışmalar, yağ dokusunun damar düz kas kasılmasını azalttığını göstermiştir (9,22,28,32). Araştırmacılar, NE, ANG II, serotonin, FE, ve endotelin I gibi çeşitli kastırıcı maddelerle yaptıkları çalışmalarda, periadventitial yağ dokusu varlığında damar yanıtlarının azaldığını göstermişlerdir (9,22,32). Damar yanıtlarında ortaya çıkan bu cevap azalmasının nedenleri farklı şekillerde açıklanmaya çalışılmıştır. Bir grup araştırmacı, nörotransmitterlerin etkilerinin sona erdirilmesinde en önemli faktörlerden biri olan geri alınma mekanizmasını öne sürmüştür (12,28). Yağ dokusu sıyrıldığı zaman periadventitial alanda bulunan sinir sonlanmalarının da birlikte sıynılması nedeniyle, NE geri alımının yapılamadığı savunulmuştur (28). Bir grup araştırmacı ise yağ dokusu kaynaklı gevşetici bir molekül üzerinde (ADRF) durmuşlardır (9,13,22,32). NE'e ilaveten, geri alma mekanizmasına uğramayan kastırıcı maddelerle yapılan deneylerde de yağ dokusu varlığında cevap azalması gözlenmesi sonucunda, geri alma mekanizmasından vazgeçilerek yağ dokusundan salıverilen gevşetici bir molekülün varlığında yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaları takiben Löhn ve arkadaşları periadventitial KYD'ndan ADRF adını verdikleri gevşetici bir molekülün salındığını bildirmişlerdir (22). Bizim çalışmamız da benzer etkide bir

molekölün veya moleküllerin periferik yağ dokularından da salıverildiğine işaret eden bulgulara sahiptir.

Araştırmalar, soğuğa maruziyetin KYD kitlesini artırdığını göstermiştir (8,23). KYD kitlesinin soğukta artışının ısı düzenlenmesine yönelik olduğu ileri sürülmüştür (8,23). Soğukta artan sempatik aktivite bir taraftan KYD'nu aktive ederken diğer taraftan vazokonstriksiyona da sebep olmaktadır. Bizim bulgularımız doğrultusunda, soğukta artan KYD kitlesinin ısı düzenlenmesine ilaveten damarların noradrenerjik cevabını sınırlandırma gibi bir etkisinin olabileceği de akla gelmektedir. Çalışmamızda ayrıca, KYD'na ilaveten BYD'nunda benzer etkiye sahip olabileceği gözlenmiştir. Soğuk uygulamasının tersine, ısı şoku uygulanan izole aort preparatlarında KCl'e verilen kasılma yanıtlarının arttığı bildirilmiştir (19). ADRF molekülünün ısınma ile inaktive olduğu gözlenmiştir (13). Bu nedenle adiposit kaynaklı gevşetici molekülün etkisinin sıcaklık artışı ile azalması, olasılıkla KCl'ye verilen yanıtlardaki artıştan sorumlu olabilir. Bizim ve diğer araştırmacıların verileri ışığında, gerek KYD ve gerekse BYD'nun ısı düzenlenmesi sırasında damar yanıtlarını etkileyebilecekleri, soğukta gelişebilecek aşırı vazokonstriksiyona bağlı dolaşım bozukluklarını sınırlandırmada yağ dokusunun önemli olabileceği düşüncesi oluşmaktadır.

Soğukta akut-kronik hareketsizlik stresine maruz bırakılan hayvanların damarlarının NE'e verdiği yanıtlarda kontrollere kıyasla anlamlı azalmalar olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (3,7,30). Bu çalışmalarda NE'e verilen yanıtlardaki azalmanın nedeni, adrenerjik reseptörlerin afinitesinin ve sayısının azalmasıyla açıklanmıştır. Bizim sonuçlarımız, NE için gelişen reseptör afinitesinin ve sayısının azalmasında periferik yağ dokusunun endokrin bir etkisinin de var olabileceğini gündeme getirmektedir. Spekülatif olmakla birlikte, bu savımız, soğukta KYD kitlesindeki artışı bildiren çalışma dikkate alındığında, güçlenmektedir.

Bu çalışmada, sıçanlara 5 gün boyunca günde 2 saat +4°C soğukta-hareketlilik stresi uygulanmıştır. Soğuk maruziyeti, aort damarının NE cevaplarında

bir miktar düşme yaratmıştır ancak kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunamamıştır. Bununla birlikte Tunçel ve arkadaşları, 3 gün boyunca günde 3 saat soğukta hareketsizlik stresi uyguladıkları sıçanların, NE için aort damar cevaplarında kontrole kıyasla anlamlı azalma olduğunu bildirmişlerdir (30). Bizim bu çalışmamızda, Tunçel ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaya kıyasla NE yanıtlarında anlamlı bir azalma görülmemesinin nedeni, olasılıkla deneklerin soğukta hareket yeteneklerinin kısıtlanmamış olmasıdır.

Periadventitial yağ dokusunun damar düz kas yanıtlarını azalttığını bildiren çalışmaların tersine, Gonzales ve arkadaşları ise iliak ve carotis arterde yağ dokusunu sıyırarak yaptıkları çalışmada, yağ dokusuz damarlarda cevap azalması gözlediklerini bildirmişlerdir (14). Ancak bu araştırmacılar damar etrafındaki yağ dokusunu sıyırmak için kimyasal bir ajan kullanmışlardır. Kullanılan kimyasalların, adventitiayı sıyırırken düz kas hücrelerinin aktivitesinde değişikliğe yol açıp açmadığı ise sorguya açıktır.

Çalışmamızda dişi ve erkek kontrollere ait damarların NE için pD_2 değerleri farklı bulunmuştur. Erkek kontrol damarlarının pD_2 değerinin dişilere kıyasla düşük olması, dişilere ait damarların NE'e olan reseptör afinitesinin yüksek olduğuna işaret etmektedir (17). Bu afinite farkının BYD varlığında devam ederken KYD'nun varlığında ortadan kalkması ise KYD'nun dişilerin damarlarında daha etkili olarak nöradrenerjik reseptör afinitesini azalttığına işaret etmektedir.

Soğuğa maruz bırakılan erkek sıçanların damar preperatlarında, KYD'nun NE'in maksimum dozlarındaki cevaplarını azaltması buna karşın pD_2 değerini anlamlı değiştirmemesi, erkeklerin aort damarlarında KYD'nun NE reseptör sayısını azalttığına işaret etmektedir (17). Buna karşın BYD varlığında, soğuğa maruz bırakılan erkeklerin aort damarlarının NE'in maksimum dozlarına verilen cevabın azalmasına ilaveten pD_2 değerinin de anlamlı azalması; BYD'nun erkeklerin aort damarlarında hem reseptör afinitesini hem de reseptör sayısını azaltma yoluyla güçlü bir etki gösterdiğine işaret etmektedir. Soğuğa maruz bırakılan dişilerin damarlarında

ise KYD'nun hem NE'in maksimum dozlardaki cevabında hem de pD_2 değerinde anlamlı azalmaya neden olması; dişilerde de KYD'nun aort damarlarında hem reseptör afinitesini hem de reseptör sayısını azaltarak güçlü bir etki gösterdiğine işaret etmektedir. Bunlar çalışmamızın önemli ve çarpıcı bulguları olup gerek damarların NE'e verdiği cevaplarda gerekse bu cevapların yağ dokusu tarafından değiştirilmesinde, cinsiyete bağlı farklılığa dikkat çekmektedir.



SONUÇ

Yağ dokusunun parakrin olarak damar düz kas aktivitesini düzenlediğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bizim çalışmamız ise soğuk stresine maruz bırakılan sıçanların yağ dokularının endokrin olarak damar cevaplarında olası bir etkiye sahip olabileceğini, cinsiyete bağlı bir cevap farklılığının oluşabileceğini, soğuğa maruziyette gelişebilecek aşırı vazokonstriksiyona yağ dokusunun fren etkisi olabileceğini, KYD'na ilaveten BYD'ndan da salıverilen moleküllerin devrede olabileceğini göz önüne sermektedir. Elde edilen veriler, yağ dokusunun dolaşım sisteminin işleyişini düzenleyen sistemlere dahil edilebileceğinin işaretini vermektedir.



SİMGE ve KISALTMALAR

- * ADRF Adiposit kaynaklı gevşetici faktör.
- * KYD Kahverengi yağ dokusu.
- * BYD Beyaz yağ dokusu.
- * UCP-1 Uncoupling protein.
- * NE Nörepinefrin.
- * FE Fenilefrin.
- * ANG II Anjiyotensin II.
- * VP Vazopressin.

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1: Dişilerde kontrol grubuna ve stresli gruba ait sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE (10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevap eğrisi. 21
- Şekil 2: Erkeklerde kontrol grubuna ve stresli gruba ait sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE(10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevap eğrisi. 23
- Şekil 3: Kontrol grubu dişi ve erkek sıçan izole aort damarlarının yağ dokusu eklenmemiş ortamda, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu eklenmiş ortamda NE(10^{-8} - 10^{-3} M) için doz-cevap eğrisi. 25

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Adipokinler.	10
Tablo 2: Yağ dokusundan salınan vazöaktif moleküller.	11
Tablo 3: Dişi sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri.	22
Tablo 4: Erkek sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri.	24
Tablo 5: Kontrol grubu dişi ve erkek sıçan izole aort damarlarının NE için pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri.	26

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. AKAY. MT. : Genel Histoloji, 5. Baskı, Palme Yayıncılık. Ankara. (2001).
2. ALBRIGHT AL, STERN JS, Adipose tissue In: Encyclopedia of sports medicine and science. (1998). www.sportsci.org/ency/adipose/adipose.html
3. BRYAR BA, FREGLY MJ, FIELD FP, Changes in Vascular Responsiveness Following Chronic Exposure to Cold in the Rat, *J Appl Physiol.* 55(3): 823-829 (1983).
4. CANNON B, NEDERGAARD J, Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance, *Physiol Rev.* 84: 277-359 (2004).
5. CHALDAKOV GN, FIORE M, HRISTOVA M, STANKULOV IS, TRIACA V, GHENEV PI, ALOE L, Adipose Tissue-Secreted Molecules (Adipokines): Neuroimmune Implications, Clinical Application of Immunological Investigations. 1: 11-16 (2000).
6. CHALDAKOV GN, STANKULOV IS, HRISTOVA M, GHENEV PI, Adipobiology of Disease: Adipokines and Adipokine-Targeted Pharmacology, *Curr Pharm Des.* 9(12): 1023-1031 (2003).
7. CORDELLINI S, VASSILIEFF VS, Decreased Endotelium-Dependent Vasoconstriction to Noradrenaline in Acute-Stressed Rats is Potentiated by Previous Chronic Stress: Nitric Oxide Involvement, *Gen. Pharmac.* 30(1): 79-83 (1998).
8. DALO NL, LOPEZ-ORTEGA AA, MOUSSATCHE H, The Growth of Brown Adipose Tissue in Cold-Acclimatized Rats After Depletion of Mast

Cell Histamine by Compound 48/80, Mem Inst Oswaldo Cruz. 93(2): 215-217 (1998).

9. DUBROVSKA G, VERLOHREN S, LUFT FC, GOLLASCH M, Mechanisms of ADRF Release From Rat Aortic Adventitial Adipose Tissue, Am J Physiol Heart Circ Physiol. 286(3): 1107-1113 (2004).
10. FLIER JS, FOSTER DW, Williams Textbook of Endocrinology, (WILSON JD, FOSTER DW, KRONENBERG HM, LARSEN PR, ed.) Vol: 9, 1061-1083, W.B. Saunders Company, United States of America, (1998).
11. FRUHBECK G, GOMEZ-AMBROSI J, MURUZABAL J, BURRELL MA, The Adipocyte: a Model for Integration of Endocrine and Metabolic Signaling in Energy Metabolism Regulation, Am J Physiol Endocrinol Metab. 280(6): 827-847 (2001).
12. GANONG, WF. : Review of Medical Physiology, Twenty-first edition, University of California, San Francisco, (2003).
13. GOLLASCH M, DUBROVSKA G, Paracrine Role for Periadventitial Adipose Tissue in the Regulation of Arterial Tone, Trends Pharmacol. Sci. 25(12): 647-653 (2004).
14. GONZALES MC, ARRIBAS SM, MOLERO F, FERNANDEZ-ALFONSO MS, Effect of Removal of Adventitia on Vascular Smooth Muscle Contraction and Relaxation, Am J Physiol Heart Circ Physiol. 280: 2876-2881 (2001).
15. GÜLTEKİN H, ŞAHİN S, BUDAK N, Beslenme Davranışı: Farmakolojik Hedef Moleküller, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 13(1)77-87 (2004).

16. HOTAMIŞLIGİL, GS. : Yağ Hücresi Gelişimi ve Enerji Metabolizmasının Kontrol Mekanizmaları, 1. baskı, TÜBA Forumu Dizisi, Ankara, (2002).
17. KATZUNG, BG. : Basic and Clinical Pharmacology, Third Edition, University of California, San Francisco, (1987).
18. KAYA A, Obezite ve Hipertansiyon, Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism. 7 (2003).
19. KIM Y, KIM J, KIM M, BAEK W, KIM I, Effect of Heat Shock on the Vascular Contractility in Isolated Rat Aorta, J Pharmacol. Toxicol. 42: 171-174 (1999).
20. KING VL, DWOSKIN LP, CASSIS LA, Cold Exposure Regulates the Norepinephrine Uptake Transporter in Rat Brown Adipose Tissue. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 276(1):143-151 (1999).
21. KUŞ, G. : Leptin Hormonunun Glia Hücreleri Üzerindeki Olası Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir (2004).
22. LOHN M, DUBROVSKA G, LAUTERBACH B, LUFT FC, GOLLASCH M, SHARMA AM, Periadventitial Fat Releases a Vascular Relaxing Factor, FASEB J. 16:1057-1063 (2002).
23. MORRONI M, BARBATELLI G, ZINGARETTI MC, CINTI S, Immunohistochemical, Ultrastructural and Morphometric Evidence for Brown Adipose Tissue Recruitment due to Cold Acclimation in Old Rats, Int J Obes Relat Metab Disord. 19(2): 126-131 (1995).

24. NAWROCKI AR, SCHERER PE, The Delicate Balance Between Fat and Muscle: Adipokines in Metabolic Disease and Musculoskeletal Inflammation, *Curr Opin in Pharmacol.* 4: 281-289 (2004).
25. NOYAN, A. : Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, 8. Baskı, Meteksan. Ankara. (1993).
26. RAJALA MW, SCHERER PE, Minireview: The Adipocyte-At the Crossroads of Energy Homeostasis, İnflammation and Atherosclerosis, *Endocrinology.* 144(9): 3765-3773 (2003).
27. SALOMONE S, CARUSO A, CUTULI VM, MANGANO NG, PRATO A, AMICO-ROXAS M, BIANCHI A, CLEMENTI G, Effects of Adrenomedullin on the Contraction of Gastric Arteries During Reserpine-Induced Gastric Ulcer, *Peptides* 24: 117-122 (2003).
28. SOLTIS EE, CASSIS LA, Influence of Perivascular Adipose Tissue on Rat Aortic Smooth Muscle Responsiveness, *Clin Exp Hypertens.* 13: 277-296 (1991).
29. SUNDIN U, MOORE G, NEDERGAARD J, CANNON B, Thermogenin Amount and Activity in Hamster Brown Fat Mitochondria: Effect of Cold Acclimation, *Am J Physiol.* 252(5): 822-832 (1987).
30. TUNÇEL N, ERKASAP N, ŞAHİNTÜRK V, The Effect of Stress and In Vivo Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Treatment on the Response of Isolated Rat Aorta to Norepinephrine, Angiotensin II and Vasopressin, and Adventitial Mast Cells, *Stress.* 3(4): 299-308 (2000).
31. TURAL Ü, Oreksinler ve Yeme Davranışının Kontrolü, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni.* 10(3): 160-164 (2000).

32. VERLOHREN S, DUBROVSKA G, TSANG SY, ESSIN K, LUFT FC, HUANG Y, GOLLASCH M, Visceral Periadventitial Adipose Tissue Regulates Arterial Tone of Mesenteric Arteries, *Hypertension*. 44(3): 271-276 (2004).



ÖZGEÇMİŞ

25.09.1981 tarihinde Eskişehir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Eskişehir’de tamamladı. 2002 yılında Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden, 2004 yılında Fen Bilimleri enstitüsü’ne bağlı Tezsiz Yüksek Lisans Biyoloji Öğretmenliğinden mezun oldu. Halen 2002 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda almaya başladığı yüksek lisans öğrenimini sürdürmektedir.

