



T. C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PİNEALEKTOMİZE SIÇANLARDA YAĞ DOKUNUN SEPSİSE
ENDOKRİN YANITININ ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Hanife BÜLBÜL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Metehan UZUN

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE 2019



T. C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PİNEALEKTOMİZE SIÇANLARDA YAĞ DOKUNUN SEPSİSE
ENDOKRİN YANITININ ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Hanife BÜLBÜL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Metehan UZUN

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE 2019

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Fizyoloji

Programın Seviyesi :Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Fizyoloji

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Hanife BÜLBÜL

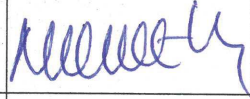




Tez Başlığı : Pinealektomize Sıçanlarda Yağ Dokunun Sepsise Endokrin Yanıtının
Araştırılması

Sınav Yeri : Tıp Fakültesi

Sınav Tarihi : 28.01.2019

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Metehan UZUN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof. Dr. İsmail MERAL	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hakan TÜRKÖN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Dr. Öğr. Üyesi R. Özlem ÖZTOPUZ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans/Doktora Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Çanakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences

Programme Name : Physiology

Programme Level : Master of Science (X) Doctor of Philosophy ()

Department : Physiology

Student Name and Surname: Hanife BULBUL

Title of the Thesis : Investigation of the endocrine responses of adipose tissue to sepsis in pinealectomised rats

Examination Place : Faculty of Medicine

Examination Date : 28/01/2019

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science of Philosophy Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof. Dr. Metehan UZUN	Çanakkale Onsekiz Mart University	
Members of Examination Jury (Titles and Names)		
Prof. Dr. İsmail MERAL	Bezmialem Vakif University	
Assist. Prof. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU	Çanakkale Onsekiz Mart University	
Assist. Prof. Dr. Hakan TÜRKÖN	Çanakkale Onsekiz Mart University	
Assist. Prof. Dr. R. Özlem ÖZTOPUZ	Çanakkale Onsekiz Mart University	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated and numbered

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen 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, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8'de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 28. 01. 2019

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Hanife BÜLBÜL

İmza:



ÖZET

Son yıllarda, yağ dokusundan salgılanan hormonların sepsis gibi inflamatuvar süreçleri etkilediği gösterilmiştir. Melatonin ise hem yağ doku hem de inflamatuvar süreçleri etkileyen bir hormondur. Bu nedenle, çalışmada, melatoninin septik sıçanlarda yağ dokunun endokrin fonksiyonları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

Bu amaçla, Wistar Albino sıçanlardan SHAM, PLT-CLP ve SHAM PLT-CLP olarak üç ayrı grup oluşturuldu. PLT-CLP grubuna hem pinealektomi operasyonu (PLT) yapıldı hem de çekumun delinmesi ile (CLP) sepsis modeli oluşturuldu. CLP uygulaması sonrası her gruptan, 12. ve 24. saatlerde rastgele 6 sıçan seçildi ve yağ dokusunda leptin, adiponektin, resistin ve visfatin gen ekspresyonu değerleri belirlendi.

Elde edilen sonuçlara göre; CLP yapılan gruplarda resistin gen ekspresyon seviyelerinde anlamlı artışlar belirlendi. Adiponektin gen ekspresyon düzeyleri SHAM grubu ile karşılaştırıldığında, PLT-CLP grubunda 12. saatte, SHAM PLT-CLP grubunda ise 24. saatte azaldı. Leptin gen ekspresyon seviyelerinde ise PLT yapılan gruplarda SHAM ile karşılaştırıldığında 12. ve 24. saatlerde artış gözlemlendi. Visfatin gen ekspresyon seviyelerinde ise 12. saatte CLP yapılan her iki grupta da anlamlı azalmalar belirlendi.

Sonuç olarak, yağ dokusunda leptin, resistin, adiponektin ve visfatin gen ekspresyonlarındaki değişikliklerin PLT yerine sepsis ile daha yüksek düzeyde bir ilişki gösterdiği bu nedenle fizyolojik düzeylerde salgılanan melatoninin bu sonuçları anlamlı şekilde etkilemediği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, adiponektin, leptin, resistin, visfatin, sepsis, sıçan.

ABSTRACT

Investigation of the endocrine responses of adipose tissue to sepsis in pinealectomised rats

In recent years, hormones secreted from adipose tissue have been shown to affect the inflammatory processes such as sepsis. On the other hand, melatonin is a hormone that affects both adipose tissue and inflammatory processes. Therefore, it was aimed to determine the effect of melatonin on endocrine functions of adipose tissue in sepsis.

Rats were divided into three distinct groups as SHAM, PLT-CLP and SHAM PLT-CLP. PLT-CLP group underwent both pinealectomy (PLT) and cecal ligation puncture (CLP) sepsis model. Six rats were randomly selected at 12th and 24th hours in experiment from each groups and leptin, adiponectin, resistin and visfatin gene expression values were determined in adipose tissue.

The resistin gene expression levels were considerably increased in treatment groups. Adiponectin gene expression level decreased at 12th hour in PLT-CLP and 24th hour in SHAM PLT-CLP group. Leptin gene expression levels were increased at 12th and 24th hours in PLT-CLP group compared to SHAM. The statistically significant decreases were observed in visfatin gene expression level at 12th both in CLP groups.

As a result, changes in leptin, resistin, adiponectin and visfatin gene expressions in adipose tissue were found to be related to sepsis rather than PLT and it was understood that melatonin secreted at physiological levels did not significantly affect these outcomes.

Key words: Melatonin, adiponectin, leptin, resistin, visfatin, sepsis, rat.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen yapıcı ve yönlendirici özellikleri ve bilgi, tecrübe ve katkıları ile bana daima yol gösteren öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Metehan UZUN 'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince yardım ve birikimlerinden yararlandığım Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU' na teşekkür ederim.

Tanıdığım en harika insanlardan biri olan, iyi niyetine ve dostluğuna hayran olduğum, yardım ve desteğini hiç esirgemeyen canım arkadaşım Aysun ÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Eğitim öğretimim sırasında ve deneysel çalışmam süresinde ilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Mehmet Akif OVALI'ya ve Ufuk DEMİR'e teşekkür ederim.

Deneysel çalışmam süresinde yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Sait ELMAS'a teşekkür ederim.

Hayatımda çok özel yeri olan, beni her daim destekleyen ve tez dönemimde maddi manevi her türlü desteğini esirgemeyen canım dostum Bilg. Müh. Arş. Gör. Müberra Nur Akçaman'a teşekkür ederim.

Yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen, dualarını esirgemeyen annem Ümmühan BÜLBÜL'e, her daim düşünceleri ve bakış açısıyla hayat rotamı oluşturan babam Mehmet Emin BÜLBÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ ONAY FORMU	II
THESIS APROVAL FORM	III
BEYAN	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
SİMGE VE KISALTMALAR	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIII
TABLOLAR LİSTESİ	XV
RESİMLER LİSTESİ	XVI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Pineal Bez ve Melatonin	5
2.1.1. Pineal Bez	5
2.1.2. Melatonin	5
2.1.2.1. Melatonin Sentezi	6
2.1.2.2. Melatonin Etki Mekanizması	7
2.1.2.3. Salınımı	8
2.1.2.4. Melatoninin Reseptörleri	8
2.1.2.5. Melatoninin Yıkımı	9
2.1.2.6. Melatonin Etkileri	9
2.1.2.7. Melatonin ve İmmün Sistem	10
2.2. Adipoz Doku	11
2.2. Adipoz Doku	11
2.2.1. Melatonin ve Yağ Doku İlişkisi	13
2.3. Adipoz Doku Türevli Hormonlar	14
2.3.1. Adiponektin	14
2.3.2. Leptin	17

2.3.3. Visfatin	19
2.3.4. Resistin	21
2.4. Sepsis	23
2.4.1. Sepsiste Deneysel Modeller	24
2.4.1.1. Lipopolisakkarid ile Oluşturulan Septik Şok Modelleri	24
2.4.1.2. Çekal Bağlama ve Delme Modeli	24
2.4.1.3. Canlı Bakterinin Damar İçine veya Periton İçine Uygulanması	24
2.4.1.1. Lipopolisakkarid Verilerek Oluşturulan Septik Şok Modelleri	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı	25
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	25
3.3. Yöntem	25
3.3.1. Hayvanlar Üzerinde Yapılan Uygulamalar	26
3.3.1.2. Anestezi İşlemi	26
3.3.1.3. Pinealektomi Operasyonunun Yapılması	26
3.3.1.4. Çekal Bağlama ve Delme Operasyonunun Yapılması	27
3.3.1.5. Doku Örneklerinin Alınması	28
3.4. Genetik Analizler	28
3.4.1. Total RNA İzolasyonu	28
3.4.2. cDNA Eldesi	29
3.4.3. Primer Dizeleri	30
3.4.4. Real Time PCR (qRT-PCR) Uygulaması	31
3.5. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Gen Ekspresyon Analiz Sonuçları	33
4.1.1. Adiponektin, Leptin, Resistin ve Visfatin Gen Ekspresyonu Değerlerindeki Grup içi Değişimler	33
4.1.2. Adiponektin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması	37
4.1.3. Leptin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması	39

4.1.4. Visfatin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması	40
4.1.5. Resistin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması	42
4.2. Gen İfade Analiz Sonuçları	43
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	59
EK-1 Etik Kurul Onay Formu	82
EK-2 zgemiŐ	83
EK-3 Spiralli Tez Kontrol Formu	84
EK-4 Spiralli Tez Yazım Listesi	85

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Melatoninin kimyasal yapısı	6
Şekil 2. Melatonin sentezi ve görev alan enzimler	7
Şekil 3. İmmun sistem melatonin etkileşimi	11
Şekil 4. Farelerdeki beyaz yağ dokusu depolarının yerleri	12
Şekil 5. Metabolik ve otoimmün/kronik inflamasyon hastalıklarında adiponektin (APN)'nin regülasyonu ve rolü	15
Şekil 6. İnsülin salınımının Nampt/PBEF/Visfatin ile kontrolü	20
Şekil 7. 1. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi	34
Şekil 8. 2. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi.	35
Şekil 9. 3. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi	36
Şekil 10. Adiponektin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi	38
Şekil 11. Leptin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi	39
Şekil 12. Visfatin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi	41
Şekil 13. Resistin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi	42
Şekil 14. Wistar ırkı erişkin erkek sıçanlarda 1. grupta ekspresyon seviyeleri incelenen leptin genine ait CP değerler	44
Şekil 15. Wistar ırkı erişkin erkek sıçanlarda 2. grupta ekspresyon seviyeleri incelenen leptin genine ait CP değerler	45

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Farklı hayvan modellerinde melatonin uygulamasının adiponektin üzerindeki etkisi	17
Tablo 2. Hayvan modellerinde melatonin uygulamasının leptin üzerindeki etkisi	19
Tablo 3. Sepsis ve resistin arasındaki ilişkiye dair bazı bulgular	23
Tablo 4. cDNA sentez protokolü	29
Tablo 5. PCR koşulları	30
Tablo 6. Ekspresyon seviyeleri bakılan genlere ait primer dizileri	30
Tablo 7. Real Time PCR malzeme miktarları	31
Tablo 8. qRT-PCR sentez basamak ayarları	31
Tablo 9. 1. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu Δ -CT değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimleri.	34
Tablo 10. 2. grupta, adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu Δ -CT değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimleri.	35
Tablo 11. 3. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu Δ -CT değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimleri	37
Tablo 12. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde adiponektin gen ekspresyon değerlerindeki değişim	38
Tablo 13. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde adiponektin gen ekspresyon değerlerindeki değişim	40
Tablo 14. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde visfatinin gen ekspresyon dağılım grafiği	41
Tablo 15. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde resistin gen ekspresyon dağılım grafiği	43

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 1. Pinealektomi operasyonunun yapılması	27
Resim 2. Çekal bağlama ve delme modelinin yapılması	28



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, enfeksiyon durumunda ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Yüksek mortalite ve morbidite oranına sahip sepsis, tedavi maliyetlerinin yüksek olmasından dolayı da önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir (Olguner ve ark., 2013). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda son yıllarda sepsise bağlı ölümler dikkat çekmektedir. Bu nedenle, organizmanın sepsise karşı savunma gücünü artırıcı veya sepsis tedavisinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Deney hayvanlarında sepsis modelleri oluşturulmakta olup, çekal bağlama ve delme (CLP) yöntemi bu alanda en sık kullanılan tekniklerden birisidir. Bu tekniğin kullanım amacı bağırsak bakterilerinin karın boşluğuna kontaminasyonu ve bunun sonucunda vücudun yangısal yanıtla verdiği cevabın anlaşılmasıdır (Dejager ve ark., 2011). Bu çalışmalarda genel olarak; deneysel sepsis sonrası sitokinler tarafından oluşturulan cevap üzerine birçok parametre araştırılmakta ve sepsis düzeyinin iyileştirilmesi veya düşük riskle sonuçlandırılmasına yönelik bilgiler elde edilmeye çalışılmaktadır (Li ve ark., 2014; Wu ve ark., 2014).

Yağ doku vücudun enerji deposu olarak bilinir. Son yıllarda ise yağ doku biyolojik olarak aktif birçok hormon veya molekülün salgılandığı endokrin bir organ olarak da tarif edilmektedir (Fonseca-Alaniz ve ark., 2006). Yağ dokudan salgılanan bu biyolojik aktif maddeler genel olarak adiponektinler olarak isimlendirilmekte ve açlık-tokluk, vücut yağ dağılımı, insülin duyarlılığı, insülin salgılanması, enerji kullanımı, inflamasyon, kan basıncı, hemostaz ve endotel fonksiyonun düzenlenmesi gibi birçok işlevle ilişkilendirilmektedir (Blüher 2010; Blüher 2014). Günümüzde tanımlanan yüzlerce adiponektin bulunmaktadır (Lehr ve ark., 2012).

Bu adipokinlerden leptin, adiponektin, visfatin ve resistin son yıllarda birçok immünolojik işlevle ilişkilendirilmiştir. Adiponektin sepsiste endotel aktivasyonu ve sağ kalımın önemli bir modülatörü olarak bilinmektedir. Bu etkileri antiinflamatuvar ve vasküloprotektif etkiler olarak gruplandırılabilir. Ayrıca adiponektin eksikliğinin insülin direnci, diyabet ve obezite durumlarında sepsisle ilişkili komplikasyonlara zemin hazırladığı belirtilmektedir (Teoh ve ark., 2008). Diğer taraftan obezite,

aterosklerozis, insülin direnci, Tip 2 diyabet ve nonalkolik steatohepatitis gibi hastalıklarda adiposit kökenli bir protein olan adiponektin seviyelerinde azalmalar belirlenmiştir (Arita ve ark., 1999; Ouchi ve Walsh 2007).

Leptin yağ dokudan salgılanan bir diğer hormondur. Leptin düzeyinin en önemli belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi olsa da başka birçok faktör de leptin düzeyinin kontrolünde rol oynar. Obezite, gıda alımı, glukoz, hiperinsülinemi, prolaktin ve glukokortikoidler leptin sentezini artırırken, açlık, büyüme hormonu, tiroid hormonları, serbest yağ asitleri, katekolaminler ve soğuğa maruz kalma leptin salınımı ve ekspresyonunu azaltırlar (Aslan ve ark., 2004). Diğer taraftan, leptin düzeylerinin etnik özellikler, yaş ve glukoz düzeylerinden etkilenmediğini belirten bulgular da vardır (Meier ve Gressner 2004).

İnsanlarda ve deney hayvanlarında timusun boyutlarının küçülmesi, lipopolisakkaritlerle oluşan sepsisin ölümcül olması ve lenfosit miktarının azalmasının doğuştan leptin düşüklüğü ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Özbalcı ve Şahin 2007).

Sıçanlara melatonin uygulamasının, insülin ve plazma leptin seviyesi ile birlikte intraabdominal yağ dokusunu da azalttığı gözlemlenmiştir (Wolden-Hanson ve ark., 2000). Ayrıca, glukokortikoidlerin hem in vivo hem de in vitro şartlarda leptin gen ekspresyonu düzeyini ve salınımını etkilediği ortaya konulmuştur (Caldefie-Chèzet ve ark.,2001; Dagogo-Jack ve ark.,2003).

Resistin yağ dokudan salgılanan ve son yıllarda özellikleri konusunda yoğun araştırmalar yapılan insanlarda proinflamatuvar özelliğe sahip bir hormon olarak bilinir (Fonseca-Alaniz ve ark., 2007). Resistinin adipogenez ve insülin direnci ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Steppan ve ark., 2001). Kemirgenlerde adipositler tarafından salgılanırken insanlarda çift çekirdekli hücreler, makrofajlar ve nötrofiller tarafından da salgılanır (Tilg ve Moschen, 2006). Resistin sepsis ilişkisi son yıllarda araştırmacıların ilgisini çekmiş ve yapılan çalışmalarda sepsisli erişkin hastalarda resistin ekspresyonu ve salgısının arttığı ve bu artışın nötrofil ve makrofaj kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Sundén-Cullberg ve ark., 2007; Mazaki-Tovi ve ark., 2010).

Visfatin, aynı zamanda pre-B hücre koloni geliştirici faktör (PBEF) veya nikotinamid fosforibozil transferaz (Namt) olarak da isimlendirilir. Yağ dokudan salgılanan ve sepsis ile ilişkilendirilen bir diğer hormondur (Jia ve ark., 2004). Visfatin sepsis dışında sedef hastalığı, romatoid artrit, iltihaplı bağırsak hastalığı ve otoimmün inflamatuvar hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir (Humphrey ve ark., 1989; Malyszko ve ark., 2009).

Melatonin, pineal bez olarak da adlandırılan pineal bezden salgılanan (N-asetil5-metoksitriptamin) bir hormon olup fizyolojik ritimler ve birçok nöroendokrin süreçte görev almaktadır. Melatonin, ayrıca yağ ve kas hücrelerine glukoz alımı ve bu hücrelerden leptin salgılanmasını da içeren bazı metabolik süreçleri de etkiler (Ferreira ve ark., 2012).

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda ışıkların sürekli olarak açık bırakılması nedeni ile sirkadiyen ritmin bozulduğu ve melatonin salgısının azaldığı bilinmektedir. Melatonin salgısı aydınlık ve karanlık ortama göre değişmektedir. Karanlık ortamda melatonin salgısı artarken aydınlık ortamda ise azalmaktadır. Gözler ve suprakiasmatik nükleus (SCN) arasındaki etkileşim, karanlık aydınlık döngüsüne göre bu aktivasyon veya inhibisyona aracılık etmektedir (Macchi ve Bruce, 2004).

Melatonin, vücut kitle indeksi ve enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Bartness ve Wade, 1985; Ramussen ve ark., 2001). Yapılan çalışmalarda melatoninin leptin sentezini ve salgılanmasını modüle ederek adipoz dokunun endokrin aktivitesini etkilediği belirlenmiştir (Alonso-Vale ve ark., 2005). Bu etki, MT1 membran reseptörü üzerinden Gi-proteininin melatonin tarafından aktivasyonunun bir sonucudur (Alonso-Vale ve ark., 2006).

Bu çalışma ile PLT yapılan ve CLP modeli ile sepsis oluşturulan sıçanlarda yağ dokuda adiponektin, resistin, leptin ve visfatin gen ekspresyonu düzeylerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda;

- Pinealektomi operasyonu yapılmış sıçanlarda sepsis sonrasında adipoz dokuda adiponektin, resistin, leptin ve visfatin gen ekspresyonları düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır,

Elde edilen sonuçlar ile yoğun bakım ünitelerinde yatan ve ışığa maruz kaldıkları için melatonin salgısının azaldığı düşünülen hastalarda yağ dokunun immünolojik işlevlerindeki değişimlerin neler olabileceğinin bir deney hayvanı modeli ile ortaya konulması hedeflenmiştir. Böylelikle sepsisli hastaların tedavisinde ışığa maruziyet, melatonin ve yağ doku ilişkisinin önemli olup olmadığını belirlenmesi düşünülmüştür.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pineal Bez ve Melatonin

2.1.1. Pineal Bez

Yaklaşık üç asır önce, Rene Descartes pineal bezi ‘’ruhun merkezi’ olarak tarif etmiş ve 1950’li yıllara gelindiğinde melatoninin pineal bez tarafından salgılanan ana hormon olduğu tespit edilmiştir. Pineal bez küçük ve tek bir beyin uzantısı şeklinde olup, pozisyonu ve boyutu türler arasında farklılık gösterir. Pineal bezin vücut ağırlığına oranı, insanda küçük bir değere sahiptir (Çam ve Erdoğan 2003).

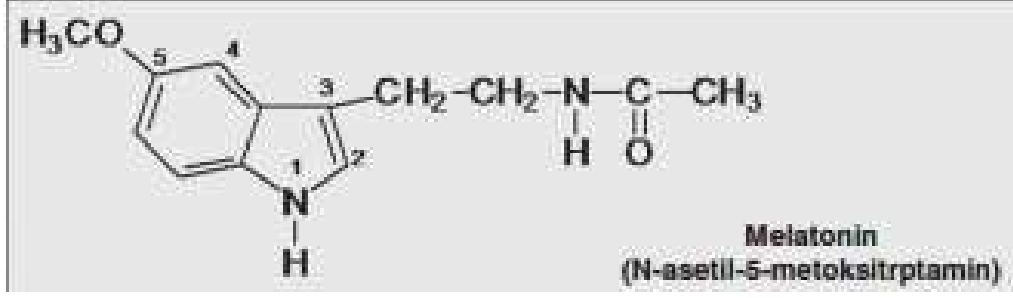
Pineal bez memelilerde sekretuar, amfibilerde ve balıklarda fotoreseptif, kuşlarda ve sürüngenlerde ise hem fotoreseptif hem de sekretuar fonksiyonları yürüten bir organ olarak bilinmektedir (Arendt 1995).

Pineal bezin ana hücresi olan pinealositler, amin prekürsörlerini alan ve dekarboksile eden (APUD) hücrelere ve paranöron hücrelere ait özellikler taşırlar. Pinealositler hem granüllü hem de granülsüz veziküllerden oluşan aktif sekretuar yapıdadırlar. Esas olarak melatonin hormonunu salgırlar (Arendt 1995).

2.1.2. Melatonin

İlk olarak bir Dermatolog olan Aaron Lerner tarafından sığırların pineal bezlerinden elde edilmiştir. (Zawilska ve ark., 2009). Ayrıca melatoninin omurgasızlar, protozoonlar, mantarlar, bakteriler, bitkiler ve insanlar da dahil olmak üzere bir çok omurgalı türünde mevcut olduğu bildirilmiştir (Hardeland ve ark., 2003).

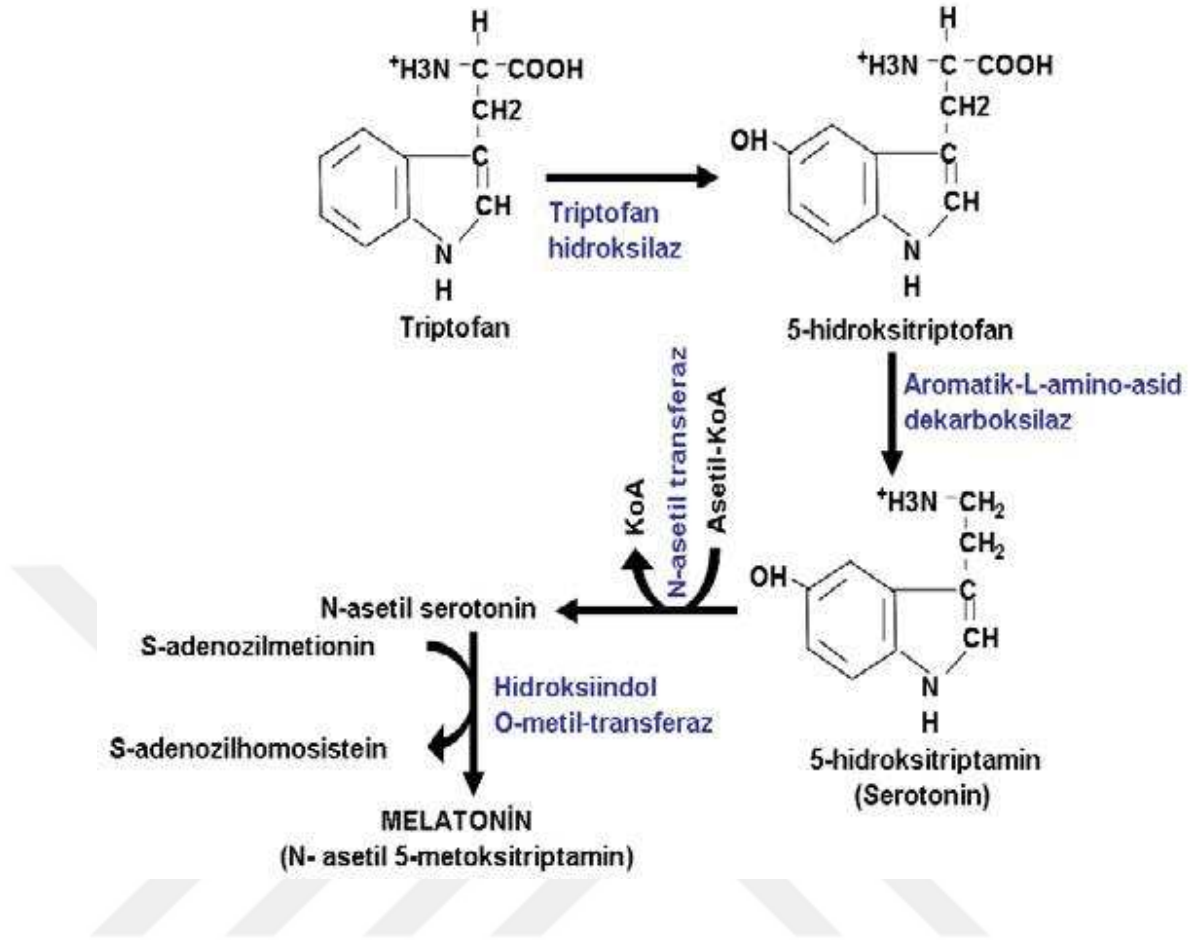
Melatonin ayrıca tiroit, karaciğer, timus, retina, böbrek, adrenal bezler, endometrium ve plasentada, mast hücrelerinde ve doğal katil hücreler ve eozinofillerde de belirlenmiştir (Özşahin 2006).



Şekil 1. Melatoninin kimyasal yapısı (Şener 2010).

2.1.2.1. Melatonin Sentezi

Melatonin sentezinde ilk olarak pineal bez öncü madde olan triptofan tarafından plazmadan alınır. Triptofanın dışarıdan besinlerle birlikte alınması gereken bir amino asittir. Pinealositlerde triptofan, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana hidroksillenmektedir. Serotonin üretim yolunun ilk enzimi triptofan hidroksilaz enzimidir ve yolun hız kesici basamağıdır. Reaksiyonda triptofan hidroksilaz, oksijeni kofaktör olarak kullanır. (Rahman ve ark., 1982). Bu reaksiyon, pinealositler haricinde karaciğer ve sinir sisteminde de gerçekleşir (Bouchard ve ark., 1981). Bir ara metabolit olan 5-hidroksitriptofan, melatonin ve serotonin sentezi için kullanılır. Ortaya çıkan 5-hidroksitriptofan kan-beyin bariyerini kolayca geçer ve L-aminoasit dekarboksilaz enzimi ile karboksil grubunu kaybederek 5-hidroksitriptamine dönüşür (Gomes ve Soares-da-Silva, 1999). Kan beyin bariyerini geçemeyen 5-hidroksitriptamin, N-asetil transferaz (NAT) enzimi aracılığı ile N-asetilserotonine dönüşür. Hidroksi indol-o-metil transferaz (HIOMT) enzimi ise N-asetilserotonini melatonine dönüştürür. Gece saatlerinde, serotoninin melatonine dönüştürülmesinden dolayı, yani melatonin sentezinin artması serotonin seviyesinin düşmesine neden olmaktadır (Cardinalli ve Pevet 1998; Bountin ve ark., 2005).



Şekil 2. Melatonin sentezi ve görev alan enzimler (Özçelik ve ark.,2013).

2.1.2.2. Melatoninin Etki Mekanizması

Melatoninin birçok doku ve organ üzerinde etkisi bulunmaktadır. Melatoninin Merkezi Sinir Sistemindeki esas hedef bölgesi hipotalamustur. Hipotalamusa melatonin uygulanması sonucunda norepinefrin, dopamin, serotonin ve gamma amino bütirik asid (GABA) gibi transmitterlerin arttığı belirlenmiştir (Brzezinski 1997).

Melatonin doku düzeyindeki etkilerini guanilat siklaz aktivitesini azaltarak gerçekleştirir. Ayrıca guanilat siklazı etkileyen melatonin Guanozin Mono Fosfat (cGMP) düzeyinde azalmaya, cAMP düzeyinde ise artışa yol açarak hücrel aktiviteleri etkilemektedir. Melatonin etkileri için hücrel mikro tübülleri kullanmaktadır (Özşahin 2006).

2.1.2.3. Salınımı

Melatonin insanlarda gece salgılanır. Nitekim yapılan çalışmalarda gece ölen insanlarda melatonin düzeyinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yetişkinlerde ortalama plazma melatonin seviyesi 60-70 pg/ml olarak ölçülmüştür. Gece 02:00-04:00 saatleri arasında plazma melatonin konsantrasyonu en yüksek değerlere ulaşır. Erişkinlerde, melatonin salgısı akşam 21:00-22:00 arasında başlar ve saat 07:00-09:00 arasında salınımı sona erer. Ayrıca insanda melatoninin metaboliti olan 6-Hidroksimelatonininsülfatın (HMS; 24:00-08:00 saatleri arasında) % 70-80'ni metabolik olarak idrar ile atılır (Arendt 1988).

Doğumdan çok kısa bir süre sonra vücutta çok az melatonin veya 6-HMS ölçülebilmektedir. Bebeklerde ilk olarak hayatın 6-8. haftasında melatonin ortaya çıkmaktadır (Gupta ve ark., 1983). Yaşla birlikte melatoninin plazma konsantrasyonu artar ve ortalama 3-5 yaş aralığında en yüksek seviyeye ulaşır (Waldhauser ve ark., 1984). Geceleri bu artış daha fazladır ve puberteden önce melatonin salgısında düşüş gerçekleşir. Puberteden sonra normal değerlerine ulaşan melatonin düzeyleri 35-40 yaşlarına kadar bu değerlerini korur ve yaş ilerledikçe düzeyi gittikçe azalır (Iguchi ve ark.,1982).

Melatonin salınımı, gece devam eden karanlık süresi ile ilişkilidir. Gecenin uzunluğuna bağlı olarak, melatonin salınımı da o derece uzun sürer. Karanlık fazın başında ve sonunda ışık, ritmi düzenler ve sekresyonu baskılar (Çam ve Erdoğan 2003). Mevsimsel farklılığa bağlı olarak melatoninin salgılanması değişkenlik gösterir. Işığın süresine bağlı olarak melatonin sekresyonu yaz mevsiminde geç başlarken, kışın ise yazı göre daha erken başlar (Arendt 1985).

2.1.2.4. Melatonin Reseptörleri

Memelilerde ve insanlarda G proteinine bağlı iki farklı melatonin reseptörü belirlenmiştir. Bu reseptörler MT1 ve MT2 olarak tanımlanmaktadır. MT1 reseptörü hipotalamusun SCN'da ve hipofizin pars tuberalis kısmında bulunmaktadır. MT2 reseptörüne de çoğunlukla retinada rastlanmaktadır. Bununla birlikte MT1 ve MT2 reseptörleri retinal yollarda, serebellumda ve ganglion hücrelerinde de

bulunmaktadır. Bu reseptörlerin pineal bezden salgılanan melatoninin, sirkadiyen salınımı ile alakalı olduğu bilinmektedir (Bountin ve ark., 2005).

Melatonin, hedef dokularda bulunan özgül reseptörleri aracılığı ile etkilerini göstermektedir. Vücutta beyin, retina, hipofiz ve periferik dokuların çoğunda (timus, lökosit, dalak, plasenta, tiroid bezi, eritrosit, gastrointestinal sistem ve endometrium gibi) bu reseptörlerin bulunduğu bildirilmektedir (Reiter 1995; Siu ve ark., 1998).

2.1.2.5. Melatonin Yıkımı

Melatoninin ilk olarak % 90 oranında karaciğerde sonrasında ise böbreklerde yıkımı gerçekleşir. Melatonin yıkılma aşamasında öncelikle hidroksile olur ve eser miktarda glukuronit konjugatlar şeklinde idrar yolu ile atılır. Yaklaşık % 1 kadarı ise idrar ile değişmeden atılmaktadır (Bruno ve ark., 2005).

Melatonin başlıca metaboliti 6-sülfatoksimelatonin olup sistemik dolaşımdaki yarılanma ömrü 20-60 dakika arasında değişkenlik gösterir (Çam ve Erdoğan 2003).

2.1.2.6. Melatoninin Etkileri

Melatonin, hem in-vivo hem de in-vitro çalışmalarla kanıtlanmış çok önemli bir antioksidandır (Hardeland ve ark., 1995). Bununla birlikte melatoninin, E vitamini gibi diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında, kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçmesi nedeni ile aynı zamanda avantajlı bir antioksidan olarak ta göze çarpar. İnsanlarda, yaşlanmayla birlikte, meydana gelen toksik ajanlara maruziyet ya da stres sonucu serbest radikal oluşumuna engel olan antioksidan kapasite de azalmaktadır. Azalan antioksidan kapasitesi ile yaşla birlikte ortaya çıkan melatonin düzeyindeki azalma birbiri ile paralellik gösterir. Bu durum melatoninin antioksidan özelliğinin önemini göstermektedir (Reiter 1997).

Melatonin, kolayca oksitlenmeyen ve pro-oksidatif aktivitesi olmayan bir molekül olup radikal üreten reaksiyonlara ve redoks döngüsüne girmez. Doğal antioksidan olan melatoninin, E vitaminine kıyasla peroksit radikal giderme özelliğinden 2 kat daha fazla olduğu ve glutatyona kıyasla da OH radikalini nötralize etme yeteneğinin ise 5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Reiter 1996).

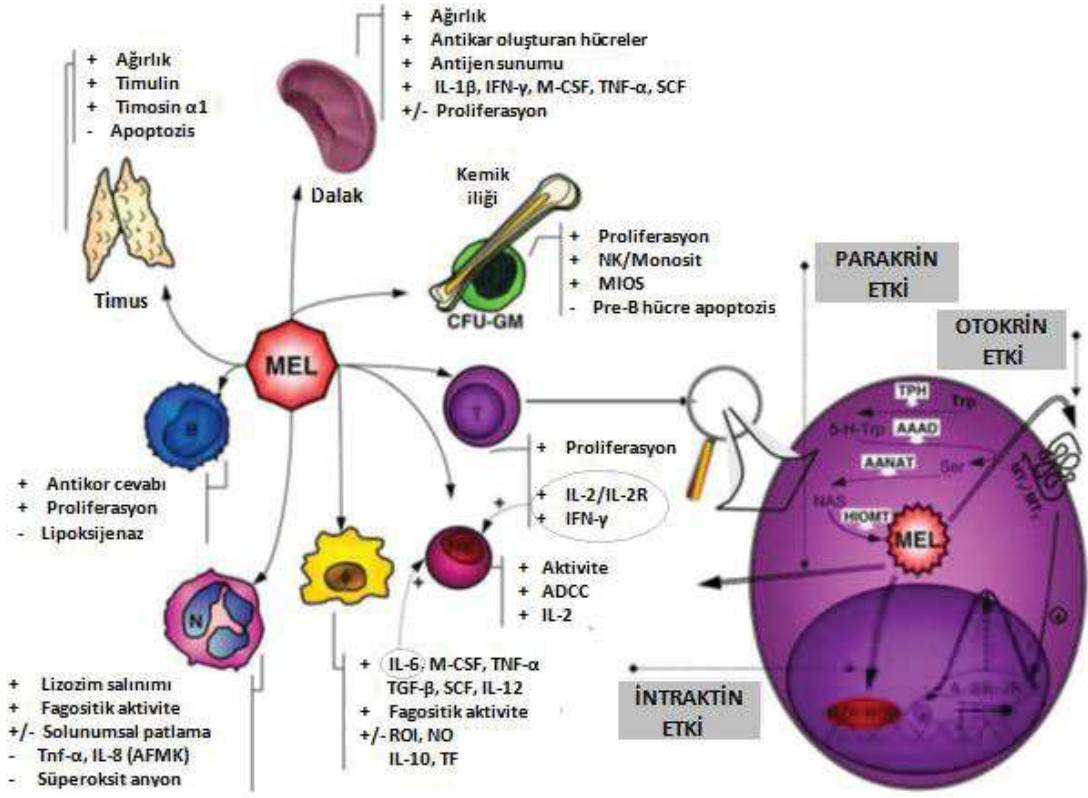
2.1.2.7. Melatonin ve İmmun Sistem

Sinir sistemi, endokrin sistem ve immün sistem arasındaki ilişki modern biyolojinin en dikkat çekici konularından birisii olup, bu sistemlerin, sistem içi ve sistemler arası iletişimde ortak bir kimyasal dil kullandığı bilinmektedir (Blalock 2005). Pineal bezin salgısı olan melatonin de, bu kapsamda kompleks nöroendokrin immunolojik sistemin üyelerinden biri olarak kabul edilir. Çelişkili sonuçlar olmakla birlikte, yapılan çalışmalar pinel bez ile immün sistem ve özellikle timus arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Carrillo-Vico ve ark., 2005).

Melatoninin, kök hücre faktörü (SCF), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin-1beta (IL1- β) ve interferon gama (INF- γ) seviyeleri ile birlikte periton makrofajları ile kök hücre faktörü ve Transforming büyüme faktörü beta (TGF β) dahil bir çok immunomodülatör sitokinin gen ekspresyonunu düzenlediği rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2001). Diğer tarafatan, geceleri insanlarda kan melatonin seviyesinin yükseldiği dönemlerde, timulin ve timozin α 1 dahil timus kaynaklı peptitlerin üretiminde de artışlar olduğu bildirilmiştir (Molinero ve ark., 2000).

Melatonin hücre zarı ve çekirdek üzerindeki reseptörlerini kullanarak immün hücreleri etkileyebilir. İnsan lenfosit ve monositleri üzerinde, melatonin için reseptör alanları karakterize edilmiş olup benzer farmakolojik özelliklere sahip bağlanma bölgeleri hayvan immün hücreleri üzerinde de tespit edilmiştir. Böylece, immün hücrelerin melatonin için membran ve çekirdek olmak üzere iki farklı reseptör alanına sahip olduğu anlaşılmıştır (Guerrero ve Reiter, 2002).

İmmün sistemi ile melatonin etkileşimlerini gösteren ilişkiler Şekil 3'te görülmektedir.



Şekil 3. İmmun sistem melatonin etkileşimi (Carrillo-Vico ve ark., 2005).

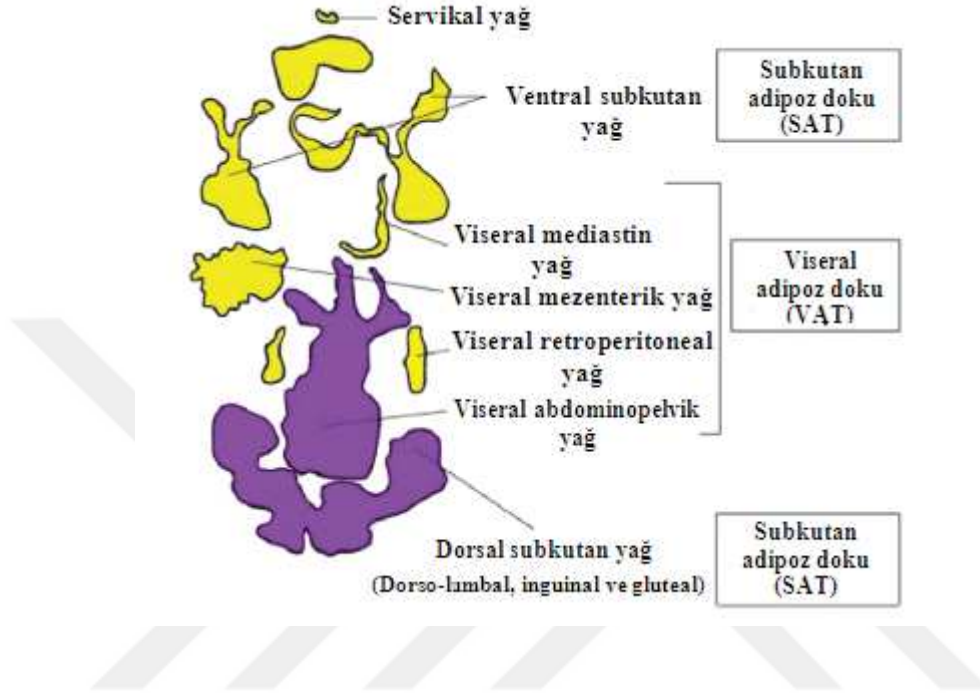
2.2. Adipöz Doku

Yağ doku mezemkimden köken alan lipoplast hücrelerinden gelişir. Bu hücreler fibroblastlara benzemelerine rağmen sitoplazmalarında yağ depolayabilirler. Yağ doku içerisindeki lipit damlacıkları başlangıçta birbirinden ayrıdır, kısa bir süre sonra birleşirler ve uniloküler yağ dokusu hücreleri için tipik tek büyük damlacığı meydana getirirler (Junqueira ve Carneiro 2003).

Yağ doku, adipokin olarak tanımlanan, biyoaktif protein özelliğine sahip adipokinleri üreten, enerji metabolizmasını, gıda alımını ve insülin direncini etkileyen endokrin ve sekretuar bir organdır (Gustafson 2010).

Son yıllarda yapılan çalışmalar yağ dokudan salgılanan adipokinlerin etki alanlarının çok çeşitli olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim, metabolik sendromda, tip 2 diyabette ve obezite durumunda adiposit düzeylerinin değiştiği bilinmektedir

(Antuna-Puente ve ark., 2008). Adipokinlerin ayrıca, yağ kitlesinin düzenlenmesini, parakrin mekanizmalar ile anjiogenezi ve adiposit boyutu/sayısını modüle ettiği gösterilmiştir (Matsuzawa 2006; Waki ve Tontonoz 2007).



Şekil 4. Farelerdeki beyaz yağ dokusu depolarının yerleri (Cinti 2009).

Vücutta yağ birçok bölgede bulunur ve bulunduğu bölgeye göre farklı özellikler gösterir. Bunlardan organların etrafında bulunan yağ doku visseral yağ doku olarak adlandırılırken, deri altında bulunan adipoz doku ise subkutan yağ doku ismini alır. Visseral yağ doku morfolojik ve işlevsel olarak subkutan yağ dokudan farklıdır. Visseral yağ doku, anjiyotensinojen, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri üretir (Kershaw ve Flier 2004).

Proinflamatuvar sitokinler ve metabolitler visseral yağ dokunun kendisinden ve yağ doku makrofajlarından portal ven içine salınırlar ve doğrudan karaciğer metabolizmasını etkileyebilirler. Nitekim, visseral yağ dokunun artmasının obezite ile ilişkili hastalıklar ve ölüm riski ile bağlantılı olduğu belirtilmektedir (İbrahim 2010).

İnsanlarda yağ doku beyaz yağ doku ve kahverengi yağ doku olmak üzere iki farklı görünüme sahiptir. Bunlardan beyaz yağ doku organ ve derialtı yağ dokuyu oluşturur. Beyaz yağ dokuda ilk endokrin ürün 1987 yılında tespit edilmiş ve adipsin ismi verilmiştir (Cook ve ark., 1987). Daha sonra 1994 yılında leptinin adipoz dokudan salgılanan bir hormon olarak ortaya konulması yağ dokunun endokrin bir organ olarak tanımlanmasına büyük katkı sağlamıştır (Blüher ve Mantzoros 2015).

Adipokinlerin işlevlerinin ortaya konulması bu moleküllerin, karaciğer, iskelet kası, kalp, beyin ve damar gibi diğer dokular ile yağ dokunun bağlantı kurmasını sağlayan sinyal ve aracı proteinler olarak tanımlanmasını sağlamıştır (Lehr ve ark., 2012; Blüher ve Mantzoros 2015). Adipokinler bu işlevleri yerine getirirken endokrin, otokrin ve parakrin düzeylerde görev yapma yeteneğine sahiptirler (Kershaw ve Flier 2004).

2.2.1. Melatonin ve Yağ Doku İlişkisi

Adipositler ve melatonin ilişkisi de bilim insanlarının dikkatini çeken bir diğer konudur. Lima ve ark., 1994 yılında melatoninin adipositler üzerinde doğrudan etkisi olduğunu kanıtlamışlardır (Lima ve ark., 1994). Bu bulgudan sonra melatonin yağ dokusu ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır.

Zalatan ve ark. (2001), kemirgenlerin inguinal ve epididimal adipositlerinde MT1 ve MT2 melatonin reseptörlerinin ekspresyonunu göstermişlerdir (Zalatan ve ark., 2001). Ayrıca, melatoninin MT2 reseptörü aracılığı ile murin adipositlerinde 3T3-L1'in proliferasyonunu stimüle ettiği kanıtlanmıştır (Adamczyk-Sowa ve ark., 2014). Yine, hamsterlerin kahverengi adipoz dokularında ve sıçanların beyaz adipoz dokularında orfan RZR α ve MT3/QR2 reseptörleri gösterilmiştir (Bordji ve ark., 2000; Smirnov ve ark., 2001). Adipositlerde melatonin etkilerinin MT1 ve MT2 reseptörleri aracılığı ile olduğu ve cGMP üretimini engelleyerek etkisini gösterdiği düşünülmektedir (Brydon ve ark., 2001; Zalatan ve ark., 2001).

Melatonin sadece adipositlerdeki reseptörleri vasıtası ile değil aynı zamanda sempatik sinir sistemi üzerinden de beyaz yağ dokusunu etkiler. Beyaz yağ dokuda sempatik nöral ve duysal innervasyon yönünden güçlü kanıtlar bulunmaktadır,

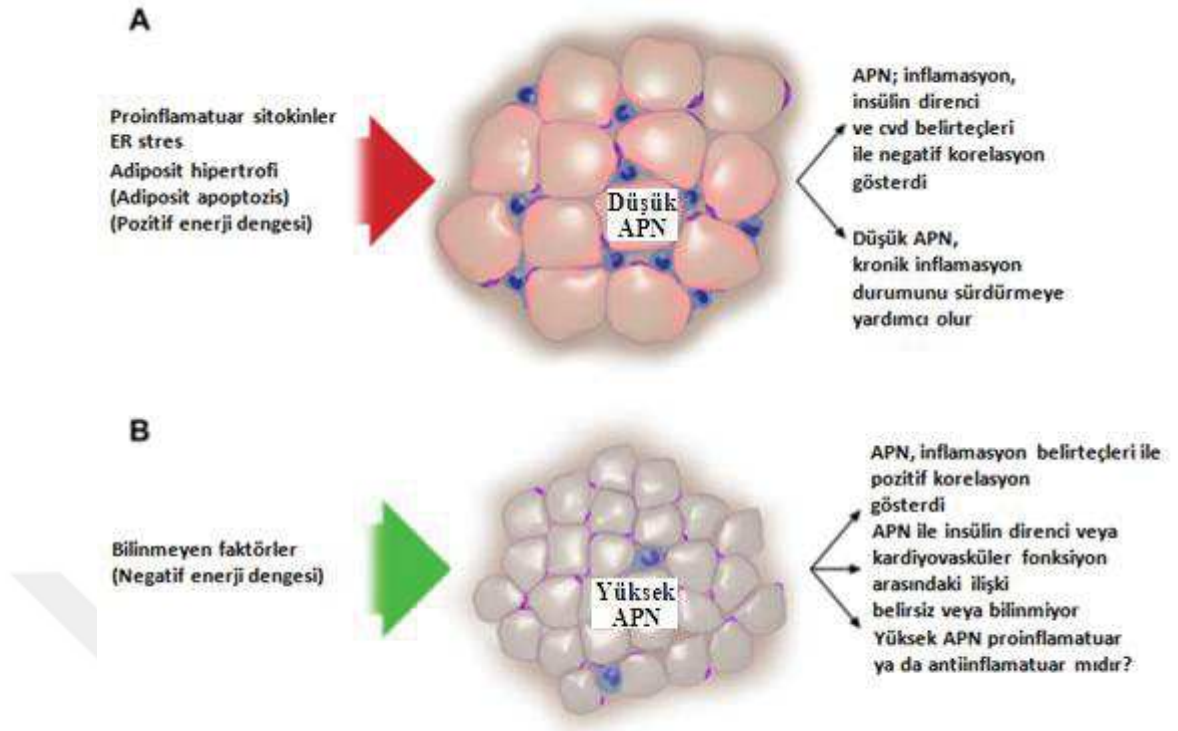
ancak yağ doku içine parasempatik girdiler konusunda bilgiler yeterli değildir (Bartness ve Song 2007).

2.3. Adipoz Doku Türevli Hormonlar

2.3.1. Adiponektin

Adiponektin, adipositler tarafından üretilen bir protein olup, 4 bağımsız grup tarafından 1990'larda keşfedilmiş ve başlangıçta Acrp 30, AdipoQ, apM1 ve GBP28 adiposit tamamlayıcı-ilişkili protein olarak tanımlanmıştır. Adiponektinin ayrıca insan kardiyomiyositleri ve insan iskelet kası tarafından üretildiği de belirlenmiştir (Brochu-Gaudreau ve ark., 2010). Bunlara ilave olarak, adiponektinin plasenta, epitel hücreleri, miyositler, karaciğer parankim hücreleri ve osteoblastlarda da üretildiğini göstermiştir (Berner ve ark., 2004; Thundyil ve ark., 2012).

Acrp30/Adiponektin, düşük molekül ağırlıklı biri trimer-dimer ve bir diğeri yüksek molekül ağırlıklı bir kompleks olmak üzere serumda iki farklı formda bulunur. Bunlardan, yüksek moleküler ağırlıklı kompleksinin seviyeleri, hem kadınlarda hem de erkeklerde, sistemik insülin artışına cevap olarak azalmaktadır. Yapısal olarak, Acrp30'un oligomer formasyonunun Cys-39'un aracılık ettiği disülfür bağ oluşumuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Pajvani ve ark., 2003).



Şekil 5. Metabolik ve otoimmün/kronik inflamasyon hastalıklarında adiponektin (APN)'nin regülasyonu ve rolü (Fantuzzi 2008).

Endoplazmik retikulum hasarı, TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin varlığı ile yağ doku hipertrofisi gibi faktörler adiponektin salgısını azaltır. Azalan adiponektin düzeyleri ise yangısal belirleyicilerin seviyeleri, insülin direnci ve kalp damar sistemi hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte negatif enerji dengesine bağlı olarak artan adiponektin düzeylerinin aynı hastalıklarla olan ilişkisi net olarak tanımlanmamıştır (Fantuzzi 2008).

Adiponektin salınımını etkileyen birçok başka endokrin faktör bulunmaktadır. Bunlar; β -adrenerjik agonistler, osteokalsin, büyüme hormonu, testosteron ve prolaktindir (Silva ve ark., 2014). Proinflamatuar sitokinler ise adiponektin gen ekspresyonunu azaltırlar (Lihn ve ark., 2004).

Adiponektin salınımı sirkadiyen bir ritim gösterir ve insanlarda, gece 03:00-04:00 saatleri arasında en düşük seviyesine inerken gündüz 12:00-14:00 saatleri arasında ise dolaşımdaki en yüksek düzeyine ulaşır (Scheer ve ark., 2010).

Adiponektinin, AdipoR1 ve AdipoR2 olarak isimlendirilen iki farklı reseptörü tespit edilmiştir. AdipoR1, daha çok iskelet kasında bulunur ve MAPK fosforilasyonu ile aktif hale gelirken, AdipoR2'nin karaciğerde daha yoğun bulunduğu ve Peroksizom proliferatör aktive reseptör alfa (PPAR- α)'nın aktivasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Lee ve ark., 2008).

Son yıllarda adiponektin melatonin ilişkisi üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Bu konudaki çalışmaların daha çok enerji metabolizması üzerine olduğu görölmektedir. Yapılan bir in vitro çalışmada, melatoninin terminal adiposit farklılaşması üzerine inhibitör bir etki gösterdiği ve adiponektin mRNA ekspresyonlarında azalmaya yol açtığı belirlenmiştir (Alonso-Vale ve ark., 2009, Zhang ve ark., 2010).

Epidemiyolojik veriler, insülin direnci, tip 2 diyabet, obezite veya kardiyovasküler hastalığı bulunan insanların dolaşımındaki adiponektin düzeylerinin azaldığını göstermiştir (Arita ve ark.,1999; Lindsay ve ark., 2003). Bu hastalık durumlarında düşük plazma adiponektin düzeylerine, adipoz dokuda adiponektin gen ekspresyonunun azalması da eşlik eder (Hotta ve ark.,2001; Weyer ve ark., 2001). Adiponektin gen polimorfizmlerinin, insülin direnci ve tip 2 diyabet ile birlikte hipoadiponektinemi ile ilişkili olabileceğine dair kanıtlar da vardır (Waki ve ark.,2003). Bu nedenle, düşük adiponektin ve adiponektin gen varyasyon seviyeleri, obezite ve insülin direnci ile ilişkili bulunmuştur.

Ayrıca, adiponektin, monosit/makrofajların göçünü ve vasküler duvardaki köpük hücrelerine dönüşümünü baskılayarak hem inflamatuvar süreci hem de aterosklerozi inhibe edebilir (Ouchi ve ark.,2001).

Tablo 1. Farklı hayvan modellerinde melatonin uygulamasının adiponektin üzerindeki etkisi (Szewczyk-Golec ve ark., 2015).

Çalışma	Hayvan Modeli	Melatonin Dozu	Dolaşımdaki Adiponektin
Agil ve ark. (2012)	Erkek Zucker diabetik yağlı sıçanlar Erkek Zucker yağsız sıçanlar	10 mg/kg/gün-6 hafta	↓ —
De Olivera ve ark. (2012)	Neonatal STZ ile uyarılan diabetik erkek Wistar sıçanlar	1 mg/kg/gün-8 hafta	↓

2.3.2. Leptin

Leptin adipositler tarafından üretilen, ilk olarak 1994 yılında keşfedilmiş, 16 kDa ağırlığında protein yapıda bir hormon olup başlıca besin alımını ve enerji harcamasını düzenleyici etkilere sahip bir hormondur (Zhang ve ark., 1994).

Leptinin keşfinden yıllar önce Ingalls ve ark., (1950) doğuştan obez farelerde obeziteye neden olan genetik bir bozukluk (ob/ob) olduğunu tespit etmişlerdir. Bu keşiften yıllar sonra, leptin ilk olarak obez ob/ob farelerde ob geninin ürünü olarak tanımlanmıştır. Bu proteine Yunancada Leptos yani zayıf anlamına gelen Leptin adı verilmiştir (Zhang ve ark., 1994).

Adipositler leptin üreten esas hücreler olmakla birlikte leptinin plasenta, meme bezi, yumurtalık, iskelet kası, mide, hipofiz bezi ve lenfoid dokularda da üretildiği bilinmektedir (Park ve ark., 2015). Adipositlerden leptin salgılanması sirkadiyen bir ritim gösterir ve bu ritim melatonin salgılanması ile benzerdir. Nitekim sabah 08:00-09:00 saatleri arasında en düşük seviyeleri gösteren leptin salgısı, günün ilerleyen saatlerinde kademeli olarak artar ve gece 00:00 ve 02:00 saatleri arasında en yüksek düzeye ulaşır (Yıldız ve ark., 2004).

Adipositlerin leptin üretme yetenekleri adipoz doku kitlesi ve beslenme durumuyla yakından ilişkili olup doğru orantı gösterir. Diğer taraftan, vücut kitle indeksi ile leptin düzeyleri arasında da bir ilişki mevcuttur (Kershaw ve ark., 2004). Ayrıca, cinsiyet hormonları, insülin, glukokortikoidler, katekolaminler ve sitokinler

gibi bir çok hormon leptin düzeylerini etkiler (Kershaw ve ark., 2004, Dardeno ve ark., 2010).

Leptin eksikliği ob/ob farelerde incelenmiş ve düşük enerji tüketimi ile artan enerji alımı şeklinde bir tablonun ortaya çıktığı görülmüştür. Bu tablonun hiperfaji ve ölümcül obezitenin nedeni olduğu düşünülmüştür. Nitekim, doğuştan ob/ob farelerde leptin ilavesi ile iştahın azalması ve kilo kaybı sağlanabilmiştir (Campfield ve ark., 1995). İnsanlarda, konjenital leptin eksikliği ile insülin direnci, glukoz intoleransı ve şiddetli obezite bulguları ortaya çıkmakta, leptin replasman tedavisi yapıldığında bu durumun düzeldiği bilinmektedir (Farooqi ve ark., 2002).

Leptin, glukoz metabolizması üzerinde insüline benzer etkiler gösterir. Farelerde yapılan bir çalışmada Tip-1 diyabette hiperglisemiye azaltmak için potansiyel tedavi aracı olarak düşünülmüştür (Wang ve ark., 2010). Ayrıca leptin, serbest yağ asitlerinin oksidasyonunun artışına katkıda bulunarak adenozin monofosfat aktive protein kinaz (AMPK) yolu ile farelerde insülin duyarlılığını artırır, böylece iskelet kası ve karaciğerde lipidlerin ektopik birikmesini de azaltır (Minokoshi ve ark., 2002).

Leptin merkezi ve periferal etkilerini Ob-R olarak tanımlanan reseptörüne bağlanarak gösterir. Ob-R reseptörü esas olarak iştahın kontrolüne katılan dorsomedial ve ventromedial hipotalamik çekirdekte tanımlanmıştır. Ancak leptin reseptörü aynı zamanda, adipoz doku, iskelet kası, karaciğer, pankreas beta hücreleri, mononükleer kan hücreleri, endotelial hücreler olmak üzere birçok periferal dokuda bulunmaktadır. Bu nedenle leptin, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini immun ve endotel hücreler düzeyinde uyaran bir hormon olarak ta bilinir (Cao 2014).

Melatonin ve leptin ilişkisini araştıran bir çok çalışma yapılmış olup, melatonin uygulamasının sıçanlarda serum leptin seviyelerini azalttığı bilinmektedir (Mastronardi ve ark., 2000, Wolden-Honsen ve ark.,2000; Agil ve ark.,2012). Melatonin verilmesi leptin düzeyini azaltırken aynı zamanda, vücut ağırlığını, karın içi yağlanmayı ve tokluk plazma insülin düzeylerini de azalttığı gözlenmiştir (Wolden-Hanson ve ark., 2000). Ayrıca, pinealektomi leptin salgılanmasının sirkadiyen ritmi üzerinde bariz bir değişikliğe neden olmazken, dolaşımdaki leptin konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur (Canpolat ve ark., 2001). Melatoninin

leptin üzerine olan etkisinin adipositlerde yağ asit transportunu engelleyerek gerçekleştirdiği bilinmektedir. Nitekim, pinealektomi sonrası, adipositlerde artan yağ asit transportu nedeniyle dolaşımdaki leptin salınımının arttığı ve içme suyuna melatonin ilavesinin toplam vücut yağından bağımsız olarak plazma leptin seviyelerini azalttığı belirlenmiştir (Wolden-Hanson ve ark., 2000).

Tablo 2. Hayvan modellerinde melatonin uygulamasının leptin üzerindeki etkisi (Szewczyk-Golec ve ark., 2015).

Çalışma	Hayvan Modeli	Melatonin Dozu	Dolaşımdaki Leptin
Canpolat ve ark. (2001)	Yetişkin erkek Wistar sıçanlar	0.5 mg/kg-7 gün (09:00-10:00)	↓
	Pinealektomili yetişkin Wistar sıçanlar		↓
Wolden-Hanson ve ark. (2000)	Orta yaş erkek Sprague-Dawley sıçanlar	0.4µg/mL- 12,24 hafta (içme suyuna)	↓
Rasmussen ve ark. (1999)	Orta yaş erkek Sprague-Dawley sıçanlar	0.4µg/mL-10,48 hafta	↓
		4.0µg/mL-10,48 hafta	↓

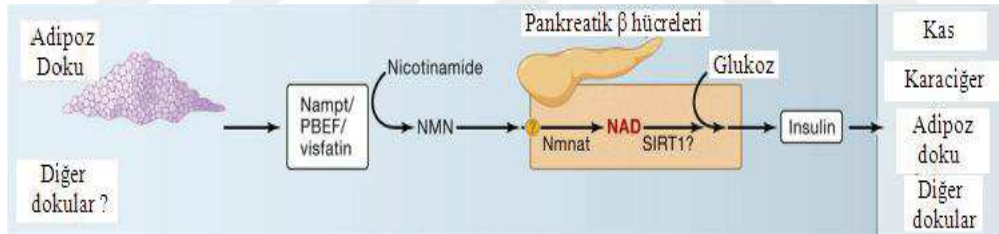
2.3.3. Visfatin

Visfatin, 52 Kda ağırlığında olup, PBEF olarak ta isimlendirilen bir hormondur. Visfatin ilk olarak periferik kan lenfositlerinde lenfositlerden salınan sitokin benzeri moleküller araştırılırken keşfedilmiştir. Pre-B-hücre koloni-artırıcı faktör (pre-B cell colony-enhancing factor: PBEF) olarak adlandırılmasının sebebi ise, bulunan bu molekülün B hücre öncüllerinin matürasyonunda interlökin-7 ve kök hücre faktörünün etkilerini arttırmasıdır (Samal ve ark., 1994). Ayrıca, subkutan adipoz doku ile karşılaştırıldığında visseral adipoz dokuda yüksek bulunması sebebiyle bu yeni adipokinin adı visfatin olarak tanımlanmıştır (Fukuhara ve ark., 2005).

Visfatin yağ doku ve lenfositlerin yanısıra monosit, nötrofil, hepatosit, iskelet kası ve pnömositlerde de sentezlenmektedir (Kukla ve ark., 2011). Plazmadaki visfatinlerin kaynağı olarak lökositler ve özellikle de granülositler gösterilmektedir (Friebe ve ark., 2011).

Visfatinin iki farklı formda bulunmaktadır. Bunlardan, intraselüler formu; NAD-bağımlı enzimlerin aktivitesinin sürdürülmesinde temel bir rol oynarken, besin alımına yanıt ve hayatta kalma gibi hücrel metabolizma olaylarının da düzenlenmesinde görev almaktadır. Ekstrasellüler formu ise, hem adipoz doku hem de farklı hücre tipleri tarafından sentezlenmektedir ve bu şekilde endokrin/ parakrin etkiler gösterebilmektedir (Peiró ve ark., 2010).

PBEF veya visfatin olarak da bilinen nikotinamid fosforibosiltransferaz (Namp), salgılanmış bir enzim ve bir sistemik NAD kaynağıdır. Yazarlar, Namp aracılı NAD sentezinin, β hücre fonksiyonu için gerekli olduğunu, metabolik hastalıkların patofizyolojisi hakkında yeni bilgiler sağladığını bildirmektedirler (Tanaka ve Nabeshima 2007).



Şekil 6. İnsülin salınımının Namp/PBEF/visfatin ile kontrolü (Tanaka ve Nabeshima 2007).

Adipoz dokudan salgılanan Namp/PBEF/visfatin plazmada nikotinamidi NMN'ye dönüştürür. Tanımlanamayan bir mekanizma ile plazma membranını geçen NMN, Nmnat tarafından intraselüler olarak NAD'ye dönüştürülür. Namp/PBEF/visfatin tarafından salgılanan β hücre NAD kaynağı, glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunda önemli bir rol oynar. NAD-bağımlı deasetilaz SIRT1, NAD seviyesini ve insülin sekresyonunu arasındaki ilişkiyi sağlayan bir aday molekül olabilir. β hücrelerinden salınan insülin, kas, karaciğer ve adipoz doku üzerinde etki gösterir (Tanaka ve Nabeshima 2007).

Visfatin, inflamasyonda önemli bir aracı molekül olarak düşünülmektedir. Çünkü rekombinant visfatinin, insan monositlerinde hem anti-inflamatuar (IL-10 ve IL-1 reseptör antagonisti) hem de pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 ve IL-6) üretimini doza bağımlı olarak uyardığı belirlenmiştir. Rekombinant visfatinin farelere intropertoneal enjeksiyonları sonrasında, ince bağırsak dolaşımındaki IL-6 seviyeleri ve IL-6 mRNA ekspresyonlarını anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (Moschen ve ark., 2007).

Jia ve ark., (2004) visfatinin yangısal uyarılara bağılı olarak nötrofiller tarafından sentezlenip, dolaşıma verildiğini ve apoptozu inhibe edici etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Visfatinin, kritik septik hastalardan elde edilen nötrofillerde yüksek düzeyde eksprese olduğu ve klinik sepsiste uzun süreli nötrofil sağkalımına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Busso ve ark., (2008) lökositler ile visfatin ve inflamatuvar sitokinlerin salgılanması arasında bir bağlantı olduğunu göstermişlerdir. Rongvaux ve ark., (2002) ise visfatinin bağışıklık sistemi hücrelerinde, enflamasyon gibi stresli durumlarda hayatta kalma yeteneğine sahip olabileceğini göstermişlerdir.

Pre-B hücre kolonisi arttırıcı faktör ya da nikotinamid fosforibosiltransferaz olarak bilinen visfatin, inflamatuvar ve metabolik durumlarda önemli rol oynamaktadır (Luk ve ark., 2008). Visfatinin, adipoz doku ve karaciğerde, kardiyovasküler hastalıklar, kronik hepatitis, tip-2 diyabet gibi çeşitli kronik hatalıklarda pro-inflamatuar etkileri vardır (Moschen ve ark., 2011). Ayrıca, visfatinin akut inflamatuvar durumlarda miyokart ve akciğer hasarını düzenlediği, visfatin inhibisyonunun bu bozuklukları azalttığı rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2013; Moreno-Vinasco ve ark., 2014).

2.3.4. Resistin

Resistin, sıçanlarda adipositler tarafından üretilen 12 kDa ağırlığında, polipeptid yapısında, sisteinden zengin bir peptid olup, insanlarda immunokompetent hücreleri tarafından sentezlenir. Resistin, resistin benzeri moleküller (RELMS) ailesine aittir, ayrıca 'inflamatuvar bölgede bulunan' 'found in inflamator zone' (FIZZ) olarak da

bilinir. Bir hipoteze göre resistin ve artan seviyeleri, obezitede insülin direncine yol açar (Steppan ve ark., 2001).

Farelerde RELMs ailesinin 4 üyesi vardır, bunlar; Resistin, RELM α , RELM β ve RELM γ 'dır. Bunlardan sadece Resistin ve RELM β insanlarda bulunur. Fare resistin geni 8. kromozomda ve insan resistin geni ise 19. kromozomda lokalizedir. Fare ve insanda resistin, aminoasit seviyesinde benzerliği % 59, mRNA seviyesinde dizi benzerliği ise % 64.4'tür (Steppan ve Lazar 2004).

Resistin salınımı inflamasyon, hiperglisemi, lipopolisakkarit, IL- 6 ve büyüme hormonu ile stimüle edilir (Guzik ve ark., 2006; Furugen ve ark., 2008). Lipopolisakkaritler (LPS) resistin gen ekspresyonunu artırır (Silswal ve ark., 2005). Ayrıca resistin, adipositlere etki ederek insülin direncine sebep olur (Guzik ve ark.,2006).

Resistin astımda steroid duyarlı fenotip bir belirteç olabileceği ileri sürülmüştür (Leivo-Korpela ve ark., 2011). Resistin, sitokinlerin (IL-6, TNF- α ve NF-kB) gelişmiş aktivasyonunun aracılığı ile inflamasyonu arttırabilir (Stofkova 2010).

Çeşitli çalışmalar, inflamatuvar uyarılara resistin üretiminin aracılık ettiğini göstermektedir. Resistin, farelerde LPS ile indüklenen karaciğer hasarında nekrozu ve hepatik inflamasyonu arttırmıştır. Resistin, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (Konrad ve ark., 2007). Resistinin dolaşımdaki artan düzeyleri kronik pankreatisli hastalarda gözlenmiştir, pankreas fibröz gelişmesinde etkisinin olduğu da öne sürülmektedir (Adrych ve ark., 2008).

Tablo 3. Sepsis ve resistin arasındaki ilişkiye dair bazı bulgular.

Çalışma	Çalışma Grubu	Dolaşımdaki Resistin
Yılmaz ve ark. (2014)	İntraabdominal sepsisli hastalar	↑
Reilly ve ark. (2005)	Koroner aterosklerozlu hastalar	↑
Sundén-Cullberg (2007)	Sepsis ve septik şoklu hastalar	↑

2.4. Sepsis

Sepsis ve sepsise bağlı çoklu organ yetmezliği günümüzde insan hayatını tehdit eden en önemli sağlık sorunlarından bir tanesidir. Yapılan klinik çalışmalar ve araştırmalara rağmen, sepsisin patofizyolojisi tam olarak ortaya konulmamıştır. Her yıl milyonlarca hastayı etkisi altına alan, sepsis ve septik şok, sağlık hizmetlerinde ciddi sorunlara neden olmaktadır (Dellinger ve ark., 2013).

Hastaneki ölüm nedenlerinden en önemlilerinden birisi sepsistir. Hatta sepsisin miyokard enfarktüsü nedeni ile ölen hasta sayısına yakın seyrettiği bilinmektedir (Angus ve ark., 2001).

Sepsis, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) olarak da seyretmektedir. Bunu ağır organ disfonksiyonu takip eder, bu da düşük kan basıncından kaynaklanmaktadır. Laktik asidoz nedeniyle bilinç bulanıklığına ve idrar üretiminde azalma ile organlardaki kan akımı azalır. Şiddetli sepsiste, organ yetmezliği, hipotansiyon (SKB <90 mmHg veya başlangıca göre ≤ 40 mmHg azalma), metabolik asidoz, hipoksemi, oligüri, obtundasyon ve trombesitopeni ortaya çıkmaktadır (Studnek ve ark., 2012).

2.4.1. Sepsiste Deneysel Modeller

2.4.1.1. Lipopolisakkarid ile Oluşturulan Septik Şok Modelleri

Lipopolisakkarit gram negatif bakterilerden elde edilir ve septik şok modellerinde kullanılır. Literatürde endotoksin ve LPS aynı anlamlarda olsa da aralarında fark bulunmaktadır. LPS saflaştırılmış glikolipid yapıya sahiptir. Endotoksinin içeriğinde polisakkarid lipoproteinler, düşük düzeyde hücre duvarı proteinleri, ve lipidler bulunmaktadır. LPS'nin toksisitesi içerdiği lipid A yapısından kaynaklanır (Iskit 2005).

Toz halindeki LPS deneysel çalışmalarda, suda çözünerek deney hayvanlarına intraperitonel ya da intravenöz, tek doz veya infüzyon olarak uygulanır. Literatürlere göre 1 mg/kg ve 80- 100 mg/kg gibi geniş bir doz aralığına sahiptir (Iskit ve ark., 1999; Baykal ve ark., 2000).

2.4.1.2. Çekal Bağlama ve Delme Modeli [Cecal Ligation and Puncture (CLP)]

Bu model sıçanlar, fare ve koyunlar üzerinde uygulanmıştır. Anestezi altındaki hayvanlarda, çekumun geçişini bozmadan standart bir iplikle bağlanarak, standart enjektör iğnesi ile bir veya iki yerinden delinip çekumun izole edilmesi temeline dayanır. İşlem sonrasında batin kapatılarak hayvanların ağırlığına göre cilt altına sıvı verilir (Baker ve ark., 1983; Yang ve ark., 2002).

CLP ile oluşturulan sepsis modellerinin uygulaması kolay ve ucuz olmasının yanı sıra, diğer modellerden farklı olarak, çeşitli mikroorganizmaların gözlemlendiği septik şok tablosu görülür. Klinikteki sepsis tablosuna benzer bir model oluşur (Iskit 2005).

2.4.1.3. Canlı Bakterinin Damar İçine veya Periton İçine Uygulanması

İntravenöz olarak *E.coli* ile oluşturulmuş birçok model mevcut olmakla birlikte, tek seferde veya infüzyon ile bakteriler verilebilir. Periton içerisine canlı bakteri uygulanması sıçanlarda 24 saat içerisinde % 100 ölümlerle sonuçlanmaktadır (Iskit 2005).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu onayı (05.11.2014 toplantı tarihli ve 2014-11-15 sayılı kararı) ile yürütülmüş olup araştırmanın hayvan deneyleeri bölümü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında (ÇOMÜDAM) gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada ÇOMÜDAM'dan temin edilen 4-5 aylık, 200-300 gr ağırlığında Wistar Albino ırkı toplam 36 adet erkek erişkin sıçan kullanıldı. Deneysel süreç boyunca tüm sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ve ortam sıcaklığı 22 °C olacak şekilde ayarlanan ortamlarda barındırıldı. Sıçanların beslenmesinde standart ticari pellet yemi ve şehir içme suyu kullanıldı. Yem ve su ad libitum olarak verildi.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Gruplar oluşturulmadan önce tüm sıçanlar tartıldı. Gruplar ağırlıkları dikkate alınarak her grupta 12 sıçan olacak şekilde oluşturuldu. Tüm gruplarda uygulama süresi 31 gün olarak belirlendi. Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

1. GRUP (SHAM- PLT+ SHAM-CLP; n=12): Bu gruba pinealektomi işlemi yapılmış olan gruplardaki tüm cerrahi işlemler uygulandı ancak sadece pineal bez çıkarılmadı. Ayrıca, çekal bağlama ve delme işlemi yapılmış gruplardaki tüm cerrahi işlemler uygulandı ancak çekum delinmedi.

2. GRUP (PLT+ CLP; n=12): Bu gruba pinealektomi operasyonu yapıldı ve CLP yapılarak sepsis modeli oluşturuldu.

3. GRUP (SHAM PLT+ CLP; n=12): Bu gruba pinealektomi işlemi yapılmış olan gruplardaki tüm cerrahi işlemler uygulandı ancak sadece pineal bez çıkarılmadı. CLP operasyonu yapılarak sepsis modeli oluşturuldu.

3.3. Yöntem

Gruplarda uygulanan işlemlerin ayrıntıları aşağıda belirtilmiştir.

3.3.1. Hayvanlar Üzerinde Yapılan Uygulamalar

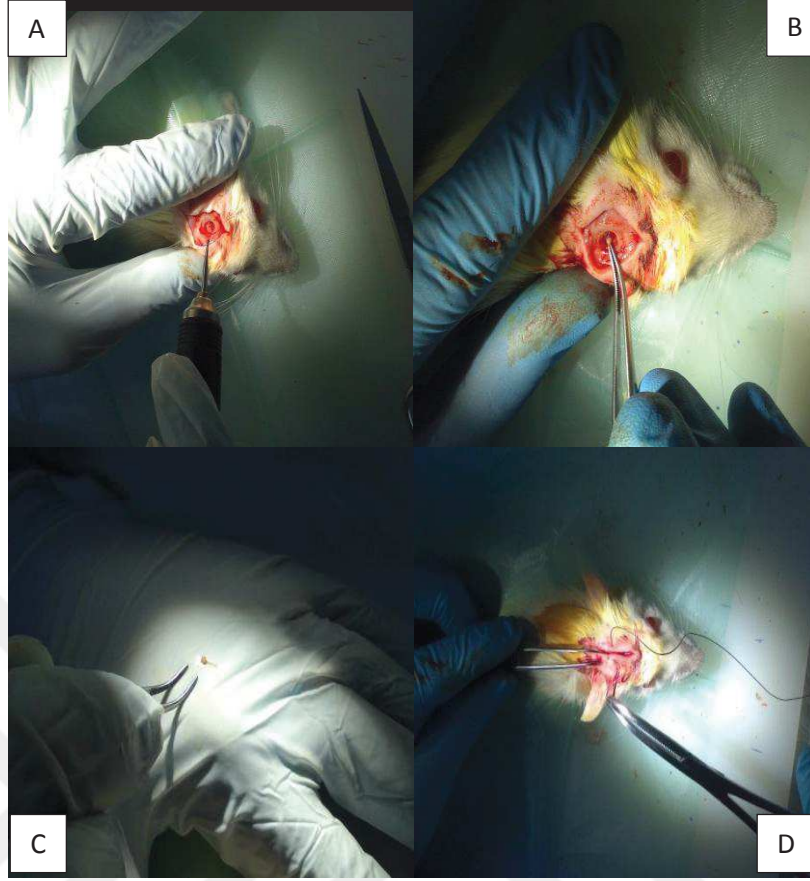
3.3.1.1. Anestezi İşlemi

Pinealektomi ve CLP operasyonu, genel anestezi altında gerçekleştirildi. Bu amaçla ketamin (60 mg/kg; ketalar) ve ksilazin (5 mg/kg; rompun) kullanılarak sıçanlar genel anesteziye alındı (Aydın ve ark., 2008). Sıçanların anesteziye girişi refleks kontrolü yapılarak belirlendi.

3.3.1.2. Pinealektomi Operasyonunun Yapılması

Pinealektomi operasyonu PLT grubuna yapıldı. Anestezi sonrasında ilk olarak ratların kafa derisi traşlandı. Daha sonra, kafatasının üst kısmından 3cm'lik bir deri insizyonu ile cilt açıldı. Sonrasında sıçanın kafatasındaki lambda-bragma bölgeleri görünür hale getirildi. Kafatasında dişi turu yardımıyla lambda bölgesinden 3-5 mm çapında açılan daireden kafatası kemiği bir forseple tutularak kaldırıldı ve yaklaşık 60° lik bir açıdan ince uçlu bir forseple pineal bezin bulunduğu bölgeye girilerek pineal bez sap kısmından tutularak alındı (Canpolat ve ark., 2001). Muhtemel kanamalara karşı soğuk suya daldırılmış küçük ebattaki pamuklarla tampon uygulaması yapıldı ve oluşabilecek olan kanamalar engellendikten sonra deri dikilerek kapatıldı (Resim 1 A-D).

SHAM PLT gruplarına ise pinealektomi operasyonu forseple pineal bezin alınmasına kadar aynı protokolde ve aynı hassasiyette yapıldı fakat bu kısımda forseple pineal bezin sap kısmından tutularak çıkarılması işlemi gerçekleştirilmedi. Her operasyondan sonra deri insizyonu dikilerek kapatıldı ve pinealektomi operasyonu yapılarak pineal bezleri alınan ratların 30 gün süreyle iyileşmeleri beklendikten sonra deneysel aşamaya geçildi.

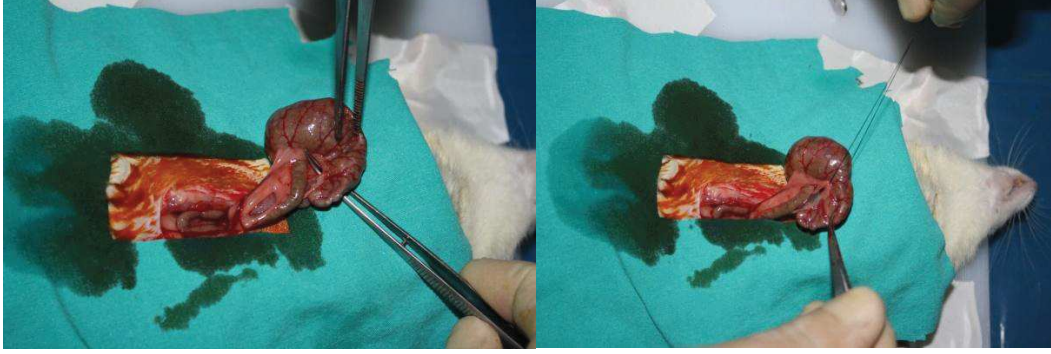


Resim 1. Pinealektomi operasyonunun yapılması. A: Dişçi turu yardımıyla kafatasının açılması, B: İnce uçlu forseple pineal bezin alınması. C: Sap kısmıyla birlikte alınan pineal bez, D: Operasyonun ardından yaranın 3/0 emilebilir steril ipek suturela dikilmesi.

3.3.1.3. Çekal Bağlama ve Delme Modelinin Yapılması

Sıçanlar pinealektomi operasyonunda yapılan şekliyle anesteziye edildi. Anestezi işlemi sonrası ilk olarak karın bölgesi tıraş edildi ve tıraş sonrası % 10' luk povidiniyodine ile karın duvarı bakteriyel kontaminasyon olmaması için dezenfekte edildi. Daha sonra karın orta hatta 2 cm'lik kesi yapılarak çekum izole edildi, ileoçekal valfin hemen distalinde 3-0 ipek iplik ile bağlandı. İğne ile (18 gauge) çekum 2 farklı yerden delindi ve delindikten sonra dışkı dışarı çıkana kadar sıkıştırıldı. Daha sonra karın duvarı dikildi, sıçanlar postoperatif bireysel kafeslere

alındı. Anesteziden çıktığı belirlenen sıçanlar normal kafeslerine alındı (Olguner ve ark., 2013; Xu ve ark., 2013).



Resim 2. Çekal bağlama ve delme modelinin yapılması; karın orta hatta 2 cm kesi yapılarak, ileoçekalvalfin distalinde 2 farklı yerden delinerek, 3/0 emilebilir steril ipek süturla bağlanması.

3.3.1.4. Doku Örneklerinin Alınması

Çekal bağlama delme operasyonu sonrasında genel anestezide alınan sıçanlardan rastgele 6 tanesi seçilerek 12. Saatte kalan 6 tanesi ise 24. Saatte dekapite edildi. Dekapitasyon sonrası hızlıca adipoz doku örnekleri alındı. Her bir gruba ait sıçanlardan alınan adipoz doku örneği doğrudan sıvı nitrojen içerisinde atılarak hızla donmaları sağlandı. Tüm dokular uygun koşullarda alındıktan sonra genetik analizler yapılmaya kadar -80°C 'de saklandı.

3.4. Genetik Analiz

3.4.1. Total RNA İzolasyonu

DeneySEL sürecin sonunda her bir gruba ait sıçanlardan alınarak -80°C 'de bekletilen doku örneklerinden total RNA izolasyonu yapıldı. Bu amaçla dokulardan yaklaşık 25 mg alınarak homojenizatörde (Qiagen Tissue Lyser) homojenize edildi. Homojenize edilen dokular 2 ml'lik steril tüplere alındı ve her birine bir adet steril çelik konulduktan sonra cihaza yerleştirilerek dokuların homojenize edilmesi sağlandı. Elde edilen homojenatlardan Ambion PureLink RNA MiniKit (Katalog No: 12183018A, Life Technologies, ABD) kullanılarak manuel yolla total RNA

izolasyonu yapıldı. Total RNA'ların kalite ve miktar tayini NanoDrop-1000 Spectrophometer cihazı kullanılarak gerçekleştirildi ve sonrasında örnekler -80 °C'de saklandı.

3.4.2. cDNA Eldesi

İzole edilen RNA'lar çalışma yapılncaya kadar -80 °C'de bekletildi. Daha sonra spektrofotometre de ölçümü yapılan RNA'ların yoğunluğuna göre steril 0.2 ml'lik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tüplerine konuldu. cDNA eldesi manuel olarak kit yardımıyla yapıldı (High Capacity cDNA Revere Transcription Kit, 200 reaction, ABD).

Total RNA örneklerinden cDNA eldesi işleminin yapılabilmesi için aşağıdaki protokol uygulandı;

Tablo 4. cDNA Sentez Protokolü

Bileşenler	Örnek Başına Hacim
10x Buffer	2 µl
dNTP	0.8 µl
Random Primer	2 µl
Enzim	1 µl
Su	4.2 µl
RNA	10 µl
TOPLAM	20 µl

Hazırlanan bu karışım PCR tüplerine dağıtıldı ve aşağıda verilen uygun şartlar altında PCR cihazında çalışıldı (The Applied Biosystems® Veriti® 96-Well PCR). Örneklerden cDNA eldesi için PCR cihazında aşağıda verilen protokol uygulandı.

Tablo 5. PCR Koşulları

Sıcaklık	Zaman
25 °C	10 dk
37 °C	120 dk
85 °C	5 dk
4 °C	∞

3.4.3. Primer Dizileri

Belirlenen genler için Tablo 6’da belirtilen primer dizileri hazırlandı ve çalışıldı.

Tablo 6 . Ekspresyon seviyeleri bakılan genlere ait primer dizileri.

GEN	Dizi	
Adiponektin	Forward	TGTTGGAATGACAGGAGCTGAA
	Reverse	CACTGAACGCTGAGCGATACA
Resistin	Forward	CCTTTTCTTCCTTGTCCTGAA
	Reverse	ACAGGGAGTTGAAGTCTTGTTTGAT
Visfatin	Forward	TTTTGAACACATAGTAACACAGTTCTCATC
	Reverse	GGTCTTCACCCCATATTTTCTCA
Leptin	Forward	CAGCCTGCCTTCCCAAAA
	Reverse	CATCCAGGCTCTCTGGCTTCT
β-actin	Forward	GATATCGCTGCGCTCGTC
	Reverse	TGGGGTACTTCAGGGTCAGG

3.4.4. Real Time PCR (qRT-PCR) Uygulaması

Çoğaltılan cDNA örnekleri quantitative Real-Time PCR (LightCycler®480,Roche) çalışması için kullanıldı. Syber Green kullanılarak gen ekspresyon seviyeleri analiz edildi (Power SYBR Green PCR Master Mix, 5 ml, Applied Biosystems, İngiltere). cDNA örneklerinden belirlenen genlerin ekspresyon için aşağıda verilen protokol uygulandı.

Tablo 7. Real Time PCR Malzeme Miktarları

Bileşenler	Örnek Başına Hacim
SyberGreen Master Mix	10 µl
Forward Primer	0.5 µl
Reverse Primer	0.5 µl
RNAse Free Su	7 µl
cDNA	2 µl
Toplam	20 µl

qRT-PCR yönteminde gen ifade düzeylerine bakılan adiponektin, leptin, visfatin ve resistin genlerinin normalizasyonu hamarat (housekeeping gene) gen olan β -actin geni ile yapıldı.

Tablo 8. qRT-PCR Sentez Basamak Ayarları

Basamağın Adı	Döngü Sayısı	Zaman	Sıcaklık (°C)
Hold	1	2 dk	50
		15 sn	95
Döngü	40	2 dk	95
E	1	1 dk	60

3.5. İstatistiksel Analiz

Genetik analizler için qRT- PCR yönteminde elde edilen CP (Crossing points) değerleri düzenlendi. qRT-PCR sonuçlarına istatistiksel analiz yapılırken $2^{-\Delta C_p}$ formülü kullanıldı. ($\Delta C_p = \text{Hedef gen} - \text{Referans Gen}$; Livak ve Schmittgen, 2001). Elde edilen sonuçların yorumlanmasında $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

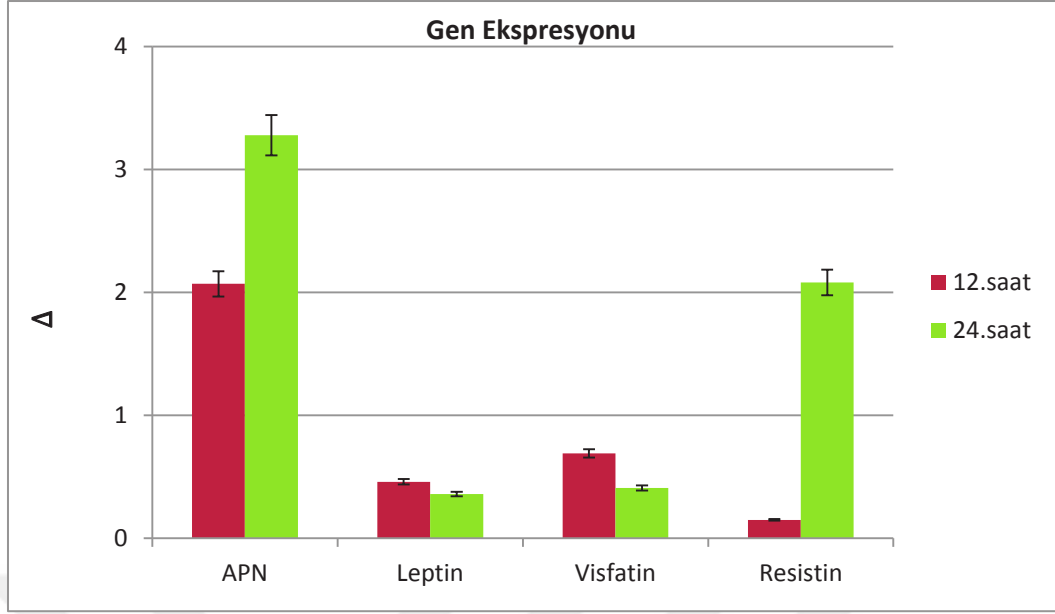
Bu çalışmada sıçanlardan SHAM (1. Grup) PLT+CLP (2. Grup) ve SHAM PLT+CLP (3. Grup) olmak üzere toplam 3 ana grup oluşturuldu ve çalışma bu gruplar üzerinde yürütüldü. Bu grupların her birinden çalışmanın 12. ve 24. saatlerinde rastgele seçilen 18 sıçandan 2 farklı alt grup daha oluşturuldu. Tüm çalışma grupları için toplamda 36 adet sıçan kullanıldı. Deneysel sürecin sonunda tüm gruplardaki sıçanlardan *adipoz doku* örnekleri alınarak adiponektin, leptin, visfatin ve resistin hormonları gen ekspresyonları düzeyleri araştırıldı. Çalışmaya alınan tüm sıçanlar çalışmayı sağlıklı bir şekilde tamamladı ve araştırma sonucunu etkileyecek herhangi bir olumsuzlukla karşılaşmadı.

4.1. Gen Ekspresyon Analiz Sonuçları

4.1.1. Adiponektin, Leptin, Resistin ve Visfatin Gen Ekspresyonu Değerlerindeki Grup İçi Değişimler

Dört farklı hormon için 1. grupta belirlenen gen ekspresyonu değerleri ve saatlere göre değişimleri Şekil 7 ve Tablo 9'da gösterilmiştir. Elde edilen değerler incelendiğinde Δ CP değerleri açısından adiponektin ekspresyon değerlerinin yüksek olduğu, leptin, visfatin ve resistin değerlerinin ise birbirlerine yakın değerler gösterdiği anlaşılmaktadır.

Adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyon düzeyleri açısından 1. gruptaki veriler saatlere göre değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmıştır. Ancak adiponektinin 12. ve 24. saatte belirlenen gen ekspresyon değerlerinin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyon değerlerine göre en yüksek düzeyi gösterdiği belirlenmiş olup, leptin ve visfatin gen ekspresyon değerlerinin daha düşük düzeyde olduğu anlaşılmıştır (Şekil 7).



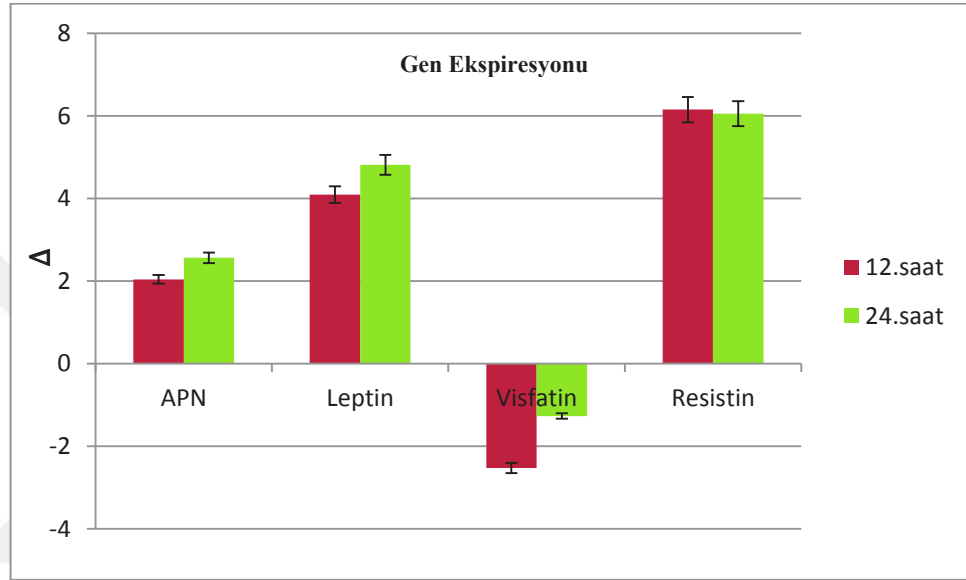
Şekil 7. 1. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi (APN; Adiponektin).

Tablo 9. 1. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu Δ -CT değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimleri.

Grup 1 Gen Ekspresyonu Düzeyleri (Δ CT)		
Hormon	12.saat	24.saat
Adiponektin	2.07±1.37	3.28±1.37
Leptin	0.46±0.5	0.36±0.5
Visfatin	0.69±0.39	0.41±0.39
Resistin	0.15±0.9	2.08±0.9

Grup 1'e ait, yağ doku adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu düzeyleri incelendiğinde, adiponektin'in 12. saatte 2.07 düzeyinde olan değer 24. saatte 3.28 seviyesine ulaştığı anlaşılmıştır. Leptin ve visfatin'in ise birbirine benzer değerlerde olduğu ve çok az artış gösterdiği görülmüştür. Resistin'in ise 1. grupta 12. saatte 0.15 düzeyinde olan değer yaklaşık 2 katı artarak 24. saatte 2.08 seviyesine ulaştığı saptanmıştır. Ancak 1. grupta bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Tablo 9).

Grup 2'ye ait yağ doku adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 1. grupta ortaya çıkan değişimlere göre farklı olduğu görülmüştür. Bu grupta adiponektin, leptin ve resistin gen ekspresyonu düzeyleri pozitif bir değer göstermişken, visfatin gen ekspresyonu değerlerinde negatif bir sonuç ortaya çıkmıştır (Şekil 8).



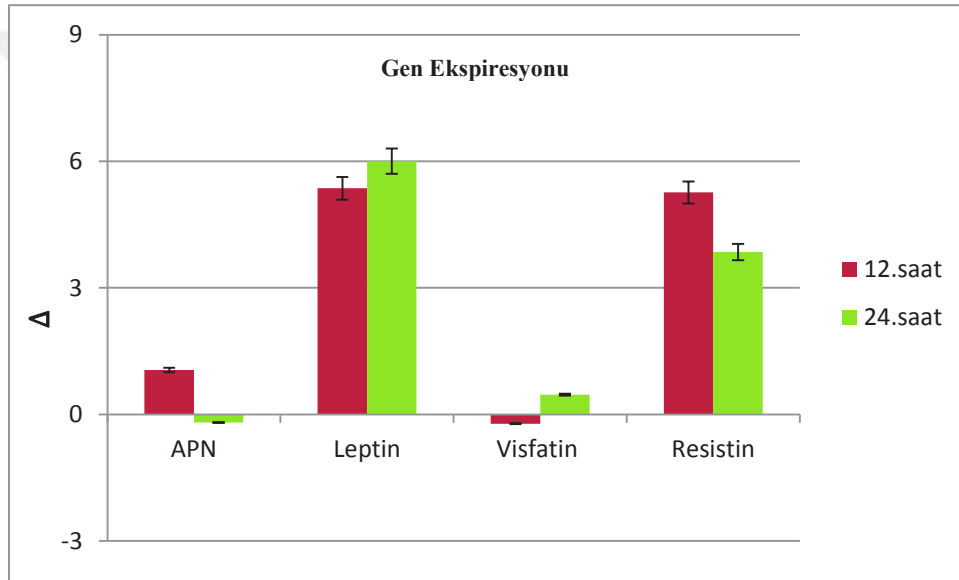
Şekil 8. 2. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi (APN; Adiponektin).

Tablo 10. 2. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu Δ -CT değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimleri.

Grup 2 Gen Ekspresyonu Düzeyleri (Δ CT)		
Hormon	12.saat	24.saat
Adiponektin	2.04±1.37	2.56±1.37
Leptin	2.04±0.5	4.81±0.5
Visfatin	-2.53±0.39	-1.27±0.39
Resistin	6.15±0.9	6.05±0.9

2. grupta adiponektin ve resistin gen ekspresyon düzeyleri açısından 12. ve 24. saatlerde benzer düzeyleri gösterirken, leptin gen ekspresyonu 2.04 düzeyinden 2 katı yüksek değer göstererek 4.81 düzeye ulaşmıştır. Visfatin gen ekspresyonunun ise tam tersi -2.53 düzeyinden -1.27 düzeye yükseldiği görülmüştür (Tablo 10).

Adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerleri açısından 3. grubun 1. ve 2. gruba göre farklılıklar gösterdiği anlaşılmaktadır. Nitekim her iki gruba göre en düşük adiponektin gen ekspresyonu bu grupta ortaya çıkmıştır. Leptin ve visfatin ile ilgili değerler 1. gruba benzer şekilde ortaya çıkmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. 3. grupta adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi (APN; Adiponektin).

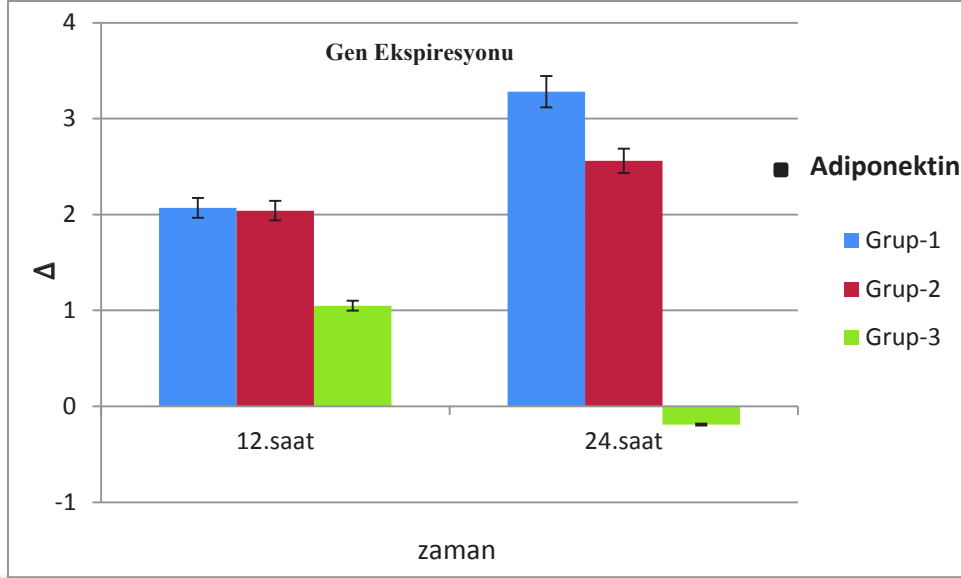
Tablo 11. 3. grupta, adiponektin, leptin, visfatin ve resistin gen ekspresyonu değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin grafiksel gösterimi.

Grup 3 Gen Ekspresyon Düzeyleri (ΔCT)		
Hormon	12.saat	24.saat
Adiponektin	1.05 \pm 1.37	-0.19 \pm 1.37
Leptin	5.36 \pm 0.5	6 \pm 0.5
Visfatin	-0.22 \pm 0.39	0.47 \pm 0.39
Resistin	5.26 \pm 0.9	3.85 \pm 0.9

Grup 3'te adiponektin gen ekspresyonu 12. saatte 1.05 düzeyinden, 24. saatte -0.19 düzeyine düşerek en düşük değeri göstermiştir. Leptin ve visfatin benzer düzeyler gösterirken, resistinin 12. saatte 5.26 düzeyinden 24. saatte 3.85 düzeyine indiği gözlemlenmiştir (Tablo 11).

4.1.2. Adiponektin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması

Adiponektinin gruplar arasındaki değişimlerine bakıldığında birbirlerinden farklı sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır. Adiponektin gen ekspresyonu açısından 1. ve 2. Grupta en yüksek değer 24. saatte gözlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Adiponektin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi.

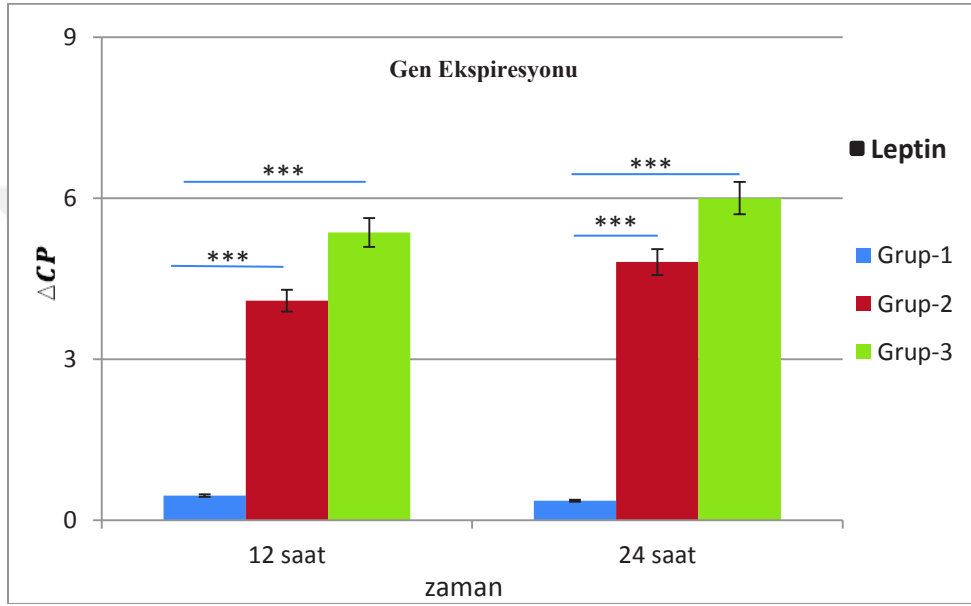
Adiponektin gen ekspresyonunun 1. grupta 24. saatte 3.28 düzeyinde olduğu ancak 2. grupta azalarak 2.56 düzeyine düştüğü saptanmıştır. 3 grupta ise 24. saatte 0.19 seviyesine indiği gözlenmiştir. Gruplar arasındaki değerlerde belirlenen farklılığa rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde adiponektin gen ekspresyon değerlerindeki değişim.

Adiponektin Gen Ekspresyon Düzeyleri (Δ CP)		
Hormon	12.saat	24.saat
SHAM	2.07 \pm 1.37	3.28 \pm 1.37
PLT-CLP	2.04 \pm 1.37	2.56 \pm 1.37
SHAM PLT-CLP	1.05 \pm 1.37	-0.19 \pm 1.37

4.1.3. Leptin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması

Ekspresyon seviyeleri araştırılan leptin gen ailesinin CP değerleri incelendiğinde; hem grup 2 hem de grup 3'ün 12. ve 24. saat değerlerinin grup 1'e göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$).



Şekil 11. Leptin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi (***) $p < 0.001$).

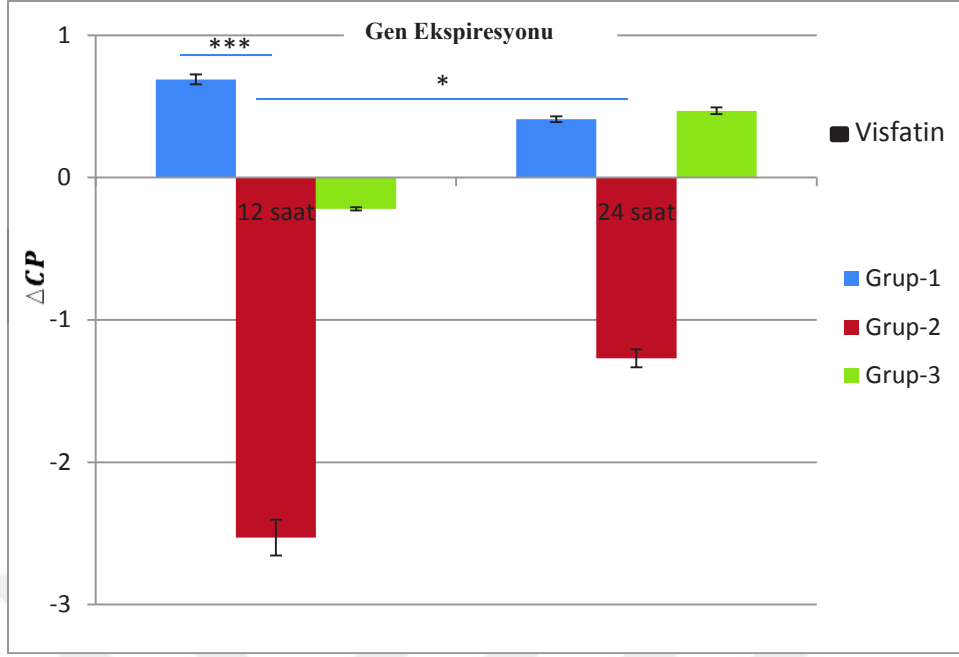
Grup 1'de 0.46 olan leptin gen ekspresyon değeri 24. saatte 0.36 olarak belirlenmiştir. Aynı değer 2. grupta 4.09-4.81 ve 3.grupta ise 5.36-6 aralığında değiştiği görülmektedir (Tablo 13).

Tablo 13. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde leptin gen ekspresyon değerlerindeki değişim (aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklı, $p<0.001$).

Leptin Gen Ekspresyon Düzeyleri (ΔCP)		
Hormon	12.saat	24.saat
SHAM	0.46 \pm 0.53 ^a	0.36 \pm 0.53 ^a
PLT-CLP	4.09 \pm 0.53 ^b	4.81 \pm 0.53 ^b
SHAM PLT-CLP	5.36 \pm 0.53 ^b	6 \pm 0.53 ^b

4.1.4. Visfatin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması

Ekspresyon seviyeleri araştırılan visfatin gen ailesinin CP değerleri incelendiğinde ekspresyon seviyelerinin adiponektin ve leptin gruplarındaki artan ekspresyonlarının aksine grup 1 ve grup 2'nin 12. saatleri karşılaştırıldığında visfatinin gen ekspresyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. Grup 2'nin 12. ve 24. saatler arasındaki fark istatistiksel açıdan incelendiğinde anlamlı bulunmuştur.



Şekil 12. Visfatin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$).

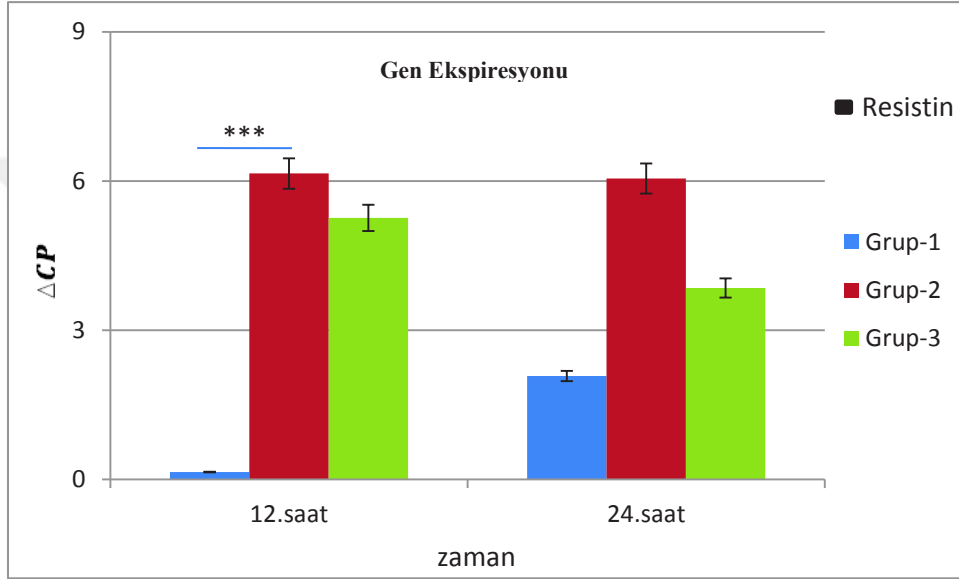
Visfatin gen ekspresyonu grup 1’de 12. saatte 0.69 düzeyinde iken grup 2’de -2.53 değerinde olduğu görülmüş olup istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Grup 2’nin 12. saatinde -2.53 olan değerinin ise 24. saatte -1.27 olduğu saptanmıştır (Tablo 14; $p < 0.05$).

Tablo 14. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde visfatinin gen ekspresyon dağılım grafiği. (aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklı, $p < 0.001$).

Visfatin Gen Ekspresyon Düzeyleri (ΔCP)		
Hormon	12.saat	24.saat
SHAM	0.69±0.39 ^a	0.41±0.39 ^a
PLT-CLP	-2.53±0.39 ^b	-1.27±0.39 ^b
SHAM PLT-CLP	-0.22±0.39 ^{a,c}	0.47±0.39 ^{a,c}

4.1.5. Resistin Gen Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası ve Zamana Göre Karşılaştırılması

Ekspresyon seviyeleri araştırılan resistin gen ailesinin CP değerleri incelendiğinde ekspresyon seviyelerinin grup 1 ile grup 2'nin 12. saatleri karşılaştırıldığında resistin istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.001$).



Şekil 13. Resistin gen ekspresyon değerlerinin 12. ve 24. saatlerdeki değişimlerinin gruplar arasındaki dağılımının grafiksel gösterimi (** $p<0.001$).

Resistin gen ekspresyon seviyeleri 12. saatte grup 1'de 0.15 değeri gösterirken, grup 2'de 2.08 değeri göstermektedir. Gruplar arasında ekspresyon düzeyinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Tablo 15; $p<0.001$).

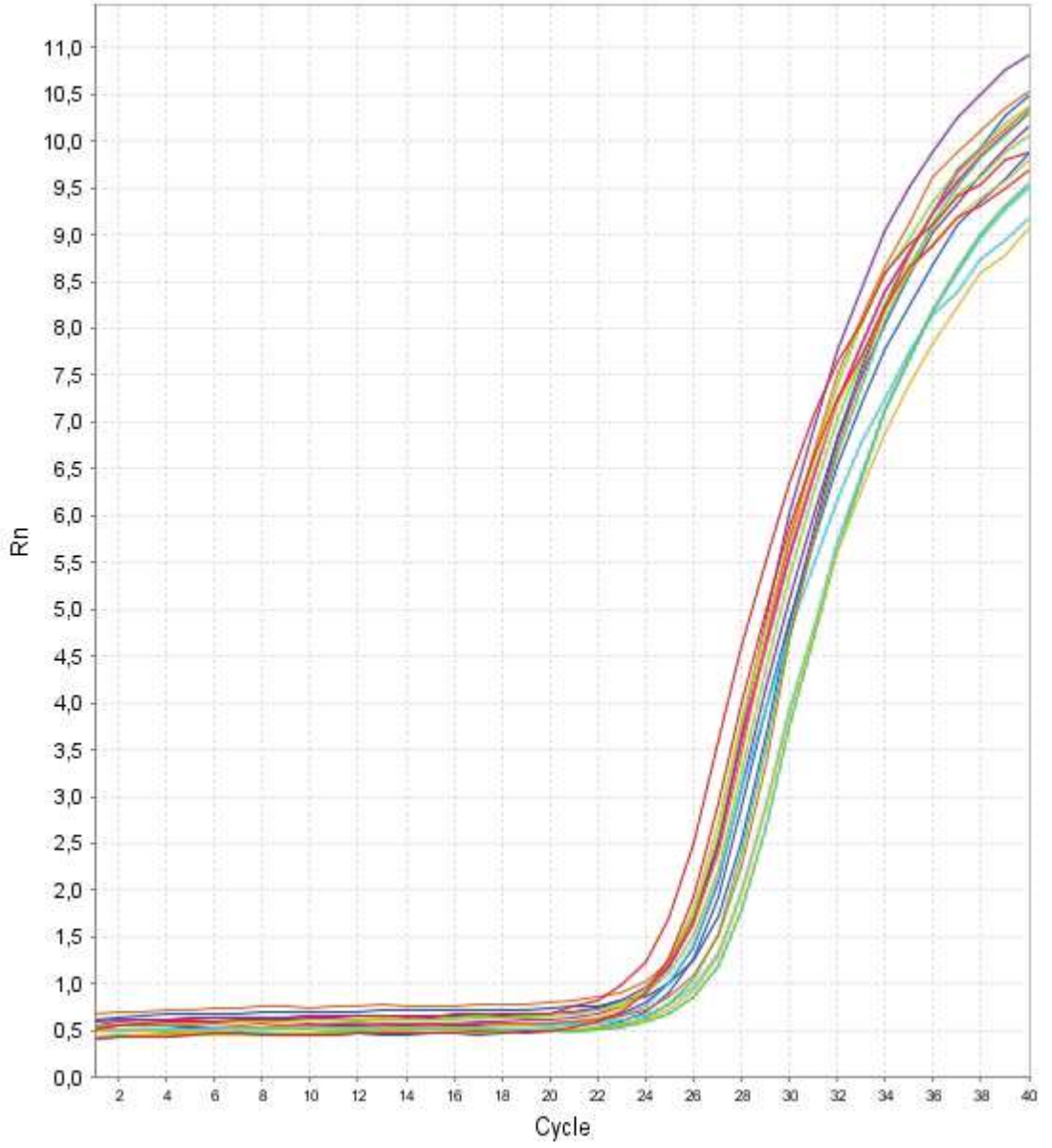
Tablo 15. Gruplar arası 12. ve 24. saatlerde resistin gen ekspresyon dağılım grafiği. (aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklı, $p<0.001$).

Resistin Gen Ekspresyon Düzeyleri (ΔCP)		
Hormon	12.saat	24.saat
SHAM	0.15 \pm 0.9 ^a	2.08 \pm 0.9
PLT-CLP	6.15 \pm 0.9 ^b	6.05 \pm 0.9
SHAM PLT-CLP	5.26 \pm 0.9 ^{a,b}	3.85 \pm 0.9

4.2. Gen İfade Analiz Sonuçları

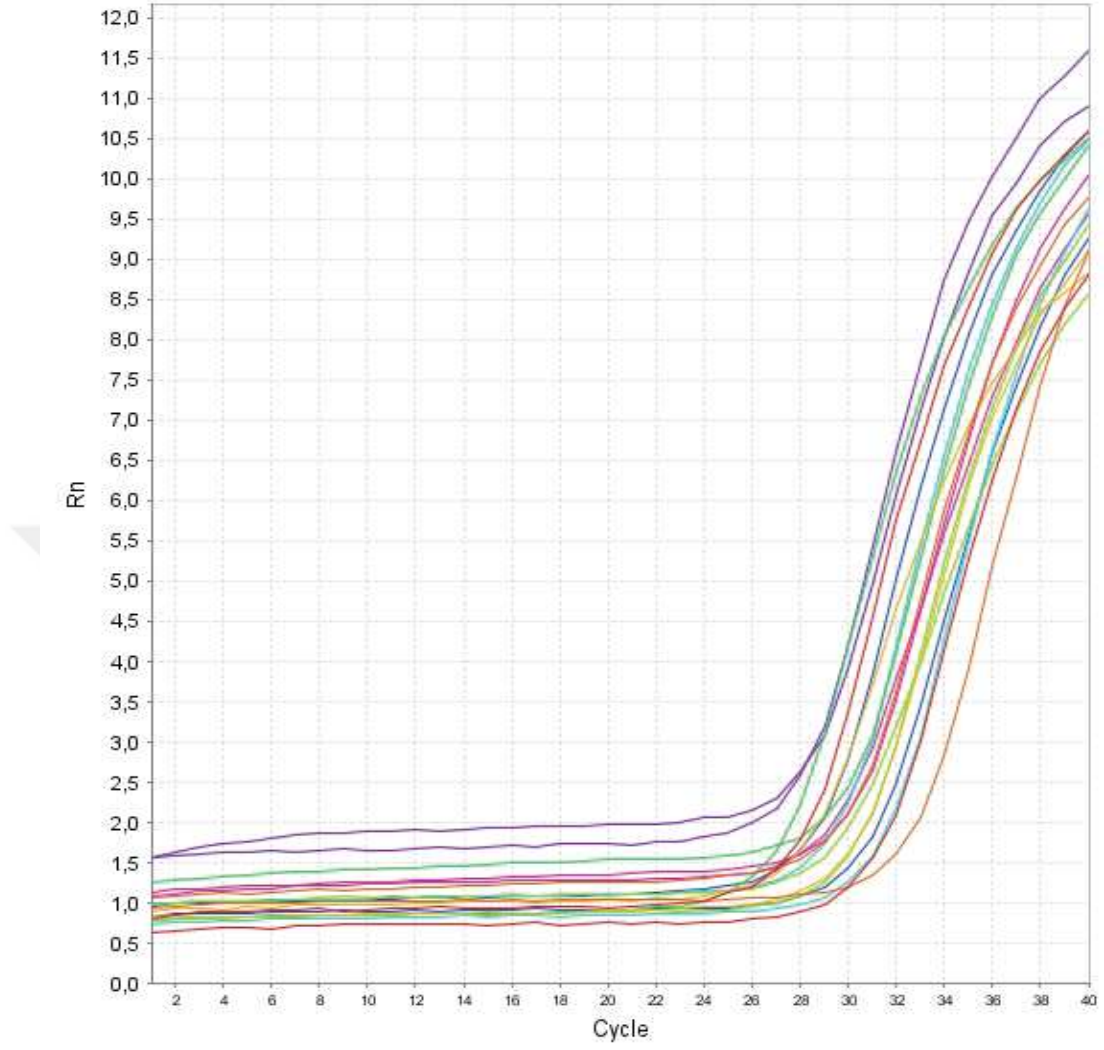
Çalışmada ekspresyon seviyeleri analiz edilen genlerden 1. grup ve 2. grup grubuna ait leptin geni, 2. gruba ait visfatin geni ve endojen kontrol olan AktinBeta genine ait Renal-Time PCR yöntemi ile elde edilen CP (crossingpoint) değerlerine ait çoğalma eğrisi sonucu aşağıda verilmiştir (Şekil 14).

LEPTIN



Şekil 14. Wistar ırkı erişkin erkek sıçanlarda 1. grupta ekspresyon seviyeleri incelenen leptin genine ait CP değerleri.

LEPTIN



Şekil 15. Wistar ırkı erişkin erkek sıçanlarda 2. grupta ekspresyon seviyeleri incelenen leptin genine ait CP değerler.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, PLT yapılan ve CLP modeli ile sepsis oluşturulan sıçanlarda visseral adipoz dokusundaki adiponektin, leptin, resistin ve visfatin gen ekspresyonu düzeylerindeki değişiklikler araştırılmıştır.

Sepsisten ölüm oranı % 30-70 arasında değişmekte olup dünyada yılda yaklaşık 8 milyon insan sepsise maruz kalmaktadır. Sepsiste oksidatif stres önemli oranda artmaktadır (Rinaldi ve ark., 2009). Artan oksidatif stres mitokondriyal disfonksiyona neden olmakta bu durum da organ hasarı ve disfonksiyonunun en önemli nedeni olarak görülmektedir (Crouser 2004). Bu nedenle antioksidan maddelerin sepsisin tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Victor ve ark., 2009; Galley 2010).

Melatonin pineal bezden salgılanan bir hormondur ve vücutta pineal bez dışında lenfositlerde, insan ve farelerin kemik iliğinde, timusta, gastrointestinal sistemde, deri ve gözden sentezlenmektedir (Pandi-Perumal ve ark. 2006). İn vitro sepsis modeli çalışmalarında melatonin ve melatoninin metaboliti olan 6-hidroksimelatoninin inflamatuvar sitokinlerin düzeylerini, mitokondriyal disfonksiyonu ve oksidatif stresi azalttığı ortaya konulmuştur (Galano ve ark., 2011; Reiter ve ark., 2013). Diğer taraftan sıçanlarda yapılan çalışmalarda da benzer etkilere rastlanmış, melatoninin oksidatif stresi ve organ disfonksiyonunu buna bağlı olarak ta mortaliteyi azalttığı belirlenmiştir (Wu ve ark., 2008; Shang ve ark., 2009; Li ve ark., 2012; Lowes ve ark., 2013).

Melatoninin sahip olduğu hem antioksidan etkinin yanı sıra güçlü antiinflamatuvar özellikleri de olan bir hormondur. Melatonin bu antiinflamatuvar etkilerini gösterirken NO, prostaglandin, lökotrien, sitokinler, adhezyon molekülleri, reaktif C protein ve nükleer faktör kapa B gibi bir çok farklı moleküle etkileşim gösterir (Mauriz ve ark., 2013).

Sahip olduğu antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı sepsiste melatonin kullanımı veya melatonin yoksunluğunun etkileri birçok araştırmaya konu olmuştur. Deneysel bir çalışmada Lowes ve ark., (2013) LPS uygulayarak sıçanlarda sepsis oluşturmuşlar ve antioksidan olarak ise melatonin vermişlerdir. Melatonin

sepsisli sıçanlarda, hem oksidatif stresi hem de mitokondriyal hasarı azalttığını belirlemişlerdir. Yine Shang ve ark., (2009) deneysel sepsis oluşturdıkları sıçanlarda melatonin verilmesinin akciğer enfeksiyonu ve hasarını azalttığını belirlemişler ve melatoninin bu etkisini nükleer faktör kapa B ile ilişkilendirmişlerdir. Yine Kleber ve ark., (2014) yaptıkları bir çalışmada melatonin reseptörlerinin aktivasyonu ile sepsiste yangısal süreçlerin değiştirilebileceğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular sonucunda melatoninin inflamatuvar hastalıklarda immunolojik işlevlerin düzenlenmesinde potansiyel tedavi edici bir ajan olarak düşünülmesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Deneysel çalışmaların yanı sıra sepsisli hastalarda melatonin ve organ hasarı dahil bir çok parametre arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Sepsiste bakterilerin hücre duvarında bulunan LPS'ler hücrel ve humoral immun işlevleri etkilerler. Bunun sonucunda klinik olarak sepsisin göstergesi kabul edilen inflamatuvar sitokin düzeyleri artar. Enfeksiyon aynı zamanda ROS ve RNS üretimini de artırır. Tüm bu faktörler mikrovasküler disfonksiyona ve organ hasarına yol açarlar (Gitto ve ark., 2009). Neonatal sepsisli çocuklarda yapılan bir çalışmada sepsisli grupta melatonin düzeylerinin kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir (El-Mashad ve ark., 2016). Başka bir çalışmada erişkin insanlarda sepsise bağlı mortalite ve melatonin arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonuçlar ilginç bir şekilde melatonin düzeyi yüksek olan hastalarda ölüm oranlarının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu sonucu durumu daha ağır olan hastaların daha fazla melatonin salgılayarak düzeltmeye çalışmasına bağlamışlardır (Lorente ve ark., 2015).

Sepsisli hastalar çoğu zaman yoğun bakım ünitelerinde tedavi edilmek zorunda kalırlar. Yoğun bakım ünitelerinde ışığın bulunması, hastalara müdahale sırasında oluşan gürültü ve cihazların ürettiği ses gibi bir çok faktör hastalarda sirkadiyen ritimin bozulmasına yol açar. Bozulan sirkadiyen ritmin nedenlerinden birisi olarak sürekli ışığa maruz kalma veya ilaç terapisine bağlı melatonin salgısının azalması gösterilmektedir (Billing ve ark., 2015). Mekanik ventilatöre bağlı hastalarda melatonin salınımındaki bozulmanın sedatif ilaç alımından bağımsız bir şekilde gerçekleştiği belirtilmiştir (Olofsson ve ark., 2004). Yoğun bakım ünitelerinde yatan

septik hastalarda da melatonin ritminin bozulduğu ortaya konulmuştur (Mundigler ve ark., 2002).

Yağ dokunun yapısı ve işlevleri de günümüzde sepsis ve sepsise bağlı ölümlerle ilişkilendirilmektedir. Yağ doku yapısı ve dağılımı ile ilgili yapılan çalışmalarda, karın bölgesi organ yağ oranı derialtı yağ oranına göre yüksek olan insanların sepsise bağlı ölümlere vücut kitle indeksinden bağımsız olmak üzere daha duyarlı olduklarını göstermiştir (Kaess ve ark., 2012; Pisitsak ve ark., 2016). Bu durumu LDL düzeylerindeki değişimlere bağlayan araştırmacılar bulunmaktadır (Lemieux ve ark., 1995; Lee ve ark., 2018). Diğer taraftan deneysel çalışmalarda ise obez farelerin sepsise daha duyarlı olduğu ve daha yüksek mortalite yüzdesi gösterdiği belirlenmiştir. Sepsis duyarlılığı ve mortalite yüzdesindeki bu artışlar STAT3 sinyal yolağı ile ilişkilendirilmiştir (Kaplan ve ark., 2016). Yukarıdaki bulgulardan farklı olarak karın içi yağ doku miktarının CLP ile oluşturulan sepsis modelinde sınırlayıcı bir faktör olduğunu göstermiştir. Çünkü karın içi bölgesinde yağ oranı yüksek olan deney hayvanlarında apse oluşma oranının daha yüksek olduğu ve böylelikle hayatta kalma oranının arttığı belirlenmiştir (Niiyama ve ark., 2016). Bizim yaptığımız çalışmada karın içi yağ doku oranının çok fazla olmadığından dolayı sepsisin gelişimine engel olacak bir sorun oluşturmadığını düşünmekteyiz.

Günümüzde yağ doku endokrin/immun bir organ olarak kabul edilmekte ve yağ doku sepsis ilişkisi salgıladığı adipokinler üzerinden kurulmaktadır. Yağ dokudan salgılanan ve adipokinler olarak bilinen adiponektin, leptin, TNF alfa ve IL-6 gibi maddeler sistemik yangısel sürece bir cevap olarak üretilirler (Berg ve ark., 2005). Bunlar ilave olarak yağ dokudan salgılanan resistin ve visfatin de immun işlevleri tanımlanan diğer iki hormondur.

Son yıllarda melatonin ve yağ doku arasındaki ilişki de dikkat çekmektedir. Melatonin biyolojik ritmi ayarlayan merkezi düzenlemenin bir üyesidir. Melatonin düzeyleri ile yağ doku arasındaki ilişki ilk olarak metabolik etkiler yönünden dikkate alınmıştır. Melatonin yoksunluğunun insulin direnci, glukoz intöleransı, adipoz doku, kas, karaciğer ve pankreasta işlev bozukluğuna ve dolayısı ile enerji alımı ve depolanması ile karanlık/aydınlık döngüsü arasındaki ilişkinin bozulmasına yol açtığı bilinmektedir (de Farias ve ark., 2015). Melatonin inguinal beyaz yağ dokunun

kahverengi yağ dokuya dönüşmesini sağlayarak vücut ağırlığı ve termojenik işlevleri de düzenleyen bir ajan olarak dikkat çekmektedir (Jiménez-Aranda ve ark., 2013). Melatoninin sıçanlarda kilo alımını ve abdominal yağ birikimini azaltıcı etkileri ortaya konulmuştur. Melatonin yağ abdominal yağ birikimini azaltırken yağın subkutan, epididimal ve retroperitonel bölgede birikmesine yol açar (Alonso-Vale ve ark., 2004a ve b).

Melatonin yağ doku üzerine metabolik etkilerinin yanı sıra yağ dokudan salgılanan leptin, adiponektin, resistin ve visfatin gibi hormon düzeylerini de etkilemektedir.

Adiponektin yağ dokudan salgılanan bir hormon olup sağlıklı yetişkinlerde ve farelerde oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur. Adiponektin yağ dokudan trimerik, heksamerik ve yüksek molekül ağırlıklı olmak üzere üç farklı formda salgılanır (Wang ve ark., 2008). Bunlardan yüksek molekül ağırlıklı adiponektin türevi biyolojik olarak adiponektinlerin etkisini gösteren ana molekül olup AMP ile aktive olan protein kinaz üzerinden hücrel etkilerini gösterir (Pajvani ve ark., 2003). Adiponektinin anti inflamatuvar etkileri olarak, makrofajların fagositoz aktivitesinin azaltılması ile makrofajlardan ve yağ dokudan inflamatuvar sitokinlerin salınmasının yavaşlatılması dikkat çekmektedir (Park ve ark., 2008; Tsuchihashi ve ark., 2006; Yokota ve ark., 2000). Adiponektinin aynı zamanda insülin-duyarlılaştırıcı bir hormon olarak ta kabul edilir (Teoh ve ark.,2008; Robinson ve ark., 2011).

Sıçanlar üzerinde yapmış olduğumuz çalışmada yağ doku adiponektin gen ekspresyonu değerleri açısından SHAM grubunda elde edilen değerler ile PLT-CLP grubundaki değerlerin hem 12. hem de 24. saatlerde birbirlerine benzediği görülmüştür. SHAM pinealektomi yapılan grupta ise adiponektin gen ekspresyonu değerlerinin her iki gruba göre azaldığı hatta 24. Saatte negatif değere ulaştığı görülmektedir. Bu durumda sepsiste adiponektin düzeyleri melatonin varken azalırken melatonin yokken herhangi bir azalma ortaya çıkmadığını düşündürmektedir.

Melatonin CLP üzerine olan etkileri CLP yapılan sıçanlarda incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır (Fink ve ark., 2014);

- Melatonin uygulaması hayatta kalma oranını artırmıştır,
- Seçici bir melatonin agonisti olan ve herhangi bir antioksidan etkisi olmayan ramelteon da melatonine benzer etkiler göstermiştir,
- Melatonin reseptör antagonisti olan luzindol hem melatoninin hem de ramelteonun koruyucu etkilerini önlemiştir,
- Melatonin reseptörü olmayan knock-out farelerde hem melatoninin hem de ramelteon bir etki göstermemiştir.

Bu sonuçlar melatoninin sepsis üzerine reseptörleri aracılığı ile etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Melatoninin deneysel sepsis modellerinde inflamatuvar sitokinler üzerine olan etkileri farklılık göstermektedir. LPS ile sepsis oluşturulan sıçan ve farelerde melatonin uygulaması artan TNF alfa düzeylerinde azalmaya yol açmıştır (Baykal ve ark., 2000; Wu ve ark., 2001). Başka bir çalışmada ise *Candida* ile sepsis oluşturulmuş ancak melatoninin TNF alfa düzeyleri üzerine bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Yavuz ve ark., 2007). Diğer taraftan melatonin aynı çalışmada artan IL-6 seviyelerini ise azaltmıştır. Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise melatonin CLP sonrası artan IL-1 β seviyelerini azaltmıştır (Wu ve ark., 2008). Bu bulgular melatoninin proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerindeki artışı azalttığını göstermektedir. Yukarıdaki bulgular belirli dozlarda dışarıdan melatonin uygulanması ile elde edilen sonuçlardır. Bizim çalışmamızda ise pineal bezden salgılanan fizyolojik düzeydeki melatoninin yağ dokusu adiponektin gen ekspresyonu düzeyleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yukarıdaki moleküller proinflamatuvar moleküller iken adiponektin ise güçlü antiinflamatuvar etkileri olan bir hormondur. Pinealektomi yapılmayan grupta CLP sonrası adiponektin gen ekspresyonu düzeylerinde azalma olması melatonin varlığında antiinflamatuvar etkinin melatonine bağlı olarak ortaya çıkmış olmasını düşündürmektedir. Dolayısı ile yağ doku melatonin varlığında adiponektin düzeylerini artırmamış olabilir. Bizim çalışmamızda PLT operasyonu sonrası sepsis geliştirilmesi için 30 gün beklenmiştir. Bu süre oldukça uzun bir süredir ve melatonin yoksunluğunun kardiyovasküler etkilerinin ortaya çıkması için ideal bir süredir. Ancak bu süre boyunca melatonin

yoksunluğu sıçanlarda oksidatif stresin artmasına ve inflamatuvar yanıtın ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir. Böyle bir durumda yağ dokunun kendisini var olan bu değişikliklere adapte etmesi mümkündür. Ortaya çıkan sonuçlardaki farklılıkların nedeni bu durum olabilir.

Adiponektin bir "anti-inflamatuvar" molekül olarak işlev görür. Günümüzde adiponektinin, sepsis ve septik şok üzerinde potansiyel koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir (Ouchi ve ark.,2007; Teoh ve ark.,2008). Hücre kültürü çalışmalarında adiponektinin inflamatuvar uyarılara cevap olarak makrofaj, T hücre ve endotel hücresi aktivitelerini azalttığı ortaya konulmuştur (Ouchi ve ark., 1999; Yokota ve ark., 2000; Okamoto ve ark., 2008). Diğer taraftan adiponektin üretemeyen farelerde makrofaj aktivasyonunun ve proinflamatuvar sitokin düzeylerinin arttığı ve kendiliğinden akciğer inflamasyonu gelişme riskinin yükseldiği ortaya konulmuştur (Summer ve ark., 2008). Aynı tür farelerde CLP sonrası yangısel cevabın çok daha güçlü bir şekilde ortaya çıktığı ve sepsise bağlı ölümlerin daha çok görüldüğü bildirilmektedir (Teoh ve ark., 2008; Uji ve ark., 2009). Adiponektin ile ilgili insan ve deney hayvanı çalışmaları birbirleri ile çelişmektedir.

Deney hayvanlarının tam tersine adiponektin düzeyleri yüksek insanlarda sepsise bağlı ölüm oranları daha yüksek çıkmaktadır (Walkey ve ark., 2010). Bu farklılığı izah etmek her ne kadar güç olsa da, iki farklı hipotez ileri sürülebilir;

- (1) Akut dönemde adiponektin düzeylerindeki artış akut proinflamatuvar cevaba bir yanıt olarak ortaya çıkabilir,
- (2) Adiponektin reseptörlerinde bir direnç gelişmiş olabilir.

Adiponektin gen ekspresyonu düzeylerinde azalma ortaya çıkması bizim çalışmamızdaki sonuçların insan çalışmaları ile daha fazla benzediğini göstermektedir.

Çalışmamızda incelenen dört farklı yağ doku hormonu arasında en belirgin değişiklik visfatin gen ekspresyonu sonuçlarında gözlemlenmiştir. Her iki CLP yapılan grupta da 12. saatte yağ doku visfatin gen ekspresyonu değerlerinin azaldığı ancak 24. saatte PLT grubunda negatif düzeyler halen devam etmekte iken PLT yapılmayan grupta gen ekspresyonu değerlerinin pozitifte döndüğü görülmüştür.

Pre-B hücre koloni uyarıcı faktör (PBEF) veya nikotinamid fosforiboziltransferaz (NAMPT) olarak da bilinen Visfatin, inflamatuvar ve metabolik koşullarda önemli rol oynamaktadır (Luk ve ark.,2008). Visfatinin ekprese olduğu en önemli doku visseral yağ dokusudur (Josephs ve ark., 2007). Yağ dokunun yanı sıra visfatinin insan ve rodentlerde karaciğer ve lökositlerde de üretildiği bilinmektedir (Luk ve ark.,2008; Imai ve ark., 2009).

Yağ dokusu ve karaciğer kaynaklı visfatinin tip 2 diyabet, kronik hepatit ve kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli kronik hastalıklarda pro-inflamatuvar etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Luk ve ark.,2008; Moschen ve ark.,2011). İnsanlarda septik koşullarda serum visfatin düzeylerinin arttığı ve bu artışın gecikmiş nötrofil apoptozisi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Jia ve ark., 2004). Diğer taraftan visfatin merkezi etkileri olan bir ajan olarak ta dikkat çekmektedir. Nitekim, intraserebroventriküler visfatin enjeksiyonu yapılan sıçanlarda besin alınımı ve vücut ağırlığı azalırken vücut ısısının arttığı belirlenmiştir. Visfatinin bu etkileri pro-inflamatuvar sitokin düzeylerini, prostaglandin sentez enzimlerini ve proopiomelanokortin düzeylerini artırarak meydana getirdiği anlaşılmıştır (Park ve ark., 2011). Liu ve ark. (2013) sıçanlara intraperitoneal olarak orta ve yüksek düzeyde lipopolisakkarit (LPS) uygulayarak endotoksemi geliştirmişler ve elde ettikleri kalp dokularını incelemişlerdir. Enjeksiyondan 6 saat sonra alınan kalp dokusu visfatin gen ekspresyon düzeylerinin 4 mg/kg LPS verilen grupta arttığı ancak 20 mg/kg verilen grupta ise azaldığını belirlemişlerdir.

Visfatin akciğerdeki yangısal değişikliklerle de ilişkilendirilen bir hormondur. Sepsis kaynaklı akut solunumsal distres sendromunda visfatin düzeylerinin bir biyomarker olarak kullanılabilmesi dahi belirtilmektedir (Ye ve ark., 2005). Yine LPS verilerek akciğer yangısı oluşturulan sıçanlarda visfatin sentezini sağlayan enzim aktivitesinin FK-866 ile baskılanmasının vasküler geçirgenlik, yangısel sitokin ekspresyonu ve parankim doku hasarı gibi bir çok etkiyi azalttığı belirlenmiştir (Moreno-Vinasco ve ark., 2014).

Visfatin transkripsiyonu, adipoz dokuda interlökin 6 (IL-6), tümör nekroz faktörü ve glukokortikoidler tarafından düzenlenir ve nötrofillerde de üretilir (Jia ve ark., 2004; Andrade-Oliveira ve ark., 2015). Bu nedenle, visfatin, proinflamatuvar

olarak görev yapabilir ve kronik adipoz doku inflamasyonu ya da otoimmün hastalıklar tarafından indüklenen insülin direnci gibi bazı enflamatuvar durumları düzenler. Son zamanlarda visfatinin, akut immun strese doku ve organ hasarını uyardığı ve aynı zamanda immun yanıtı katıldığı ortaya çıkmıştır. Visfatin septik koşullar altında nötrofil apoptozisini geciktirir (Jia ve ark., 2004).

Çalışmamızda visfatin için ortaya çıkan sonuçlar ile adiponektin için ortaya çıkan sonuçları birlikte yorumlamayı uygun bulduk. PLT-CLP grubunda 12. saatte antiinflamatuvar hormon olan adiponektin gen ekspresyonu değerleri en yüksek seviyede iken aynı saatte bir proinflamatuvar olan visfatin düzeyleri en düşük seviyede belirlenmiştir. Yine aynı saatte SHAM PLT-CLP grubunda adiponektin gen ekspresyon değerleri pozitif iken visfatin gen ekspresyon değeri ise negatif olarak belirlenmiştir. CLP sonrası 24. saatte ise PLT-CLP grubunda benzer seyir devam ediyorken SHAM PLT-CLP grubunda tam tersi bir durum ortaya çıkmıştır. Bu durum bir antiinflamatuvar hormon düzeyinde artış varken herhangi bir proinflamatuvar hormon düzeyinde azalma olmasının beklenmesi ile izah edilebilir. Diğer taraftan adiponektinin aksine visfatin başlıca sentezlenme yeri sadece yağ doku değildir. Visfatin aynı zamanda, kemik iliği, karaciğer ve kaslarda da sentezlenir (Flier ve Maratos-Flier, 2008). Bu durumda yağ dokunun visfatin için adiponektin ile aynı cevabı oluşturması beklenemez. Diğer taraftan yukarıda da belirtildiği gibi CLP yapılan her iki grupta melatonin varlığı yönünden farklılık söz konusudur. Melatoninin kendisi de sepsisten bağımsız olarak hem antiinflamatuvar hem de antioksidan etki gösterir. Ayrıca dikkate alınması gereken başka bir durum da yağ doku örneklerinin alınma zamanıdır. Bu çalışmada hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda barındırılmışlardır. Tüm gruplarda 12. saat örnekleri aydınlık döngünün sonunda alınmışken 24. saat örnekleri karanlık döngünün sonunda alınmıştır. SHAM PLT yapılan grupta adiponektin ve visfatin açısından 12. ve 24. saatlerdeki veriler arasındaki farklılığın bir nedeni de bu durum olabilir. Çünkü bu gruptaki sıçanlarda gece boyunca melatonin salgısı devam etmiş ancak gündüz ışığın etkisi ile bu salgı baskılanmıştır. Farklılığın başka bir nedeni olarak ise sepsise karşı vücudun verdiği yanıtta adaptasyon veya saatlere göre farklılık ta olabilir.

Resistin ilk yıllarda yağ hücrelerinden salgılanan bir polipeptid olarak belirlenmiş olup genel olarak obezite ve insülin direnci üzerine olan etkileri araştırılmış bir adipokin olarak bilinmektedir (Steppan et al., 2001). Resistinin ilk belirlenen etkilerinin diyabet ve obezite üzerine olması yağ dokuda resistin gen ekspresyonu düzeylerini etkileyen birçok faktörün bu mekanizma üzerinden etkilerinin araştırılmasına ve ortaya konulmasına yol açmıştır. Nitekim tiazolidindionlar, obezite, insülin, Tümör Nekroz Faktör α , İsopterenol, Epinefrin, Somatotropin, perhiz ve lipopolisakkarit Resistin gen ekspresyonunu baskılamakta, glukoz, insülin, Deksametazon, Hiperprolaktinemi, testosteron, büyüme hormonu ve lipopolisakitler tarafından uyarılır (Banerjee ve ark. 2003). Resistin gen ekspresyonu üzerine uyarıcı ve baskılayıcı birçok maddenin etkileri ortaya konulmuş olmasına rağmen bu konu tam olarak aydınlatılamamış olup birbiri ile çelişkili sonuçlar halen bulunmaktadır.

Resistin'in insan yağ hücreleri dahil tek hücreli lökositler, makrofajlar, dalak ve kemik iliği hücrelerinde de eksprese olduğunun anlaşılması üzerine yangısal süreçlerle olan ilişkisi de araştırma konusu olarak ele alınmıştır (Nagaev ve Smith 2001; Lu ve ark., 2002; Patel ve ark., 2003). Resistinin yangı ilişkili etkileri septik, non septik, endotoksemik, romatoid artrit ve ateroskleroz gibi bir çok farklı durumda araştırılmıştır (Reilly ve ark., 2005; Senolt ve ark., 2007; Koch ve ark., 2009; Çekmez ve ark., 2011; Park ve ark., 2011).

Resistin'in proinflatuar özellikleri vardır (Patel ve ark.,2003; Silswal ve ark.,2005), Bu nedenle, yenidoğan sepsisinin bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Aliefendioğlu ve ark., 2014). Buna ek olarak, uzun dönem çalışmalar, sepsis tedavisi boyunca resistin ve inflammatuar sitokinler arasındaki korelasyonları göstermiştir (Sundén-Cullberg ve ark.,2007; Vassiliadi ve ark.,2012).

Bu çalışmada sepsis uygulanan her iki grupta da yağ doku resistin gen ekspresyonu düzeylerin kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu artışın sepsis sonrası 12. Saatte daha güçlü bir şekilde ortaya çıktığı PLT yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu anlaşılmıştır. Her iki grupta da 24. Saatte yağ doku gen ekspresyonu düzeyleri 12. Saate göre bir

miktar azalmakla birlikte kontrol grubuna göre hala yüksek düzeyde seyretmeye devam etmiştir.

Leptinin, akut sistemik inflamasyonda, hem inflamatuvar hem de koruyucu rolü olabileceği ve T hücrelerine, monositlere, endotel hücrelerine ve sitokin üretimine yönelik birçok aktive edici etkisi olduğu bildirilmiştir (Fantuzzi 2005; Otero ve ark., 2006).

Leptin "açlık sinyali" olmasından çok, açlığın bir işaretidir, düşen serum leptin konsantrasyonu, hayati fonksiyonlar için enerji rezervlerini korumaya çalışarak nörohumoral ve davranış değişikliklerine neden olmaktadır. Böylece, açlık süresi ve vücut yağ kütesinin azalmasından sonra, hayati organlar, yani beyin, kalp ve karaciğerin işlevi için yeterli enerji sağlamak için toplam enerji tüketiminde azalmaya yol açan leptin düzeylerinde bir düşüş meydana gelmektedir (Ahima ve ark., 1996).

Leptinin nöroprotektif ve nörojenetik etkilerini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Avraham ve ark.,2011; Pérez-González ve ark.,2011; Folch ve ark.,2012). Egzotik leptin uygulaması, iskemi ve inme sonrası nöronal hasarı azaltır. Sinir kök hücrelerinin gelişimini etkileyerek nöron ve glia hücrelerinin sayısını arttırarak nörojenetik ve nöroprotektif etkileri olduğunda bildirilmiştir (Avraham ve ark.,2011; Pérez-González ve ark.,2011; Folch ve ark.,2012). Birçok çalışma leptinin sistematik uygulanmasının sempatik sinir aktivitesini arttırdığını göstermiştir (Cao ve ark.,1997; Haynes ve ark.,1997a,b).Ayrıca yapılan çalışmalarda leptinin kas, kalp, akciğerler, karaciğer ve sempatik sinir sistemi üzerindeki merkezi etkileriyle ilgili mekanizmaya odaklanmıştır (Campfield ve ark., 1995; Chen ve ark., 1999; Li ve ark., 2013). Leptinin ayrıca merkezi nöronları uyardığı gösterilmiştir (Mark ve ark., 2009). Buna ek olarak, leptinin perineuriyum ve endoneuriyumda önemli bir rolü vardır (Maeda ve ark.,2009).

Sistemik enflamasyon sırasında leptinin yukarı veya aşağı regüle edildiği ya da değişmediğine dair çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (Langouche ve ark., 2009; Koch ve ark.,2010). Ayrıca kan koagülasyonunun engellenmesindeki baskın rolüne ek olarak, insan aktive protein C (APC), inflamasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol

oyunmaktadır (Esmon ve ark., 1991) APC'nin çoklu biyolojik aktiviteleri, fibrinolitik, immün modüle edici ve antiapoptotik özellikler içeren klinik ve deneysel ortamlarda gösterilmiştir (Joyce ve ark.,2002; Brueckmann ve ark.,2003).

Sepsis ve septik şokta leptinin rolü tartışmalıdır. Daha önce yayınlanan raporlarda, yüksek leptin düzeylerinin sepsis ve septik şokta artmış sağkalım ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Bornstein ve ark., 1998; Maruna ve ark., 2001). Çalışmamızda olduğu gibi bazı diğer çalışmalardaki raporlarda da leptin ve sepsis arasında bir korelasyon gösterilmemiştir (Vachharajani 2008). Septik şokta, leptin serum düzeylerindeki ufak değişiklikler, operatif stres sonrası leptinde görülen zamansal bir azalmayla ve bunun ardından başlangıç seviyelerinin biraz üzerine yükselen bir artışla paraleldir (Kain ve ark.,1999).

Bizim çalışmamızda ise, sepsis sonrasında leptin gen ekspresyon düzeyinde artış gözlenmiştir. Çalışmamızda sepsis oluşturulan 2. Grup (PLT, CLP) 12. Ve 24. Saatlerde adipoz dokudaki leptin gen ekspresyonu düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca 1. Grup (Sham PLT, Sham CLP) ve 3. Grup (Sham PLT, Sham CLP) 12. Saatleri karşılaştırıldığında leptin ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir.

Sıçanları içeren bir çalışmada, LPS enjeksiyonundan sonra visfatinin miyokardiyal ekspresyonu artmış ve visfatin inhibitörüyle birlikte uygulanması ise miyokardiyal enflamasyonu ve hasarı azaltarak, kalp fonksiyonunu arttırmıştır (Moreno-Vinasco ve ark.,2014). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise sepsis oluşturulan sıçanların adipoz dokularında visfatin ekspresyonu değerlerinde ciddi bir azalmanın olduğu gözlemlenmiştir.

Enflamatuar barsak hastalığı (Moschen ve ark.,2007), sedef hastalığı (Koczan ve ark.,2005) ve romatoid artrit dahil olmak üzere çeşitli kronik inflamatuvar hastalıklarda PBEF ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (Nowell ve ark., 2006; Otero ve ark., 2006).

Çalışmalar visfatinin ekspresyonunun akut pulmoner hasar (Ye ve ark., 2005) ve tip II diabetes mellitus (Sandeep ve ark., 2007) romatoid artrit (Nowell ve ark.,2006) gibi akut ve kronik inflamatuvar koşullarda arttığını göstermiş olduğundan,

periodontal tedaviye bağlı olarak visfatin düzeylerindeki düşüş, bu faktörlerle ilgili hastalık riskinde azalmaya neden olabilir (Abolfazli ve ark., 2015).

Melatonin, anti-oksidatif ve anti-inflamatuar bir düzenleyici olarak, temel pro-inflamatuar transkripsiyon faktörü NF-kB aktivitesini modüle ederek ve STAT3 yolağı da dahil olmak üzere diğer sinyal yolaklarını düzenleyerek ikili bir rol oynamaktadır (Luk ve ark., 2008; Hajianfar ve ark., 2011). Kang ve ark., yapmış oldukları çalışmada melatoninin, iNOS ve NO üretimini baskıladığını ve artan visfatini azalttığını tespit etmişlerdir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu araştırma ile PLT yapılan ve CLP modeli ile sepsis oluşturulan sıçanlarda adipoz dokuda adiponektin, resistin, leptin ve visfatin gen ekspresyonu düzeylerinde ne gibi değişimlerin olabileceğinin öngörülmesi sağlanmıştır.
- Çalışmamızda CLP ile sepsis oluşturulan sıçanların adiponektin düzeyleri melatonin varlığında azalma gösterirken, melatonin yokluğunda herhangi bir azalma göstermemiştir.
- Visfatin gen ekspresyon değerleri CLP grubunda 12. saatte azalma göstermiş olup, 24. saatte PLT grubunda negatif düzeyde iken PLT yapılmayan grupta pozitif değerde seyrettiği görülmüştür. Bu bulgular yağ dokunun sepsise visfatin sentezini azaltarak cevap verdiğini ancak melatonin varlığında bu cevabın sınırlı kaldığını göstermektedir.
- Çalışmamızda sepsis uygulanan her iki grupta da yağ doku resistin gen ekspresyonu düzeylerin kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği belirlenmiştir.
- Çalışmamızda sepsis oluşturulan 2. Grup'ta 12. ve 24. saatlerde adipoz dokudaki leptin gen ekspresyonu düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Sepsis sonrasında leptin gen ekspresyon düzeyinde artış gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abolfazli N, Jabali S, Saleh Saber F, Babaloo Z, Shirmohammadi A. Effect of non-surgical periodontal therapy on serum and salivary concentrations of visfatin in patients with chronic periodontitis. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2015; 9(1): 11-17.
- Adamczyk-Sowa M, Sowa P, Zwirska-Korczala K. Labeled [³H] – thymidine incorporation in the DNA of 3T3-L1 preadipocytes due to MT₂-and not MT₃-melatonin receptor. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65(1): 135–43.
- Adrych K, Smoczynski M, Stelmanska E, Korczynska J, Goyke E, Swierczynski J. Serum adiponectin and leptin concentrations in patients with chronic pancreatitis of alcoholic and nonalcoholic origin. *Pancreas* 2008; 36(2): 120–4.
- Agil A, Rosado I, Ruiz R, Figueroa A, Zen N, Fernández-Vázquez G. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res* 2012; 52: 203–210.
- Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996; 18: 250-2.
- Aliefendioğlu D, Gürsoy T, Çağlayan O, Aktaş A, Ovalı F. Can resistin be a new indicator of neonatal sepsis? *Pediatr Neonatol* 2014; 55(1): 53-7.
- Alonso-Vale MI, Borges-Silva CN, Anê GF, Andreotti S, Machado MA, Cipolla-Neto J, Lima FB. Light/dark cycle-dependent metabolic changes in adipose tissue of pinealectomized rats. *Horm Metab Res* 2004a; 36(7): 474-479.
- Alonso-Vale MI, Anê GF, Borges-Silva Cd, Andreotti S, Peres SB, Cipolla-Neto J, Lima FB. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. *Metabolism* 2004b; 53(4): 500-506.
- Alonso-Vale MI, Andreotti S, Peres SB, Anê GF, das Neves Borges-Silva C, Neto JC, Lima FB. Melatonin enhances leptin expression by rat adipocytes in the presence of insulin. *Am. J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(4): 805-12.
- Alonso-Vale MI, Andreotti S, Borges-Silva Cd, Mukai PY, Cipolla-Neto J, Lima FB. Intermittent and rhythmic exposure to melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and dexamethasone effects on leptin expression. *J Pineal Res* 2006; 41(1): 28-34.

- Alonso-Vale MI, Peres SB, Vernochet C, Farmer SR, Lima FB. Adipocyte differentiation is inhibited by melatonin through the regulation of C/EBPbeta transcriptional activity. *J Pineal Res* 2009; 47(3): 221-7.
- Andrade-Oliveira V, Câmara NO, Moraes-Vieira PM. Adipokines as drug targets in diabetes and underlying disturbances. *J Diabetes Res* 2015; 2015: 681612.
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1303-10.
- Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab* 2008; 34(1): 2–11.
- Arendt J. Mammalian Pineal Rhythms. *Pineal Res Rev* 1985; 3: 161-213.
- Arendt J. Melatonin. *Clin. Endocrinol* 1988; 29(2): 205-29.
- Arendt J. The pineal gland: basic physiology and clinical implications. In: DeGroot LJ, Besser M, Burger HG, et al. eds. *Endocrinology*. Vol 1. Philadelphia: WB Saunders; 1995; 432–444.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose- specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257(1): 79-83.
- Aslan K, Serdar Z, Tokullugil AH. Multifonksiyonel hormon: leptin. *ÜT Tıp Fak Der*, 2004; 30: 113-8.
- Avraham Y, Davidi N, Lassri V, Vorobiev L, Kabesa M, Dayan M, Chernoguz D, Berry E, Leker RR. Leptin induces neuroprotection neurogenesis and angiogenesis after stroke. *Curr Neurovasc Res* 2011; 8(4): 313-22.
- Aydın M, Canpolat S, Kuloğlu T, Yasar A, Colakoglu N, Kelestimur H. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on ghrelin and peptide YY in gastrointestinal system and neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus: immunohistochemical studies in male rats. *Regul Pept* 2008; 146: 197-203.

- Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, Baue AE. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery* 1983; 94(2): 331-5.
- Banerjee RR. and Lazar MA. Resistin: molecular history and prognosis. *J Mol Med* 2003; 81(4): 218-26.
- Bartness TJ, Wade GN. Photoperiodic control of seasonal body weight cycles in hamsters. *Neurosci Biobehav Rev* 1985; 9(4): 599-612.
- Bartness TJ, Song CK. Thematic review series: adipocyte biology. Sympathetic and sensory innervation of white adipose tissue. *J Lipid Res* 2007; 48(8): 1655–1672.
- Baykal A, Kavuklu B, Iskit AB, Guc MO, Hascelik G, Sayek I. Experimental study of the effect of nitric oxide inhibition on mesenteric blood flow and interleukin-10 levels with a lipopolysaccharide challenge. *World J Surg* 2000; 24(9): 1116-20.
- Baykal A, Iskit AB, Hamaloglu E, Guc MO, Hascelik G, Sayek I. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF α concentrations after lipopolysaccharide challenge. *Eur J Surg* 2000; 166(9): 722-7.
- Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol* 2010; 159(2): 253-64.
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96(9): 939-49.
- Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A, Monjo M, Thommesen L, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone* 2004; 35(4): 842-9.
- Billings ME, Watson NF. Circadian dysrhythmias in the intensive care unit *Crit Care Clin* 2015; 31(3); 393-402.
- Blalock JE. The immune system as the sixth sense. *J Intern Med* 2005; 257(2): 126-38.
- Blüher M. Do adipokines link obesity to its related metabolic and cardiovascular *Diseases Clin Lipidology* 2010; 5: 95-107.
- Blüher M, Adipokines-removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Mol Met* 2014; 3(3): 230-40.

- Blüher M, Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism* 2015; 64(1): 131-45.
- Bordji K, Grillasca JP, Gouze JN, Magdalou J, Schohn H, Keller JM, Bianchi A, Dauça M, Netter P, Terlain B. Evidence for the presence of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and gamma and retinoid Z receptor in cartilage. PPAR gamma activation modulates the effects of interleukin-1 beta on rat chondrocytes. *J Biol Chem* 2000; 275(16): 12243-50.
- Bornstein SR, Licinio J, Tauchnitz R, Engelmann L, Negrão AB, Gold P, Chrousos GP: Plasma leptin levels are increased in survivors of acute sepsis: associated loss of diurnal rhythm, in cortisol and leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(1): 280-3.
- Bouchard S, Bousquet C, Roberge AG. Characteristics of dihydroxyphenylalanine/5-hydroxytryptophan decarboxylase activity in brain and liver of cat. *J Neurochem* 1981; 37(3): 781-787.
- Boutin JA, Aedinot V, Ferry G, Delagrangre P. Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26(8): 412-419.
- Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010; 37(1): 11-32.
- Brueckmann M, Marx A, Weiler HM, Liebe V, Lang S, Kaden JJ, Zieger W, Borggreffe M, Huhle G, Konstantin HK. Stabilization of monocyte chemoattractant protein-1-mrna by activated protein c. *Thromb Haemost* 2003; 89(1): 149-60.
- Bruno VA, Scacchi PA, Perez-Lloret S, Esquifino AI, Cardinalli DP, Cutrera RA. Melatonin treatment counteracts the hyperthermic effects of lipopolysaccharide injection in the syrian hamster. *Neurosci Lett* 2005; 389(3): 169-72.
- Brydon L, Petit L, Delagrangre P, Strosberg AD, Jockers R. Functional expression of MT2 (Mel1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes. *Endocrinol* 2001; 142(10): 4264-4271.
- Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997; 336(3): 186-195.

- Busso N, Karababa M, Nobile M, Rolaz A, Van Gool F, Galli M, Leo O, So A, De Smedt T. Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD. *PLoS One* 2008; 21(5): e2267.
- Caldefie-Chèzet F, Moinard C, Minet-Quinard R, Gachon F, Cynober L, Vasson M. Dexamethasone treatment induces long-lasting hyperleptinemia and anorexia in old rats. *Metabolism* 2001; 50(9): 1054-1058.
- 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: 546-9.
- Canpolat S, Sandal S, Yilmaz B, Yasar A, Kutlu S, Baydaş G, Keleştimur H. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on serum leptin levels in male rats. *Eur J Pharmacol* 2001; 428(1): 145-148.
- Cao GY, Considine RV, Lynn RB. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am J Physiol* 1997; 273: E448-52.
- Cao H. Adipocytokines in obesity and metabolic disease. *J Endocrinol* 2014; 8;220(2),T47–59.
- Cardinalli DP, Pévet P. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Med Rev* 1998; 2(3): 175-90.
- Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine* 2005; 27(2): 89-200.
- Chen SC, Kochan JP, Campfield LA, Burn P, Smeyne RJ. Splice variants of the OB receptor gene are differentially expressed in brain and peripheral tissues of mice. *J Rec* 1999; 19(1-4): 245-66.
- Cinti S. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297(5): E977–86.
- Cook KS, Min HY, Johnson D, Chaplinsky RJ, Flier JS, Hunt CR, Spiegelman BM. Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science* 1987; 24;237: 402-405.

- Crouser ED. Mitochondrial dysfunction in septic shock and multiple organ dysfunction syndrome. *Mitochondrion* 2004; 4(5-6): 729-741.
- Çam A, Erdoğan MF. Melatonin. *AÜ Tıp Fak. M.* 2003; 56(2): 103-112.
- Cekmez F, Canpolat FE, Cetinkaya M, Aydinöz S, Aydemir G, Karademir F, Ipcioglu OM, Sarıcı SÜ. Diagnostic value of resistin and visfatin, in comparison with C-reactive protein, procalcitonin and interleukin-6 in neonatal sepsis. *Eur Cytokine Netw* 2011; 22(2): 113-7.
- Dagogo-Jack S, Umamaheswaran I, Askari H, Tykodi G. Leptin response to glucocorticoids Occurs at physiological doses and is abolished by fasting. *Obes Res* 2003; 11(2): 232-237.
- Dardeno TA, Chou SH, Moon HS, Chamberland JP, Fiorenza CG, Mantzoros CS. Leptin in human physiology and therapeutics. *Front Neuroendocrin* 2010; 31(3): 377-93.
- De Farias Tda S, de Oliveira AC, Andreotti S, do Amaral FG, Chimin P, de Proença AR, Leal FL, Sertié RA, Campana AB, Lopes AB, de Souza AH, Cipolla-Neto J, Lima FB. Pinealectomy interferes with the circadian clock genes expression in white adipose tissue. *J Pineal Res* 2015; 58(3): 251-61.
- Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheer E, Liberty C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol* 2011; 19(4): 198-208.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2013; 39(2): 165-228.
- Duthie GG, Wahle KW, James WP. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr Res Rev* 1989; 2(1): 51-62.
- El-Mashad AR, Elmahdy H, El-Dib M, Elbatch M, Aly H. Can melatonin be used as a marker for neonatal sepsis? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(17): 2870-3.

- Esmon CT, Taylor FB, Snow TR. Inflammation and coagulation: linked processes potentially regulated through a common pathway mediated by protein C. *Thromb Haemost* 1991; 66(1): 160-5.
- Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(5): 911–919.
- Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121(2): 326-30.
- Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM, O’Rahilly S. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002;110(8):1093–1103.
- Ferreira DS, Amaral FG, Mesquita CC, Barbosa AP, Lellis-Santos C, Turati AO, Santos LR, Sollon CS, Gomes PR, Faria JA, Cipolla-Neto J, Bordin S, Anê GF. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring. *Plos One* 2012; 7(6): 38795.
- Fink T, Glas M, Wolf A, Kleber A, Reus E, Wolff M, Kiefer D, Wolf B, Rensing H, Volk T, Mathes AM. Melatonin receptors mediate improvements of survival in a model of polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 2014; 42(1): e22-31.
- Flier JS, Maratos-Flier E. Biology of obesity. In: Wiener C, Fauci AS, Braunwald E, Kasper D, Hauser SI, Longo DL et al. Editors. Harrison’s principle of internal medicine. 17th ed. Philadelphia: *The mcgraw-Hill companies Inc* 2008; 262-263.
- Folch J, Pedrós I, Patraca I, Sureda F, Junyent F, Beas-Zarate C, Verdaguer E, Pallàs M, Auladell C, Camins A. Neuroprotective and anti-ageing role of leptin. *J Mol Endocrinol* 2012; 49(3): R149-56.
- Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI, Lima FB. The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism. *Arq Bras Endocrin Metabolic* 2006; 50(2); 216-229.
- Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso- Vale MI, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr* 2007; 83(5): S192-203.

- Friebe D, Neef M, Kratzsch J, Erbs S, Dittrich K, Garten A, Petzold-Quinque S, Blüher S, Reinehr T, Stumvoll M, Blüher M, Kiess W, Körner A. Leucocytes are a major source of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/pre-B cell colony (PBEF)/visfatin linking obesity and inflammation in humans. *Diabetologia* 2011; 54(5): 1200-11.
- Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I: Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Sci* 2005; 307: 426–430.
- Furugen R, Hayashida H, Yamaguchi N, Yoshihara A, Ogawa H, Miyazaki H, Saito T. The relationship between periodontal condition and serum levels of resistin and adiponectin in elderly Japanese. *J Periodontal Res* 2008; 43(5): 556-562.
- Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin as a natural ally against oxidative stress. A physicochemical examination. *J Pineal Res* 2011; 51(1): 1-16.
- Galley HF. Bench to bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis. *Crit Care* 2010; 14(4): 230.
- Gitto E, Pellegrino S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ. Oxidative stress of the newborn in the pre-and postnatal period and clinical utility of melatonin. *J Pineal Res* 2009; 46(2): 128-39.
- Gomes P, Soares-da-Silva P. L-dopa transport properties in an immortalised cell line of rat capillary cerebral endothelial cells, Rbe 4. *Brain Res* 1999; 829(1-2): 143-150.
- Guerrero JM, Reiter RJ. Melatonin-immune system relationships. *Curr Top Med Chem* 2002; 2(2): 167–179.
- Gupta DD, Riedel L, Frick HJ, Attanasio A, Ranke MB. Circulating melatonin in children: in relation to puberty, endocrine disorders, functional tests and racial origin. *Neuroendocrinol Lett* 1983; 5: 63–78.
- Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17(4): 332–41.

- Guzik TJ, Mangalat D, Korbust R. Adipocytokines novel link between inflammation and vascular function? *J Physiol Pharmacol* 2006; 57(4): 505-528.
- Hajianfar H, Hosseinzadeh MJ, Bahonar A, Mohammad K, Askari GR, Entezari MH, Keshavarz A, Ansari N. The effect of omega-3 on the serum visfatin concentration in patients with type II diabetes. *J Res Med Sci* 2011; 16(4): 490-5.
- Hardeland R, Balzer I, Poeggeler B, Fuhrberg B, Uria H, Behrmann G, Wolf R, Meyer TJ, Reiter RJ. On the primary function of melatonin in evolution: mediation of photoperiodic signals in unicells, photooxidation and scavenging of free radicals. *J Pineal Res* 1995; 18(2): 104-111.
- Hardeland R, Coto-Montes A, Poeggeler B. Circadian rhythms, oxidative stress, and antioxidative defense mechanisms. *Chronobiol Int* 2003; 20(6): 921-62.
- Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest* 1997a; 100(2): 270-8.
- Haynes WG, Sivitz WI, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL. Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension* 1997b; 30: 619-23.
- Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 2001; 50(5): 1126–1133.
- Humphrey LL, Ballard DJ, Frohnert PP, Chen CP, O'Fallon M and P. Palumbo Chronic renal failure in non-insulin- dependent diabetes mellitus. A population-based study in Rochester, Minnesota. *Ann Intern Med* 1989; 111(10): 788-796.
- Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010; 11(1): 11–18.
- Iguchi M, Kato KI, Ibayashi M. Age-dependent reduction in serum melatonin concentrations in healthy human subjects. *J Clin Endocrin Metab* 1982; 55(1): 27-9.
- Imai S. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt): a link between NAD biology, metabolism, and diseases. *Cur Pharm Des* 2009; 15(1): 20-8.

- Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 1950; 41(12): 317–318.
- Iskit AB, Sungur A, Gedikoglu G, Guc MO. The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur J Pharmacol* 1999; 20;379(1): 73-80.
- Iskit AB. Sepsiste deneysel modeller. *HÜ Yoğun Bakım Derg*, 2005; 5(2): 133-136.
- Jia SH, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, Rotstein OD, Marshall JC. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest* 2004; 113(9): 1318-1327.
- Jiménez-Aranda A, Fernández-Vázquez G, Campos D, Tassi M, Velasco-Perez L, Tan DX, Reiter RJ, Agil A. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res* 2013; 55(4): 416-423.
- Josephs T, Waugh H, Kokay I, Grattan D, Thompson M. Fasting-induced adipose factor identified as a key adipokine that is up-regulated in white adipose tissue during pregnancy and lactation in the rat. *J Endocrinol* 2007; 194(2): 305-12.
- Joyce DE, Grinnell BW. Recombinant human activated protein C attenuates the inflammatory response in endothelium and monocytes by modulating nuclear factor-kappaB. *Crit Care Med* 2002; 30: S288-293.
- Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji, Nobel Tıp Kitabevi* 2003; syf 131.
- Kaess BM, Pedley A, Massaro JM, Murabito J, Hoffmann U, Fox CS. The ratio of visceral to subcutaneous fat, a metric of body fat distribution, is a unique correlate of cardiometabolic risk. *Diabetologia* 2012 :55(10): 2622-2630.
- Kain ZN, Zimolo Z, Heninger G: Leptin and the perioperative neuroendocrinological stress response. *J Clin Endocrin Metab* 1999; 84(7): 2438-2442.
- Kaplan JM, Nowell M, Lahni P, Shen H, Shanmukhappa SK, Zingarelli B. Obesity enhances sepsis-induced liver inflammation and injury in mice. *Obesity* 2016; 24(7): 1480-1488.
- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrin Metab* 2004; 89(6): 2548–2556.

- Kleber A, Altmeyer S, Wolf B, Wolf A, Volk T, Fink T, Kubulus D. Impact of melatonin receptor deletion on intracellular signaling in spleen cells of mice after polymicrobial sepsis. *Inflamm Res* 2014; 63(12): 1023-33.
- Koch A, Gressner OA, Sanson E, Tacke F, Trautwein C. Serum resistin levels in critically ill patients are associated with inflammation, organ dysfunction and metabolism and may predict survival of non-septic patients. *Crit Care* 2009; 13(3): R95.
- Koch A, Weiskirchen R, Zimmermann HW, Sanson E, Trautwein C, Tacke F. Relevance of serum leptin and leptin-receptor concentrations in critically ill patients. *Mediators Inflamm*. 2010;2010. pii: 473540. doi: 10.1155/2010/473540.
- Koczan D, Guthke R, Thiesen HJ, Ibrahim SM, Kundt G, Krentz H, Gross G, Kunz M. Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes from psoriasis patients identifies new immune regulatory molecules. *Eur J Dermatol* 2005; 15(4): 251-257.
- Konrad A, Lehrke M, Schachinger V, Seibold F, Stark R, Ochsenkuhn T, Parhofer KG, Göke B, Broedl UC: Resistin is an inflammatory marker of inflammatory bowel disease in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19(12): 1070–1074.
- Kukla M, Mazur W, Buldak RJ, Zwirska-Korczala K. Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines--visfatin, chemerin and vaspin in chronic hepatitis. *Mol Med* 2011; 17(11-12): 1397-410.
- Langouche L, Vander Perre S, Frystyk J, Flyvbjerg A, Hansen TK, Van den Berghe G. Adiponectin, retinol-binding protein 4, and leptin in protracted critical illness of pulmonary origin. *Crit Care* 2009; 13(4): R112.
- Lee MH, Klein RL, El-Shewy HM, Luttrell DK, Luttrell LM. The adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 activate ERK1/2 through a Src/Ras-dependent pathway and stimulate cell growth. *Biochem* 2008; 47(44): 11682-11692.
- Lee JGH, Genga KR, Pisitsak C, Boyd JH, Leung AKK, Russell JA, Walley KR. Survival benefit of a low ratio of visceral to subcutaneous adipose tissue depends on LDL clearance versus production in sepsis. *Crit Care* 2018; 6;22(1): 58.
- Lehr S, Hartwing S, Sell H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics Clin App* 2012; 6: 91-101.

- Lehr S, Hartwig S, Lamers D, Famulla S, Müller S, Hanisch FG, Cuvelier C, Ruige J, Eckardt K, Ouwens DM, Sell H, Eckel J. Identification and validation of novel adipokines released from primary human adipocytes. *Mol Cell Proteomics* 2012; 11(1): 111.010504.
- Leivo-Korpela S, Lehtimäki L, Vuolteenaho K, Nieminen R, Kankaanranta H, Saarelainen S, Moilanen E. Adipokine resistin predicts anti-inflammatory effect of glucocorticoids in asthma. *J Inflamm* 2011; 8: 12.
- Lemieux S, Prud'homme D, Moorjani S, Tremblay A, Bouchard C, Lupien PJ, Després JP. Do elevated levels of abdominal visceral adipose tissue contribute to age-related differences in plasma lipoprotein concentrations in men. *Atherosclerosis* 1995; 118(1): 155-164.
- Li Volti G, Musumeci T, Pignatello R, Murabito P, Barbagallo I, Carbone C, Gullo A, Puglisi G. Antioxidant potential of different melatonin-loaded nanomedicines in an experimental model of sepsis. *Exp Biol Med* 2012; 237(6): 670-677.
- Li B, Shi Z, Cassaglia PA, Brooks VL. Leptin acts in the forebrain to differentially influence baroreflex control of lumbar, renal, and splanchnic sympathetic nerve activity and heart rate. *Hypertension* 2013; 61(4): 812-9.
- Li G, Gao Lin, Jia Jin, Gong X, B Zang, Chen W. Alpha-Lipoic Acid prolongs survival and attenuates acute kidney injury in a rat model of sepsis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41(7): 459-68.
- Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 30; 219: 9–15.
- Lima FB, Matsushita DH, Hell NS, Dolnikoff MS, Okamoto MM, Cipolla Neto J. The regulation of insulin action in isolated adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of day and melatonin. *Braz J Med Biol Res* 1994; 27(4): 995–1000.
- Lindsay RS, Funahashi T, Krakoff J, Matsuzawa Y, Tanaka S, Kobes S, Bennett PH, Tataranni PA, Knowler WC, Hanson RL. Genome-wide linkage analysis of serum adiponectin in the Pima Indian population. *Diabetes* 2003; 52(9): 2419–2425.

- Liu F, Ng TB, Fung MC. Pineal indoles stimulate the gene expression of immunomodulating cytokines. *J Neural Transm* 2001; 108(4): 397-405.
- Liu L, Wang P, Liang C, He D, Yu Y, Liu X. Distinct effects of Nampt inhibition on mild and severe models of lipopolysaccharide-induced myocardial impairment. *Int Immunopharmacol* 2013; 17(2): 342-349.
- Lorente L, Martín MM, Abreu-González P, de la Cruz T, Ferreres J, Solé-Violán J, Labarta L, Díaz C, Jiménez A, Borreguero-León JM1. Serum melatonin levels are associated with mortality in severe septic patients. *J Crit Care* 2015; 30(4): 860.e1-6.
- Lowes DA, Webster NR, Murphy MP, Galley HF. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction a rat model of acute sepsis. *Br J Anaesth* 2013; 110(3): 472-480.
- Luk T, Malam Z, Marshall JC. Pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)/visfatin: a novel mediator of innate immunity. *J Leukoc Biol* 2008; 83(4): 804-816.
- Lu SC, Shieh WY, Chen CY, Hsu SC, Chen HL. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro. *FEBS Lett.* 2002; 23;530(1-3): 158-62.
- Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25(3-4): 177-195.
- Maeda T, Kiguchi N, Kobayashi Y, Ikuta T, Ozaki M, Kishioka S. Leptin derived from adipocytes in injured peripheral nerves facilitates development of neuropathic pain via macrophage stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(31): 13076-81.
- Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. Visfatin, a new adipocytokine, is predominantly related to inflammation/ endothelial damage in kidney allograft recipients, *Transplant Proc* 2009; 41(1): 150–153.
- Mark AL, Agassandian K, Morgan D, Liu, X, Cassell MD, Rahmouni K. Leptin signaling in the nucleus tractus solitarius increases sympathetic nerve activity to the kidney. *Hypertension* 2009; 53(2): 375-80.
- Maruna P, Gurlich R, Fraska R, Haluzik M: Serum Leptin Levels in Septic Men Correlate Well with C-Reactive Protein (CRP) and TNF-alpha but not with BMI. *Physiol Res* 2001; 50(6): 589-94.

- Mastronardi CA, Walczewska A, Yu WH, Karanth S, Parlow AF, McCann SM. The possible role of prolactin in the circadian rhythm of leptin secretion in male rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 224(3): 152–158.
- Matsuzawa Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3(1): 35–42.
- Mauriz JL, Collado PS, Veneroso C, Reiter RJ, González-Gallego J. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions. recent insights and news perspectives. *J Pineal Res* 2013; 54(1): 1-14.
- Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Romero R, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Kim SK, Ogge G, Yoon BH, Dong Z, Gonzalez JM, Gervasi MT, Hassan SS. Hyperresistinemia a novel feature in systemic infection during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(5): 358-69.
- Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem* 2004; 50: 1511-25.
- Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Müller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 2002; 415(6869): 339–343.
- Molinero P, Soutto M, Benot S, Hmadcha A, Guerrero JM. Melatonin is responsible for the nocturnal increase observed in serum and thymus of thymosin alpha1 and thymulin concentrations: observations in rats and humans. *J Neuroimmunol* 2000; 103(2): 180-188.
- Moreno-Vinasco L, Quijada H, Sammani S, Siegler J, Letsiou E, Deaton R, Saadat L, Zaidi RS, Messana J, Gann PH, Machado RF, Ma W, Camp SM, Wang T, Garcia JG. Nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibitor is a novel therapeutic candidate in murine models of inflammatory lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014; 51(2): 223-8.
- Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, Tilg H: Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol* 2007; 178:1748–1758.

- Moschen AR, Gerner R, Schroll A, Fritz T, Kaser A, Tilg H. A key role for Pre-B cell colony-enhancing factor in experimental hepatitis. *Hepatology* 2011; 54(2): 675-86.
- Mundigler G, Delle-Karth G, Koreny M, Zehetgruber M, Steindl-Munda P, Ferti Siostrzonek P. Impaired circadian rhythm of melatonin secretion in sedated critically ill patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2002;30(3): 536-40.
- Nagaev I, U. Smith. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 561-4.
- Nawar WW. Lipids. In Food Chemistry (Ed OR Fennema). pp: 225-319 *Markel Dekker* 1996; 225-319.
- Niiyama S, Takasu O, Sakamoto T, Ushijima K. Intraperitoneal adipose tissue is strongly related to survival rate in a mouse cecal ligation and puncture model. *Clin Transl Immunology* 2016; 12;5(2): e64.
- Nowell MA, Richards PJ, Fielding CA, Ognjanovic S, Topley N, Williams AS, Bryant-Greenwood G, Jones SA. Regulation of pre-B cell colonyenhancing factor by STAT-3-dependent interleukin-6 transsignaling implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2084-95.
- Okamoto Y, Folco EJ, Minami M, Wara AK, Feinberg MW, Sukhova GK, Colvin RA, Kihara S, Funahashi T, Luster AD, Libby P. Adiponectin inhibits the production of CXC receptor 3 chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherosclerosis. *Circ Res* 2008; 102(2): 218-225.
- Olguner CG, Koca U, Altekin E, Ergür BU, Duru S, Girgin P, Taşdöğen A, Gündüz K, Güzeldağ S, Akkuş M, Micili SC. Ischemic preconditioning attenuates lipid peroxidation and apoptosis in the cecal ligation and puncture model of sepsis. *Exp Ther Med* 2013; 5(6): 1581-1588.
- Olofsson K, Alling C, Lundberg D, Malmros C. Abolished circadian rhythm of melatonin secretion in sedated and artificially ventilated intensive care patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2004;48(6): 679-84.

- Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gomez-Reino J, Gualillo O. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(8): 944–950.
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100(25): 2473-6.
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103(8): 1057-1063.
- Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Cin Chim Acta* 2007; 380(1–2): 24–30.
- Özbalcı D, Şahin M. Leptin ve immün sistem. *SDÜ Tıp Fak. Derg.* 2007; 14; 51-5.
- Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin: General Features and its Role in Psychiatric Disorders. *Current Approaches in Psychiatry* 2013;5(2):179-203.
- Özşahin M. Ooferektomize ve pinealektomize ratlarda Egzojen melatonin uygulamanın kemik mineral dansitometresi üzerine etkileri. 2006. *Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD. Uzmanlık Tezi.* (tez no:2006-192180). İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya.
- Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE: Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin: Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 2003; 278(11): 9073-9085.
- Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J* 2006; 273(13): 2813-2838.

- Park PH, Huang H, McMullen MR, Mandal P, Sun L, Nagy LE: Suppression of lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor-alpha production by adiponectin is mediated by transcriptional and post-transcriptional mechanism. *J Biol Chem* 2008; 283(40): 26850-26858.
- Park BS, Jin SH, Park JJ, Park JW, Namgoong IS, Kim YI, Lee BJ, Kim JG. Visfatin induces sickness responses in the brain. *PLoS One* 2011; 6(1): e15981.
- Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism* 2015; 64(1): 24-34.
- Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 10; 300(2): 472-6.
- Peiró C, Romacho T, Carraro R, Sánchez-Ferrer CF. Visfatin/PBEF/Nampt: A New Cardiovascular Target? *Front Pharmacol* 2010; 23:1:135.
- Pérez-González R, Antequera D, Vargas T, Spuch C, Bolós M, Carro E. Leptin induces proliferation of neuronal progenitors and neuroprotection in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2011; 24:2: 17-25.
- Pisitsak C, Lee JG, Boyd JH, Coxson HO, Russel JA, Walley KR, Increased ratio of visceral to subcutaneous adipose tissue in septic patient is associated with adverse outcome. *Crit Care Med* 2016; 44(11): 1966-1973.
- Rahman MK, Nagatsu T, Sakurai T, Hori S, Abe M, Matsuda M. Effect of pyridoxal phosphate deficiency on aromatic L-amino acid decarboxylase activity with L-DOPA and L-5-hydroxytryptophan as substrates in rats. *Jpn J Pharmacol* 1982; 32(5): 803-811.
- Ramussen DD, Mitton DR, Larsen SA, Yellon SM. Aging-dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat metabolic and behavioral responses. *J Pineal Res* 2001; 31(1): 89-94.
- Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; 22;111(7): 932-939.

- Reiter RJ. The pineal gland and melatonin relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol* 1995; 30(3-4): 199-212.
- Reiter RJ. Functional diversity of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxidant. *Exp Clin Endocrinol* 1996; 104(1): 10-16.
- Reiter RJ. Antioxidant actions of melatonin. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 103-17.
- Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Manchester LC. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini Rev Med Chem* 2013; 13(3): 373-384.
- Rinaldi S, Landucci F, de Gaudio AR. Antioxidant therapy in critically ill septic patients. *Curr Drug Targets* 2009; 10: 872-880.
- Robinson K, Prins J, Venkatesh B. Clinical review: adiponectin biology and its role in inflammation and critical illness. *Crit Care* 2011; 15(2):221.
- Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, Gigot D, Urbain J, Leo O, Andris F. Pre-B-cell colony enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol* 2002; 32(11): 3225-34.
- Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994; 14(2): 431-7.
- Sandeep S, Velmurugan K, Deepa R, Mohan V. Serum visfatin in relation to visceral fat, obesity, and type 2 diabetes mellitus in asian indians. *Metabolism* 2007; 56(4): 565-70.
- Scheer FA, Chan JL, Fargnoli J, Chamberland J, Arampatzi K, Shea SA, Blackburn GL, Mantzoros CS. Day/night variations of high-molecular-weight adiponectin and lipocalin-2 in healthy men studied under fed and fasted conditions. *Diabetologia* 2010; 53(11): 2401-2405.
- Senolt L, Housa D, Vernerová Z, Jirásek T, Svobodová R, Veigl D, Anderlová K, Müller-Ladner U, Pavelka K, Haluzík M. Resistin in rheumatoid arthritis synovial tissue, synovial fluid and serum. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(4): 458-63.

- Shang Y, Xu SP, Wu Y, Jiang YX, Wu ZY, Yuan SY, Yao SL. Melatonin reduces acute lung injury in endotoxemic rats. *Chin Med J* 2009; 122(12): 1388-1393.
- Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ghosh S, Ehtesham NZ. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NFkappaB-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334(4): 1092-101.
- Silva TE, Colombo G, Schiavon LL. Adiponectin: a multitasking player in the field of liver diseases. *Diabetes Metab* 2014; 40(2): 95-107.
- Smirnov AN. Nuclear melatonin receptors. *Biochemistry (Mosc)*. 2001; 66(1): 19-26.
- Siu AW, Reiter RJ, To CH. The efficacy of vitamin E and melatonin as antioxidants against lipid peroxidation in rat retinal homogenates. *J Pineal Res* 1998; 24(4): 239-244.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409(6818): 307-12.
- Steppan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004; 255(4): 439-47.
- Stofkova A: Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity. *Endocr Regul* 2010; 44(1): 25-36.
- Studnek JR, Artho MR, Garner CL Jr, Jones AE. The impact of emergency medical services on the ed care of severe sepsis. *Am J Emerg Med* 2012; 30(1): 51-56.
- Summer R, Little FF, Ouchi N, Takemura Y, Aprahamian T, Dwyer D, Fitzsimmons K, Suki B, Parameswaran H, Fine A, Walsh K. Alveolar macrophage activation and an emphysema-like phenotype in adiponectin-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294(6): L1035-L1042.
- Sundén-Cullberg J, Nyström T, Lee ML, Mullins GE, Tokics L, Andersson J, Norrby-Teglund A, Treutiger CJ. Pronounced elevation of resistin correlates with severity of disease in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2007; 35(6): 1536-42.
- Szewczyk-Golec K, Woźniak A, Reiter RJ. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity. *J Pineal Res* 2015; 59(3): 277-91.

- Şener Göksel, Karanlığın hormonu: Melatonin. *Marmara Ecz. Derg*, 2010; 14: 112-120.
- Tanaka T, Nabeshima Y. Namp1/PBEF/Visfatin: a new player in beta cell physiology and in metabolic diseases? *Cell Metab* 2007; 6(5): 341-3.
- Teoh H, Quan A, Bang KW, Wang G, Lovren F, Vu V, Haitsma JJ, Szmítko PE, Al-Omran M, Wang CH, Gupta M, Peterson MD, Zhang H, Chan L, Freedman J, Sweeney G, Verma S. Adiponectin deficiency promotes endothelial activation and profoundly exacerbates sepsis-related mortality. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(3): E658–664.
- Thundiyil J, Pavlovski D, Sobey CG, Arumugam TV. Adiponectin receptor signaling in the brain. *Br J Pharmacol* 2012; 165(2): 313–327.
- Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(10): 772-83.
- Tsuchihashi H, Yamamoto H, Maeda K, Ugi S, Mori T, Shimizu T, Endo Y, Hanasawa K, Tani T: Circulating concentrations of adiponectin, an endogenous lipopolysaccharide neutralizing protein, decrease in rats with polymicrobial sepsis. *J Surg Res* 2006; 134(2): 348-353.
- Uji Y, Yamamoto H, Tsuchihashi H, Maeda K, Funahashi T, Shimomura I, Shimizu T, Endo Y, Tani T. Adiponectin deficiency is associated with severe polymicrobial sepsis, high inflammatory cytokine levels, and high mortality. *Surgery* 2009; 145(5): 550-557.
- Vachharajani V: Influence of obesity on sepsis. *Pathophysiol* 2008; 15(2): 123-34.
- Vassiliadi DA, Tzanela M, Kotanidou A, Orfanos SE, Nikitas N, Armaganidis A, Koutsilieris M, Roussos C, Tsagarakis S, Dimopoulou I.. Serial changes in adiponectin and resistin in critically ill patients with sepsis: Associations with sepsis phase, severity, and circulating cytokine levels. *J Crit Care* 2012; 27(4): 400–9.
- Victor VM, Espulgues JV, Hernández-Mijares A, Rocha M. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis: a potential therapy with mitochondria-targeted antioxidants. *Infect Disord Drug Targets* 2009; 9(4): 376-389.
- Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 31-56.

- Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem* 2003; 278(41): 40352-40363.
- Waldhauser F, Frisch H, Waldhauser M ve ark. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. *Lancet* 1984; 1(8373): 362-5.
- Walkey AJ, Rice TW, Konter J, Ouchi N, Shibata R, Walsh K, deBoisblanc BP, Summer R. Plasma adiponectin and mortality in critically ill subjects with acute respiratory failure. *Crit Care Med* 2010; 38(12): 2329-34.
- Wang Y, Lam KS, Yau MH, Xu A: Post-translational modifications of adiponectin: mechanism and functional implications. *Biochem J* 2008; 409(3): 623-633.
- Wang MY, Chen L, Clark GO, Lee Y, Stevens RD, Ilkayeva OR, Wenner BR, Bain JR, Charron MJ, Newgard CB, Unger RH. Leptin therapy in insulin-deficient type I diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(11): 4813-4819.
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(5): 1930–1935.
- Wolden-Hanson T, Mitton DR, McCants RL, Yellon SM, Wilkinson CW, Matsumoto AM, Rasmussen DD. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinol* 2000; 141(2): 487-497.
- Wu CC, Chiao CW, Hsiao G, Chen A, Yen M. Melatonin prevents endotoxin- induced circulatory failure in rats. *J Pineal Res* 2001; 30(3): 147–156.
- Wu JY, Tsou MY, Chen TH, Chen SJ, Tsao CM, Wu CC. Therapeutic effects of melatonin on peritonitis-induced septic shock with multiple organ dysfunction syndrome in rats. *J Pineal Res* 2008; 45(1): 106-116.
- Wu LL, Jia BH, Sun J, Chen JX, Liu ZY, Liu Y. Protective effects of ginsenoside rb1 on septic rats and its mechanism. *Biomed Environ Sci* 2014; 27(4): 300-3.

- Xu L, Bao H, Si YN, Han L, Zhang R, Cai MM, Shen Y. Effects of adiponectin on acute lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis rats. *J Surg Res* 2013; 83:752-759.
- Yang S, Chung CS, Ayala A, Chaudry IH, Wang P. Differential alterations in cardiovascular responses during the progression of polymicrobial sepsis in the mouse. *Shock* 2002; 17(1): 55-60.
- Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Ozturk E, Yavuz O. Effects of melatonin on Candida sepsis in an experimental rat model. *Adv Ther* 2007; 24(1): 91-100.
- Ye SQ, Simon BA, Maloney JP, Zambelli-Weiner A, Gao L, Grant A, Easley RB, McVerry BJ, Tuder RM, Standiford T, Brower RG, Barnes KC, Garcia JG. Pre-B cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(4): 361-370.
- Yıldız BO, Suchard MA, Wong ML, McCann SM, Licinio J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(28):n10434-10439.
- Yılmaz TU, Kerem M, Demirtaş CY, Pasaoğlu O, Taşcılar O, Sakrak O, Dikmen K, Karahan T. Increased resistin levels in intra-abdominal sepsis: Correlation with proinflammatory cytokines and acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) II scores. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2014 ;14(4): 506-12.
- Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Tenner AJ, Tomiyama Y, Matsuzawa: Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 2000; 96(5): 1723-1732.
- Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacol Rep* 2009; 61(3): 383-410.
- Zalatan F, Krause JA, Blask DE. Inhibition of isoproterenol-induced lipolysis in rat inguinal adipocytes in vitro by physiological melatonin via a receptor-mediated mechanism. *Endocrinol* 2001; 142(9): 3783-3790.
- 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(6505): 425-432.

Zhang L, Su P, Xu C, Chen C, Liang A, Du K, Peng Y, Huang D. Melatonin inhibits adipogenesis and enhances osteogenesis of human mesenchymal stem cells by suppressing PPARc expression and enhancing Runx2 expression. *J Pineal Res* 2010; 49(4): 364–372.



EK-1



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU

Sayı : B.30.2.ÇAÜ.0.05.06- 050.04 - 117
Konu : Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı

07./11/2014

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ :05.11.2014
TOPLANTI SAYISI :2014/11
DOSYA KAYIT NUMARASI :2014/78
KARAR NUMARASI :2014/11-14
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Yük.Lis. Öğr. Hanife BÜLBÜL
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI :Wistar Albino ırkı, 54 adet erkek sıçan

HADEK-2014-78 nolu çalışma ile ilgili olarak proje yürütücüsü Prof. Dr. Metehan UZUN, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Pinealektomize Sıçanlarda Yağ Dokunun Sepsise Endokrin Yanıtının Araştırılması" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin mevzuatın emirleri doğrultusunda incelenmiş, Prof. Dr. Metehan UZUN'un hazır bulunduğu bu toplantıda tartışılıp, ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ
Başkan

Sehim vendir.

Prof. Dr. Mustafa SAÇAR
Üye

Prof. Dr. Sebahattin ERGUN
Üye

Doç. Dr. Mustafa DENİZ
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ahmet UZATICI
Üye

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR
Üye

Vet. Hek. Sait ELMAS
Üye

Ecz. Zerrin GÜMÜŞ
Sivil Üye

Erdoğan GÜRSEL
Sivil Üye

EK-2

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	HANİFE	Soyadı	BÜLBÜL
Doğum Yeri	BİLECİK	Doğum Tarihi	26.09.1988
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	13276911864
E-mail	hanifebulbul@hotmail.com	Tel	05066705256

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Ç.O.M.Ü. SAĞLIK YÜKSEKOKULU- EBELİK	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. EBE	Sağlık Bakanlığı Çanakkale Yenice Gündoğdu Köyü Sağlık Evi	Ocak 2012–Eylül 2016
2. EBE	Çanakkale Halk Sağlığı Müdürlüğü Destek Hizmetleri	Ekim 2016–Eylül 2017
3. EBE	Çanakkale Namazgah Aile Hekimliği	2017

EK-3**SİRALLİ TEZ KONTROL FORMU**

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	X	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	X	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	X	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	X	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	X	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	X	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	X	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	X	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	X	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	X	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	X	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	X	

<p>Tarih: 17/01/2019 Hürriye Bülbül Öğrenci Adı ve Soyadı, İmza</p>	<p>Tarih: 17/01/2019 Prof. Dr. Metehan Altun Danışmanın Adı ve Soyadı, İmza</p>
---	---

EK-4

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİLTİ TEZ YAZIM KONTROL LİSTESİ

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	✓UYGUN	✓UYGUN
Kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Onay sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Teşekkür sayfası	✓UYGUN	✓UYGUN
Türkçe özet	✓UYGUN	✓UYGUN
İngilizce özet	✓UYGUN	✓UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekiller dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tablolar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	✓UYGUN	✓UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	✓UYGUN	✓UYGUN
Yöntem ve Gereç	✓UYGUN	✓UYGUN
Bulgular	✓UYGUN	✓UYGUN
Tartışma	✓UYGUN	✓UYGUN
Sonuç ve Öneriler	✓UYGUN	✓UYGUN
Kaynaklar	✓UYGUN	✓UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	✓UYGUN	✓UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	✓UYGUN	✓UYGUN
Tez planı	✓UYGUN	✓UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	✓UYGUN	✓UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	✓UYGUN	✓UYGUN
Tarih: 17/01/2019	Tarih: 17/01/2019	
Öğrenci Adı ve Soyadı, Honore Bülbul imza	Danışmanın Adı ve Soyadı, Prof. Dr. Metehan Uzun imza	