



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELATONİNİN DENEYSEL HİPERTANSİYON
OLUŞTURULAN ERKEK SIÇANLARDA KCNQ, KCNH2 GEN
EKSPRESYONLARI İLE QT SÜRESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

HAZIRLAYAN
Arş. Gör. MEHMET AKİF OVALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Metehan Uzun

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE 2015

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELATONİNİN DENEYSEL HİPERTANSİYON
OLUŞTURULAN ERKEK SIÇANLARDA KCNQ, KCNH2 GEN
EKSPRESYONLARI İLE QT SÜRESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

HAZIRLAYAN
Arş. Gör. MEHMET AKİF OVALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Metehan Uzun

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE 2015

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 2013-TYL-29 sayı ile desteklenmiştir..

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü

Program Adı : Tezli Yüksek Lisans

Programın Seviyesi :Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Fizyoloji A.D.

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Mehmet Akif OVALI

Tez Başlığı : Melatoninin Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Erkek
Sıçanlarda KCNQ, KCNH2 Gen Ekspresyonları ile QT Süresi üzerine Etkileri

Sınav Yeri : ÇOMÜ Tıp Fakültesi

Sınav Tarihi : 09.01.2015

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	ÇOMÜ Tıp F.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU	ÇOMÜ Tıp F.	
Doç. Dr. Mustafa DENİZ	ÇOMÜ Tıp F.	
Yrd. Doç. Dr. Hacer ŞEN	ÇOMÜ Tıp F.	
Yrd. Doç. Dr. Yavuz Emre Arslan	ÇOMÜ Müh. F.	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü 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 : MSc in Physiology

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

Department : Physiology

Student Name and Surname: Mehmet Akif OVALI

Title of the Thesis : The effects of melatonin on KCNQ, KCNH2 gene expression and QT duration in experimantally hypertensive male rats

Examination Place : COMU

Examination Date : 09.01.2015

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

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof. Dr. Metehan UZUN	COMU	
Members of Examination Jury (Titles and Names)		
Prof. Dr. Mustafa EDREMITLIOGLU	COMU	
Assoc. Prof. Dr. Mustafa DENİZ	COMU	
Assist. Prof. Dr. Hacer SEN	COMU	
Assist. Prof. Dr. Yavuz Emre Arslan	COMU	

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: 09.01.2015

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Mehmet Akif OVALI

İmza:

ÖZET

MELATONİNİN DENEYSEL HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN ERKEK SİÇANLARDA KCNQ, KCNH2 GEN EKSPRESYONLARI İLE QT SÜRESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Arş. Gör. Mehmet Akif OVALI

Bu araştırma ile melatoninin kan basıncı, QT ve QTc süresi ile KCNQ1-5 ve KCNH2 gen ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikler ile bu değişiklikler arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla SHAM, SHAM+L-NAME, PLT, PLT+L-NAME, PLT+MEL ve PLT+L-NAME+MEL olmak üzere 6 farklı grup oluşturulmuştur. L-NAME (NG-nitro-L-arjinin metil ester) sıçanların içme sularına katılarak 40 mg/kg/gün dozunda verilmiştir. Melatonin ise 5 mg/kg/gün dozunda derialtı yolla her gün uygulanmıştır. Tüm gruplarda 0., 1., 7., 14. ve 21.günlerde kan basıncı ve EKG değerleri kaydedilmiştir. Deneysel sürecin sonunda tüm sıçanların torasik aorta örnekleri alınarak KCNQ1-5 ve sol ventrikül dokuları alınarak ise KCNH2 genlerinin ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemiyle değerlendirilmiştir. L-NAME verilen ve pinealektomi yapılan grupların kan basıncında, kalp atım sayısında ve QTc süresinde istatistiksel olarak anlamlı artışların olduğu görülmüştür (p < 0.05). Diğer taraftan melatonin verilen gruplarda ise tüm bu değerlerin SHAM grubundaki seviyelere yakın bir düzeye yakın seyrettiği belirlenmiştir. KCNQ1-5 ve KCNH2 genlerinin ekspresyon seviyelerinin hipertansiyon oluşturulan gruplarda azalmasına karşılık melatonin verilen gruplarda bu azalmanın önüne geçildiği görülmüştür. Sonuç olarak elde edilen veriler ile melatonin-kan basıncı-KCNQ geni ile QTc süresi ve sol ventrikül KCNH2 gen ekspresyonu ilişkisi ilk kez tartışmaya açılmıştır. Araştırmada ortaya çıkan bulgulara bakıldığında melatoninin hem kan basıncındaki artışları hem de QTc süresindeki uzamaları düzeltebildiği ancak bu etkiyi söz konusu genler üzerinden yaptığını söyleyebilecek somut verilere ulaşamadığı görüldüğünden başka faktörlerin ve diğer gen ailelerinin de birlikte sorgulanması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, KCNQ, KCNH2, QTc, Kan Basıncı, Sıçan

ABSTRACT

The Effects Of Melatonin on Kcnq, Kcnh2 Gene Expression and QT Duration in Experimentally Hypertensive Male Rats

Research Assistant Mehmet Akif OVALI

The aim of this study is to research the relationship between melatonin and QT, QTc, KCNQ1-5 and KCNH2 gene expression. For this purpose 6 different groups are assigned as follow; SHAM, SHAM+L-NAME, PLT, PLT+L-NAME, PLT+MEL and PLT+L-NAME+MEL. L-NAME is given to the rats through drinking water as 40 mg/kg/day. Melatonin is given subcutaneously as 5 mg/kg/day. For all groups blood pressure and ECG parameters are recorded at 0th, 1st, 7th, 14th and 21st days. At the end of the experiment thoracic aorta is harvested for KCNQ1-5 gene expressions and left ventricle tissue is harvested for KCNH2 gene expression, qRT-PCR technique is used to analyze the expression profiles of the genes. Statistically significant increases are observed in blood pressure, heart rate and QTc duration in the groups that are given L-NAME or pinealectomized rats ($p < 0.05$). On the other hand, all these mentioned values were near to the SHAM group's values in the groups treated with melatonin. Against the reduction in the expressions of KCNQ1-5 and KCNH2 genes in hypertension induced groups, melatonin has shown to prevent this reduction. Consequently, the relationship between melatonin-blood pressure-KCNQ gene, QTc and KCNH2 gene expression has been discussed for the first time with the data obtained by this research. According to the findings of the research, melatonin has the ability to reduce the increases of the blood pressure and QTc time but it is seen that it is hard to say the unique effect here is the changes in the expressions of the genes in question, another factors and gene families must be questioned together.

Key words: Melatonin, KCNQ, KCNH2, QTc, Blood Pressure, Rat.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusunun belirlenmesi, deneysel alışmaların ynlendirilmesi, sonuların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında vermiş olduğu katkılardan, tecrbelerinden yararlanırken gstermiş olduğu engin hoşgrs ve sabrından dolayı saygıdeğer hocam, kendisini her zaman rnek aldığım değerli bilim insanı Prof. Dr. Metehan UZUN'a teőekkr ederim.

Tez çalışmam süresince her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji A.D.'ndan değerli hocalarımız Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOğLU ve Doç. Dr. Mustafa DENİZ'e, Kalp-Damar Cerrahisi A.D.'ndan değerli hocam Prof. Dr. Mustafa SAÇAR'a ve Gaziantep Üniversitesi Tıp F. Tıbbi Biyoloji A.D.'ndan sayın hocam Yard. Doç. Dr. Mustafa ULAŐLI'ya teşekkür ederim.

Hayvan deneylerini yaparken yardımlarını esirgemeyen Uzm. Vet. Hekim Süleyman ALTIN, Ufuk DEMİR, Aysun ÖZTÜRK ve Arş. Gör. Mustafa KAHRAMAN'a, genetik deneylerimi yaparken bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen dostlarım Esra BOZGEYİK ve Arş. Gör. İbrahim BOZGEYİK'e ayrıca çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sonsuz sevgilerini ve her türlü maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim biricik aileme hürmetlerimi ve en derin kalbi sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	III
THESIS APPROVAL FORM	IV
BEYAN	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER	IX
Şekil Listesi	XII
Tablo Listesi	XIV
Resim Listesi	XVI
Simge ve Kısaltmalar	XVII
1.GİRİŞ ve AMAÇ	3
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1. Pineal Bez ve Melatonin	5
2.1.1. Pineal Bez	5
2.1.2. Melatonin	6
2.1.2.1. Salgılanması	6
2.1.2.2. Reseptörleri	9
2.1.2.3. Sentezi ve Metabolizması	10
2.1.2.4. Fizyolojik etkileri	12
2.2. Kan Basıncının Düzenlenmesi	13
2.2.1. Genel Düzenlenme	13
2.2.1.1. Kan Basıncının Düzenlenmesinde Barorefleks Mekanizması	14
2.2.1.2. Kan Basıncının Kısa Süreli Düzenlenmesi ve Barorefleksler	14
2.2.1.3. Kan Basıncının Uzun Süreli Düzenlenmesi	16
2.3. Kan Basıncı ve Melatonin İlişkisi	18
2.4. Voltaj Duyarlı Potasyum Kanalları ve KCNQ Genlerinin Yapısı ve İşlevi	19

2.5. QT Aralığı ve Uzun QT Sendromu	23
2.6. Melatonin Yoksunluğu Oluşturma Yöntemi Olarak Pinealektomi	25
3.GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Hayvan Materyali	26
3.2. Grupların Oluşturulması	27
3.3. Yöntem	27
3.3.1. L-NAME Uygulaması	28
3.3.2. Melatonin Uygulaması	28
3.3.3. Hayvanlar Üzerinde Yapılan Uygulamalar	28
3.3.3.1. Kan basıncının ölçülmesi	28
3.3.3.2. Elektrokardiyografi (EKG) Alınması	29
3.3.3.3. Sedasyon ve Anestezi	30
3.3.3.3.1. Sedasyon İşlemi	30
3.3.3.3.2. Anestezi İşlemi	30
3.3.3.4. Pinealektomi Operasyonu	30
3.3.4. Doku Örnekleri Alınması	32
3.4. Genetik Analizler	32
3.4.1. Total RNA İzolasyonu	32
3.4.2. cDNA Eldesi	33
3.4.3. Primer Dizileri	34
3.4.4. Real-Time PCR (qRT-PCR) Uygulaması	35
3.5. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. Kan Basıncı Değerleri	37
4.1.1. Sistolik Kan Basıncı Değerleri	38
4.1.2. Diastolik Kan Basıncı Değerleri	40
4.1.3. Ortalama Kan Basıncı Değerleri	42
4.2. Elektrokardiyografik Parametrelerin Değerlendirmeleri	44
4.2.1. RR Süresi ve Kalp Atım Hızı	44
4.2.2. QT ve QTc Verileri	48

4.3. Gen İfade Analizi Sonuçları	52
4.3.1 KCNQ Genlerine Ait Ekspresyon Analizi	53
4.3.2. KCNH2 Genine Ait Ekspresyon Analizi	53
4.3.3. Tüm Genlerin Ekspresyon Değişimlerinin Rakamsal Analizi, Anlamlılık Tablosu ve CP Değerleri	54
5.TARTIŞMA	56
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	62
7. KAYNAKÇA	64
8.EKLER	80
9. Özgeçmiş	83

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Melatoninin ışık ve mevsime bağlı değişen salgı mekanizması	6
Şekil 2. Melatonin reseptörlerinin dağılımı ve görevleri	8
Şekil 3. Melatoninin triptofandan sentez basamakları	9
Şekil 4. Melatoninin kan basıncını azaltıcı etkisini gösterdiği muhtemel mekanizmalar	17
Şekil 5. 1990'lı yıllardan bu yana yapılan çalışmalarda tanımlanmış olan Uzun QT genleri, Yerleşik Bulunduğu Kromozom, Etkilenen İyon Kanalı, Etkileri ve Uzun QT Sendromu Oluşturma Yüzdeleri	22
Şekil 6. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda sistolik kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	37
Şekil 7. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda diastolik kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	39
Şekil 8. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ortalama kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	41
Şekil 9. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda RR aralığı süresinin tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	43
Şekil 10. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda kalp atım hızının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	45
Şekil 11. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda QT aralığının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri	47
Şekil 12. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Bazett formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinin (QTcB) tüm gruplarda zamana bağlı değişimlerinin gösterilmesi	48
Şekil 13. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Fridericia formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinin (QTcF) tüm gruplarda zamana bağlı değişimlerinin gösterilmesi	49
Şekil 14. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ekspresyon seviyeleri incelenen genlere ait örnek CP değerleri (KCNQ4 ve AktinBeta genlerine ait)	50

Şekil 15. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda KCNQ1, 3, 4, 5 genlerine ait gruplararası ekspresyon dağılımı grafiği 51

Şekil 16. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda KCNH2 genine ait gruplararası ekspresyon dağılımı grafiği 52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. cDNA sentez protokolü	31
Tablo 2. PCR Koşulları	32
Tablo 3. Ekspresyon seviyeleri bakılan genlere ait primer dizileri	33
Tablo 4. Real Time PCR malzeme miktarları	34
Tablo 5. qRT-PCR sentez basamak ayarları	34
Tablo 6. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda sistolik kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	37
Tablo 7. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda diastolik kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	39
Tablo 8. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ortalama kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	41
Tablo 9. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda RR aralığı süresinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	43
Tablo 10. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda kalp atım hızı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	45
Tablo 11. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Qt aralığı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	47
Tablo 12. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Bazzett formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	48
Tablo 13. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Fridericia formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması	49
Tablo 14. Tüm genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin rakamsal ifadeleri	52

Tablo 15. Ekspresyon seviyeleri kıyaslanan genlere ait P değerleri	52
Tablo 16. Tüm gruplara ait CP değerleri	53

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Pineal bezin sıçan beynindeki anatomik yerleşimi	4
Resim 2. Melatoninin kimyasal yapısı	4
Resim 3. Melatoninin damarlarda vazodilatatör etkisi	11
Resim 4. Baroreseptörlerin dağılımı	12
Resim 5. Ventriküler aksiyon potansiyeli Faz 3 evresinin uzaması ve EKG’de görülen değişiklikler	20
Resim 6. Kv7 genlerinin eksprese olduğu dokuların dağılımı	21
Resim 7. Sıçanlarda kuyruktan kan basıncı alınması	27
Resim 8. Pinealektomi operasyonunun yapılması	29
Resim 9. Alınan doku örnekleri	30

SİMGE VE KISALTMALAR

EKG: Elektrokardiyografi

SCN: Suprakaryamatik çekirdek

MT1: Melatonin Tip 1 Reseptörü

MT2: Melatonin Tip 2 Reseptörü

MT3: Melatonin Tip 3 Reseptörü

NAT: N-Asetiltransferaz

HIOMT: Hidroksindolo-O-metil-transferaz

6-HMS: 6-hidroksimelatonin

ADH: Antidiüretik hormon

RAAS: Renin anjiyotensin aldosteron sistemi

ANG II: Anjiyotensin 2

NOS: Nitrikoksit sentaz

NO: Nitrik oksit

L-NNA: NG-nitro-L-Arjinin

L-NAME: NG-nitro-L-arjinin metil ester

Kv7.1-5: Yavaş aktive olan rektifiye edici potasyum kanalları

KCNQ1-5: Voltaj kapılı potasyum kanalları 7.1-5 ailesini kodlayan genler

Kv11.1 (hERG): İçe doğru rektifiye edici voltaj kapılı potasyum kanalı altünitesi

KCNH2: Voltaj kapılı potasyum kanalı 11.1'i kodlayan gen

LQTS: Uzun QT Sendromu

TDP: Torsade de pointes

QTc: Kalp hızına göre düzeltilmiş QT

QTcB: Bazett formülüne göre düzeltilmiş QT

QTcF: Fridericia formülüne göre düzeltilmiş QT

KVS: Kardiyovasküler Sistem

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Pineal bezin ana salgısı olan melatoninin kimyasal formülü N-asetil-5-metoksitriptamin olan lipofilik bir moleküldür. Bezin salgısı günlük sirkadiyen ritme bağlı olarak değişkenlik göstermekte, gece 02:00-04:00 saatlerinde melatonin salgısı pik yaparken sabah 07:00 saatlerinde sona ermektedir. Pinealosit hücreleri tarafından kandan alınarak işlenen ve serotonine dönüştürülen triptofan amino asidi, gece karanlığında melatonine dönüştürülmektedir. Melatonin yüksek lipofilik özelliği sayesinde serbest difüzyonla hücre zarını kolayca geçerek kanda taşınmaktadır (Topal ve ark., 2009, Brzezinski 1997, Reiter 1991).

Melatoninin hücre zarı, sitoplazma ve hücre çekirdeği olmak üzere üç farklı bölgede reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörler sayesinde farklı doku ve organlarda farklı fizyolojik etkiler göstermektedir (Reiter ve Tan 2010, Reiter ve Korkmaz 2008, Ekmekçioğlu 2006).

Son yıllarda melatoninin kardiyovasküler sistem (KVS) üzerine olan etkileri ve özellikle kan basıncını düzenleyici etkisi birçok bilim insanının dikkatini çekmiştir ve antihipertansif bir ajan olarak kullanılabilirliği tartışılmaya başlanmıştır (Reiter ve ark., 2010, Simko ve Pechanova 2009, Simko ve Paulis 2007). Diğer taraftan *torsade de pointes* (TDP) tipi ölümcül ventriküler aritmilere yol açabilen kalp hızına göre düzeltilmiş QT (QTc) süresindeki uzamalar KVS sistem hastalıkları içerisinde dikkatle değerlendirilmektedir. Melatoninin kan basıncı üzerine olan etkileri bilinmesine rağmen QTc süresi üzerine olan etkileri konusunda herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Kan basıncının düzenlenmesini sağlayan birçok kanal özellikle aort ve orta büyüklükteki arterlerde bulunmaktadır. Bu kanallardan bir tanesi de Kv7 kanallarındır ve bu kanalları kodlayan KCNQ1-5 (voltaj kapılı potasyum kanalları 7.1-5 ailesini kodlayan genler)genleri üzerinde araştırmalar yoğunlaşmaktadır (Dvir ve ark., 2014). Melatoninin bu kanalları kodlayan genlerin ekspresyonu üzerine olan etkileri ise bilinmemektedir. Kalpteki K kanallarından bir tanesi olan Kv11.1 kanalı (hERG: *human ether go go related gene*, içe doğru rektifiye edici voltaj kapılı potasyum kanalı altünitesi) KCNH2 (voltaj kapılı potasyum kanalı 11.1'i kodlayan gen) geni tarafından ekprese edilmektedir. Bu kanallardaki aktivite değişikliği QT

süresini etkilemektedir. Melatoninin bu kanalları eksperese eden genler üzerine olan etkileri de bilinmektedir (Ng ve ark., 2011, Mackie ve Byron 2008).

Bu bilgiler ışığında bu araştırmada pinealektomi operasyonu yapılarak melatonin yoksunluğu oluşturulan ve L-NAME verilerek hipertansiyon şekillendirilen sıçanlarda melatoninin;

- a) Kan basıncı
- b) QT ve QTc süresi
- c) KCNQ1-5 gen ekspresyonları
- d) KCNH2 gen ekspresyonları
- e) KCNQ1-5 ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikler ile kan basıncı arasındaki ilişki,
- f) KCNH2 gen ekspresyonları ile QT ve QTc süresi değişimleri arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir.

Böylelikle;

- a) Antihipertansif ajan olarak kullanılması planlanan ve KVS yönünden koruyucu özellikleri bilinen melatoninin bu etkilerini gösterdiği mekanizmalardan bir tanesinin ortaya konulması,
- b) Melatoninin kardiyak aritmilerin oluşması üzerine bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi,
- c) Melatonin yoksunluğu veya melatonin salgısını azaltıcı faktörlere maruz kalan insanlarda KVS hastalıkları yönünden muhtemel risklerin tartışılmaya açılması,
- d) Elde edilen veriler ışığında melatoninin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi konusunda literatüre katkıda bulunulması düşünülmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

2. 1. Pineal Bez ve Melatonin

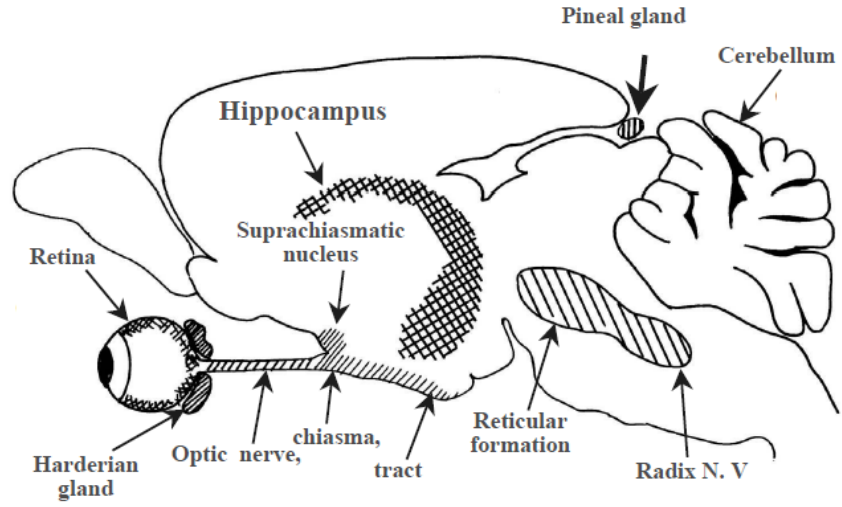
2.1.1. Pineal Bez

İnsan vücudundaki en küçük endokrin bez olan pineal bez adını çam kozalağına olan benzerliğinden almıştır. Ortalama ağırlığı 100-150 mg olan pineal bez 5-10 mm boyunda ve 3-5 mm genişliğinde konik bir bezdir (Yıldırım 1990, Vollrath 1981).

Pineal bez insanlarda epifiz bezi olarak da adlandırılmakta olup, posterior komissür ve dorsal habenular komissür arasında, üçüncü ventrikülün posterior duvarına yapışık bulunmaktadır. Boyutu ve pozisyonu türler içinde dahi farklılık göstermesiyle birlikte vücut ağırlığına oranı küçüktür. Arteriyel beslenmesi, posterior koroidal arterler yoluyla olur, venöz dolaşım ise internal serebral venler yoluyla sağlanır. Çoğunlukla süperior servikal gangliondan sempatik innervasyonu vardır. Pineal bez memelilerde sekretuar, balıklarda ve amfibienlerde fotoreseptif, sürüngenlerde ve kuşlarda ise hem fotoreseptif hem de sekretuar fonksiyonları üstlenmiş bir organdır (Çam ve Erdoğan 2003).

Pineal bezin parankimi pinealositler ve glia hücrelerinden oluşmaktadır. Nöroepitelyal hücreler olan pinealositler, hafif bazofilik sitoplazmalı hücreler olmakla birlikte belirgin nükleoluslar içeren çekirdekleri büyük, düzensiz veya birkaç lopludur. Sitoplazmik uzantılı hücreler olan pinealosit hücreleri, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, mikrotübüller, lipid damlacıkları, mitokondriler ve çok sayıda golgi kompleksine sahiptirler (Reiter 2000).

Sıçan pineal bezi ise insan pineal bezinin anatomik yerleşimine göre farklı olarak beynin üst kısmında yerleşiktir. Sıçan pineal bezi yaklaşık 2-3 mm boyutunda ve serebellumun frontalinde bulunmaktadır. Bu anatomik yerleşimi pinealektomi operasyonu açısından da araştırmacılar için büyük bir avantaj teşkil etmektedir. Bu nedenle pineal bez çalışmalarında deney hayvanı olarak sıçanlar tercih edilmektedir. Sıçan pineal bezinin anatomik yerleşimi Resim 1’de gösterilmiştir (Konturek ve ark., 2006).

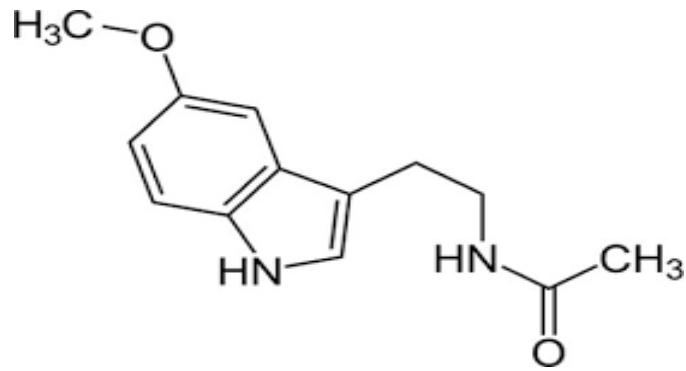


Resim 1. Pineal bezin sıçan beynindeki anatomik yerleşimi (Konturek ve ark., 2006).

2.1.2. Melatonin

2.1.2.1. Salgılanması

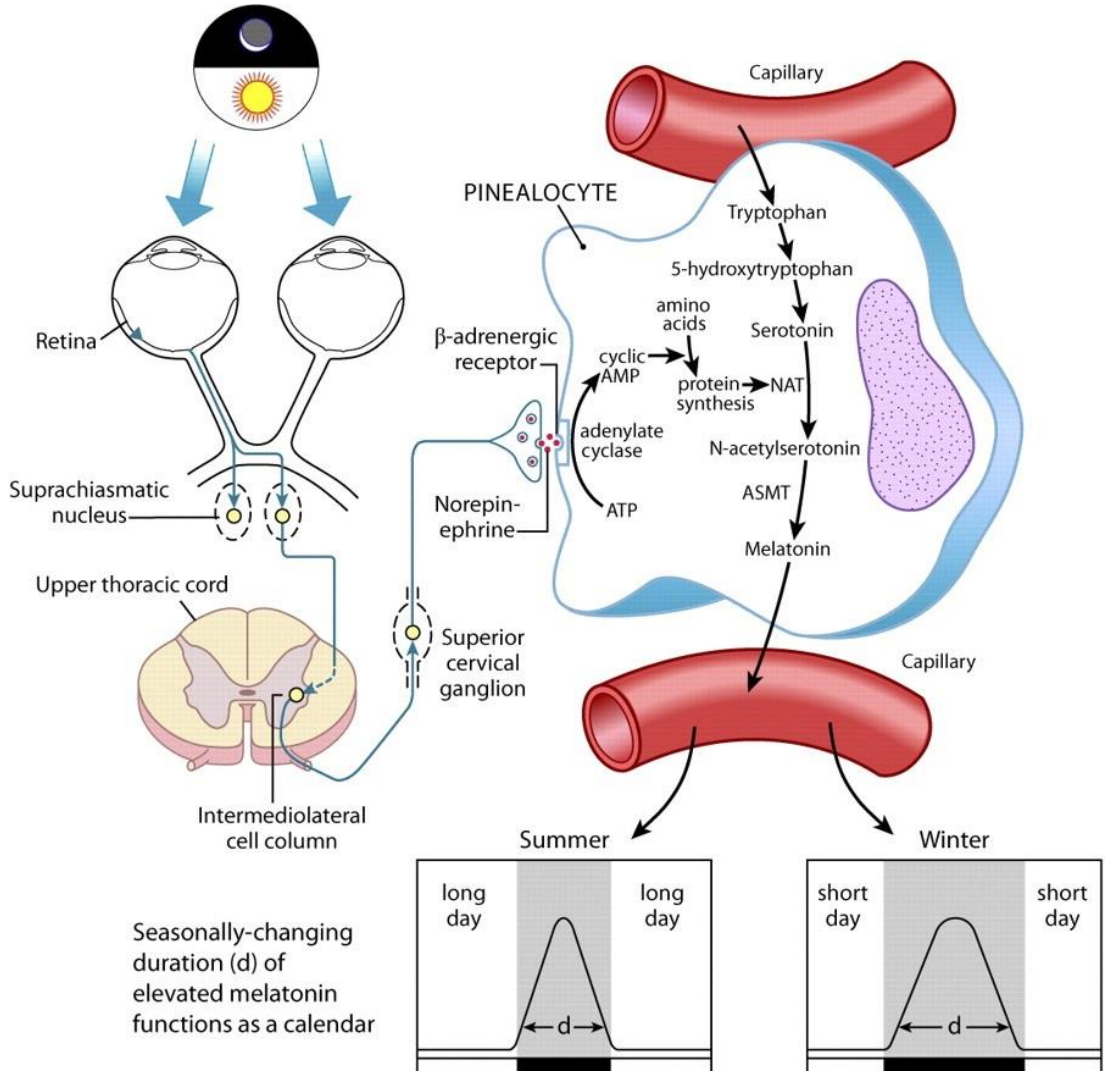
Melatonin, pineal bezden salgılanan (N-asetil-5-metoksitriptamin) esas hormondur. Kimyasal yapısı Resim 2' de gösterilmiştir.



Resim 2. Melatoninin kimyasal yapısı (<http://chemistry.about.com/od/actsstructures/ig/Chemical-Structures-M/Melatonin.htm>, Erişim tarihi: 08.10.2014).

Pineal bez melatonini sentezlerken ara ürün olarak serotonini de sentezleyip salgılamaktadır. Pineal bezden ayrıca, 5-metoksitriptamin, hidroksiindol asetik asit, metoksitriptofol, hidrositriptofol ve metoksiindol asetik asit gibi ürünler de salgılanmaktadır. Melatonin normal koşullarda gece salgılanan bir hormondur ve insanlarda ortalama plazma düzeyi 60-70 pg/ml olarak ölçülmüştür. Plazma melatonin seviyesinin gece saat 02:00 ile 04:00 arasında en yüksek değerlerine ulaştığı bilinmektedir. Melatonin salınımindaki artışların 21:00-22:00 saatleri arasında başladığı ve 07:00-09:00 saatleri arasında sona erdiği belirtilmektedir (Singh ve Jadhav 2014, Çam ve Erdoğan 2003, Arendt 1988).

Melatonin salgısı aydınlık ve karanlık ortama göre değişkenlik göstermektedir. Karanlık ortamda melatonin salgısı artarken aydınlık ortamda ise azalmaktadır. Gözler ve suprakiazmatik nükleus (SCN) arasındaki etkileşim, karanlık-aydınlık koşullarına göre bu aktivasyon ve inhibisyona aracılık etmektedir (Macchi ve Bruce 2004). Melatoninin ışık ve mevsime bağlı değişen salgı mekanizması Şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. Melatoninin ışık ve mevsime bağlı değişen salgı mekanizması (<http://www.biolreprod.org/content/81/3/445/F1.large.jpg>, Erişim tarihi: 08.10.2014).

Canlının tüm gün boyunca karşılaştığı karanlık-aydınlık döngüsü sirkadiyen ritmin kontrolü için çok büyük öneme sahip olan çevresel bir etkidir. Suprakiazmatik çekirdeğin bu döngüdeki rolü adeta bir sirkadiyen saat olarak çalışması ve melatoninin salgılanmasına aracılık eden reseptörlere sahip olmasıdır (Brzezinski 1997).

2.1.2.2. Reseptörleri

Melatonin hormonunun MT1, MT2 ve MT3 olarak isimlendirilen üç farklı reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerin birçok organ ve dokuda bulunduğu bilinmekle beraber en yüksek oranda retina, hipotalamus ve ince barsakta olduğu bildirilmektedir. Melatonin reseptörlerinin bulunduğu diğer organ veya sistemler arasında; kardiyovasküler sistem, bağışıklık sistemi, endokrin sistem, uterus, yumurtalıklar, plasenta, deri, gastrointestinal sistem, kemik ve böbrekler sayılabilir (Slominski ve ark., 2012). Melatonin, reseptörlerinin hücrelerde yerleşim yerlerine göre diğer hormonlardan çok farklı özellik taşımaktadır. Çünkü melatoninin hücre zarında, sitoplazmasında ve çekirdeğinde olmak üzere üç farklı bölgede reseptörleri bulunmaktadır. Bu reseptörlerden MT1 ile MT2 reseptörleri hücre zarında bulunur ve G proteini aracılığıyla etki gösterirken, sitoplazmada Ca-kalmodulin reseptörleri ve çekirdekte retinoid Z ve O reseptörleri bulunmaktadır (Topal ve ark., 2009, Ekmekçioğlu 2006). Melatonin hormonunun reseptörlerinin bulunduğu dokular ve sistemler Şekil 2’de özetlenmiştir (Slominski ve ark., 2012).

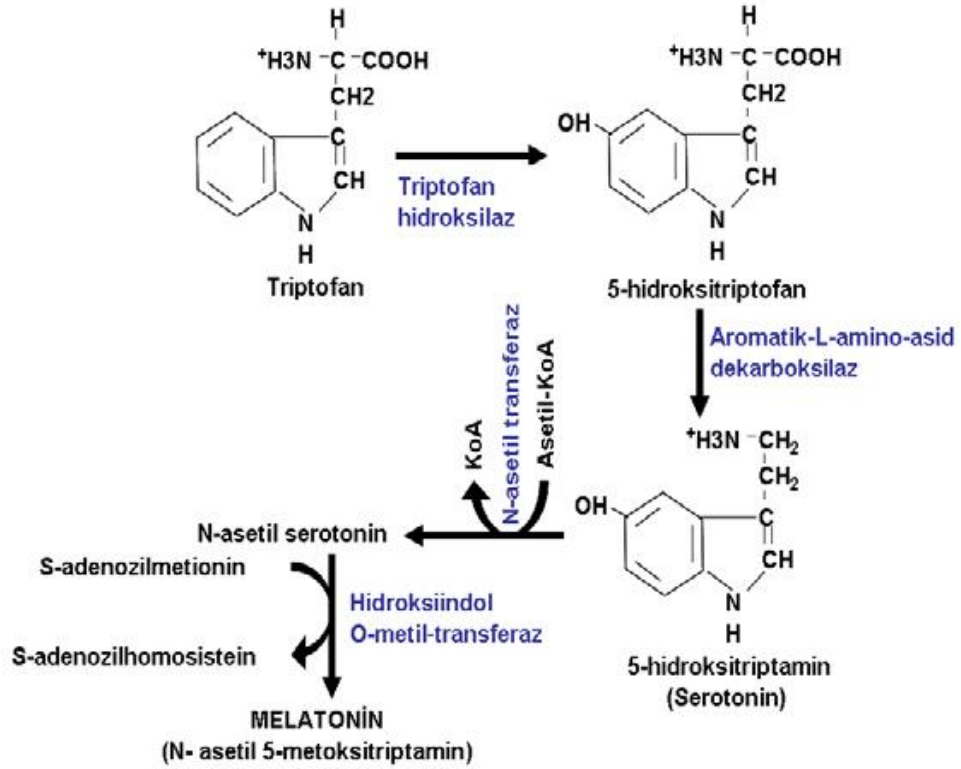
Doku	Eksprese Olan Melatonin Reseptörü	Melatoninin Rolü
SCN	MT2	Sirkadiyen ritmin düzenlenmesi
Retina	MT2, ROR α	Dopamin salınımının azalması
Damar	MT1, MT2	MT1: Vazokonstrüktör MT2: Vazodilatatör
İmmun Sistem	MT1, MT2, ROR α	Lökotrien inhibisyonu İmmun hücre proliferasyonu IL2 ve IL6 üretimi
Üreme Sistemi	MT1, MT2	GnRH, FSH ve LH salınımının azalması
Pankreas	MT1, MT2, ROR α	İnsülin salınımının azalması
Deri	MT1, MT2, ROR α	Saç büyümesi ve epidermis fonksiyonunun düzenlenmesi
GİS	MT1, MT2	Gastrik kasılmaların azalması Bikarbonat ve CCK salınımının artması
Kemik	MT1, ROR α	Osteoblastik aktivitenin artması
Böbrek	MT1, MT2	Glomeruler filtrasyonun düzenlenmesi
Plasenta	MT1, MT2, ROR α	Radikal temizleyici Apoptozun azaltılması
Uterus	MT1, MT2	Miyometriyal kasılabilirlik
Endometrium	MT1, MT2	Erken gebelikte trofoblast invazyonu

Şekil 2. Melatonin reseptörlerinin dağılımı ve görevleri (Slominski ve ark., 2012). SCN: Suprakiazmatik Nükleus, GİS: Gastrointestinal Sistem.

Kalp damar sistemi hastalıklarına bağlı ölümlerin son yıllarda artması ve hipertansiyonun çok yüksek bir yayılım göstermesi nedeni ile son yıllarda melatonin ve KVS ilişkisi araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Özellikle kalp damar sisteminde melatonin reseptörlerinin varlığının ortaya konulması dikkatleri melatonin üzerine çekmiştir (Dominguez-Rodriguez ve ark., 2014, Slominski ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda melatonin reseptörlerinin kalbin apeksinde ve sinoatriyal düğümde de eksprese olduğu gösterilmiştir (Sallinen ve ark., 2005).

2.1.2.3. Sentezi ve Metabolizması

Melatonin sentezinde öncü madde esansiyel bir amino asit olan triptofandır ve pineal bez tarafından plazmadan alınmaktadır (Özçelik ve ark., 2013). Pinealositlerde triptofan, triptofan hidroksilaz ile öncelikle 5-hidroksitriptofan'a hidroksillenmektedir. Oluşan 5-hidroksitriptofan, nörotransmitter olan serotonin ve melatonin sentezi için doğal olarak ortaya çıkan bir ara metabolittir. Oluşan bu 5-hidroksitriptofan kan-beyin bariyerini kolayca geçebilir (Gomes ve Soares-da-Silva 1999, Rahman ve ark., 1982). Daha sonra L-aminoasit dekarboksilaz enzimi aracılığıyla karboksil grubunu kaybederek kan-beyin bariyerini geçemeyen 5-hidroksitriptamine (serotonin) dönüşür. Serotonin daha sonra N-asetil transferaz (NAT) enzimi aracılığı ile asetillenerek N-asetilserotonin'e dönüşür. N-asetilserotonin ise HIOMT (hidroksi indol-0-metil transferaz) ile melatonine dönüşür (Şekil 3; Özçelik ve ark., 2013).



Şekil 3. Melatoninin triptofandan sentez basamakları (Özçelik ve ark., 2013).

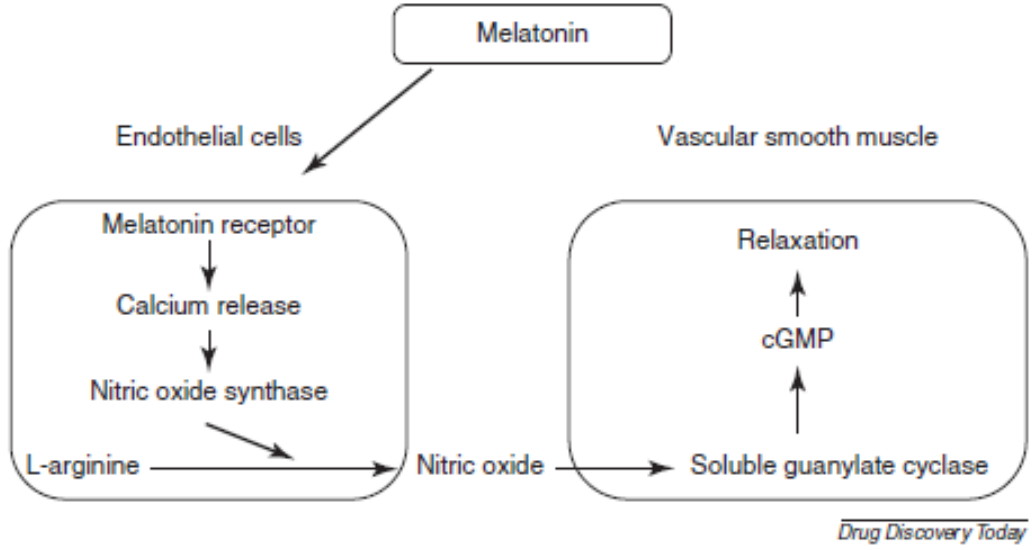
Melatonin hormonunun sentezi arttığında pasif difüzyonla dolaşıma geçer ve kanda albümine bağlı olarak taşınır. Bu durum idrarla atılımını sınırlamasına rağmen yine de kısa bir yarılanma ömrü ömrüne sahiptir (10-40 dk). Melatonin karaciğerden ilk geçişinde yaklaşık % 90 oranında temizlenir. Karaciğer tarafından melatonin % 75 kadarı 6-hidroksimelatonine (6-HMS) dönüştürülür. Bu bileşik de % 70 oranında sülfat ve % 6 oranında glukronik asitle konjuge olur ve tüm bu metabolitler idrarla atılır. Melatoninin başlıca metaboliti olan 6-sulfatoksimeletoninin maksimum plazma konsantrasyonu 80-100 pg/ml arasındadır. İnsanda 6- sulfatoksimeletoninin % 70-80'i gece idrarı ile (24:00-08:00) atıldığı bilinmektedir (Özçelik ve ark., 2013, Öztürk ve Darıyerli 2000, Reiter 1991, Pardridge ve Mietus 1980, Kveder ve McIsaac 1961).

2.1.2.4. Fizyolojik Etkileri

Melatonin canlı vücudunda birçok fizyolojik etkiye sahiptir. Bunlar arasında kan basıncını düzenleyici etkileri (Simko 2012, Kawashima ve ark., 1987), endokrin ritmin düzenlenmesi, antigonadal aktivite, serbest oksijen radikallerinden korunma, değişik immun fonksiyonlarının nöroendokrin düzenlenmesi (Erlich ve Apuzzo, 1985) ve kardiyovasküler etkiler gibi bir çok işlev sayılabilir (Veneroso ve ark., 2009, Tengattini ve ark., 2008).

Melatonin ve kan basıncı üzerine olan etkileri konusunda çok önemli bulgulara ulaşılmıştır. Kardiyovasküler sistem sirkadiyen ritimde olduğu gibi farklı fizyolojik ya da çevresel koşullara göre farklı performans gösterebilmektedir. Bunlar arasında en önemlileri kan basıncı ve vasküler tonustaki değişimlerle birlikte kalp hızındaki günün belli saatlerindeki değişimlerdir. Örneğin; gece kan basıncı, vasküler tonus ve kalp hızı azalmaktadır (Burgess ve ark., 2001). Yapılan bazı çalışmalar kalp hızının sirkadiyen ritme göre farklılıklar gösterdiğini ve melatoninin de bunda rolünün olabileceğini ileri sürmektedir (Witte ve ark., 1998).

Farmakolojik dozda verilen melatoninin kan basıncını ve katekolamin seviyesini düşürücü etkiye sahip olmasıyla birlikte düz kas duvarında da gevşeme sağladığı bilinmektedir. Bu etkilerine bağlı olarak melatoninin hipertansiyonda bir ilaç olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir (Tengattini ve ark., 2008, Simko ve Paulis 2007). Bunlarla birlikte melatoninin morfolojik bariyerleri kolaylıkla geçebilmesi ve kardiyak hücrelere girebilme özelliğinin olduğu bilinmektedir (Dominguez-Rodriguez ve ark., 2014, Dominguez-Rodriguez ve ark., 2012, Tengattini ve ark., 2008). Melatonin iskemi-reperfüzyon hasarında kardiyoprotektif bir etkiye sahiptir. Bu etkisini serbest radikalleri uzaklaştırması ve antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırarak gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (Dominguez-Rodriguez ve ark., 2012, Reiter ve Tan 2010). Melatoninin damarlardaki vazodilatör etkisine ait mekanizma Resim 4'te verilmiştir (Singh ve Jadhav 2014).



Resim 3. Melatoninin damarlarda vazodilatator etkisi (Singh ve Jadhav 2014).

2.2. Kan Basıncının Düzenlenmesi

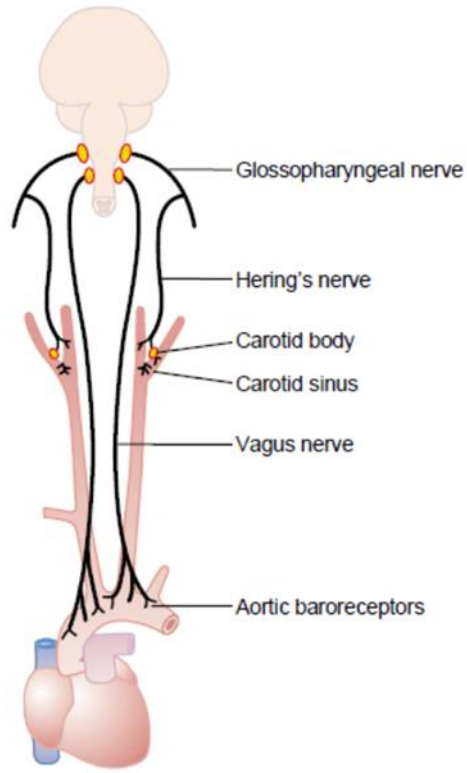
2.2.1. Genel Düzenlenme

Kan basıncı, damar içerisindeki kanın damar çeperine uygulamış olduğu basınç olup; periferik arteriyel direnç ve kalp debisi düzeyleri tarafından belirlenmektedir. Kan basıncı periferik ve merkezi nöral mekanizmalar ile birlikte vasküler faktörler, kısa ve uzun vadeli kontroller olmak üzere birçok parametrenin birlikte çalışmasıyla düzenlenmektedir.

Bu sistemin kontrolünde iki farklı yol izlenmektedir. Bunlardan birincisi hızlı bir şekilde aktive olan ve kısa süreli basınç değişikliklerini düzenlemede görevli olan baroreseptör reflektir. Basınç ve algıdaki değişiklikleri algılayan sensörlerle birlikte o anki basınç değerlerini kıyaslayan integratörler ve ihtiyaç olan düzenlemeyi yapan efektörler bu sistemin temel araçlarıdır. İkinci sistem ise yavaş aktive olan sistemdir. Bu sistem temel olarak böbrekler üzerinden dolaşımdaki kan basıncının normale döndürülmesini sağlamaktadır (Preston ve Wilson, 2013, syf 236). Bu iki sistem de baroreseptör refleks mekanizması üzerinden çalışmaktadır.

2.2.1.1. Kan Basıncının Düzenlenmesinde Barorefleks Mekanizması

Basıncıdaki değişikliklere duyarlı olan, gerim reseptörleri olarak da adlandırılan reseptörler baroreseptörlerdir. Yüksek basınç reseptörleri *Arcus aorticus* ve *Sinus caroticus*da yerleşmiştir. Düşük basınç reseptörleri ise atriumlarda ve pulmuner dolaşımında bulunmaktadır. Barorefleksin afferent lifleri 9. kafa çifti olan glossofaringeus ve 10. kafa çifti olan vagus sinirleridir (Olufsen ve ark., 2004, Dampney ve ark., 2001). Aşağıdaki resimde baroreseptörlerin yerleşimi gösterilmektedir (Guyton ve Hall, 2007, syf 209).



Resim 4. Baroreseptörlerin dağılımı (Guyton ve Hall, 2007, syf 209).

2.2.1.2. Kan Basıncının Kısa Süreli Düzenlenmesi

Baroreseptörlerin ortalama kan basıncının kısa süreli kontrolünde (saniyeler-dakikalar içerisinde) önemli rol oynadığı genel olarak kabul edilmektedir. Barorefleks mekanizması kan basıncının stabil seyretmesini sağlamakla görevlidir. Barorefleksin ana fonksiyonu ise kan basıncındaki bir artış karşısında kalp atım

hızını azaltmaktır. Vazodilatasyon ve debinin azaltılması da bu refleks yanıtları içerisinde (Thrasher 2004, Su ve Miao 2002).

Üç grup sensör beyin sapının medulla bölgesine yerleşmiş olan integratörlere kardiyovasküler sistemdeki basınç ve kan akımıyla ilgili bilgi sağlamaktadır. Aort arkı ve karotid sinüste yerleşmiş olan arteriyel baroreseptörler, kardiyopulmoner reseptörler ve kemoreseptörler bu işlemlere aracılık etmektedir. Aortik ve karotid baroreseptörler ortalama kan basıncında meydana gelen değişiklikleri algılayan öncelikli reseptörlerdir. Bunu damar duvarının gerilimindeki değişimleri dolaylı yoldan algılayarak yaparlar. Baroreseptörler aortun ve karotid sinüsün elastik tabakasında gömülü olan serbest sinir sonlanmalarının bir araya gelerek oluşturdukları sinir demetleridirler. Bilgi beyine aortik sinir ve vagus siniri içerisindeki duyuşal afferentler yoluyla taşınır. Karotid sinüs afferentleri daha sonra medullaya giden glossofaringeal sinir (9. kranial sinir) ile birleşen sinüs siniri içerisinde taşınır (Chen ve ark., 2014, Preston ve Wilson, 2013, syf 237-238).

Kardiyopulmoner reseptörler ise arteriyel sistemdeki reseptörlerle benzer özelliklere sahiptirler. Sahip oldukları serbest sinir uçları vena kava, pulmoner arter ve ven duvarları içerisinde gömülüdür. Bilgiyi de merkezi sinir sistemine vagal sinir gövdesi içerisinde gönderirler. Bu reseptörler aracılığıyla merkezi sinir sistemine vasküler sistemin durumuyla ilgili bilgi taşırlar. Periferel kemoreseptörler de arteriyel O_2 seviyesi 60 mmHg ' nın altına düştüğü zaman ve PCO_2 40 mmHg ya da pH seviyesi 7.4 ' ün üzerine çıktığı zaman aktive olurlar. Bu reseptörler yeterli perfüzyon basıncı ve akım miktarını yansıtan yerel metabolitlere duyarlıdır (Kumar ve Prabhakar 2012, Preston ve Wilson, 2013, syf 237-238).

Kısa süreli düzenleme mekanizmalarının en önemlisi baroreseptörler aracılığıyla olan otonomik reflekslerdir. Postural değişiklikler gibi kan basıncında kısa süreli değişimlere yol açan faktörler baroreseptör etkinliğinde değişimlere yol açmaktadır. Sempatik aktivitedeki artış kalp atım hızında ve kalbin kasılabilirliğinde de artışa neden olur ve venokonstriksiyon ile kan basıncının normale dönmesi sağlanır. Parasempatik sinir aktivitesindeki azalma ise kan basıncının yükselmesine katkı sağlar. Sempatik sinir sistemi ile parasempatik sinir sistemi arasındaki denge kardiyovasküler homeostazis için büyük bir öneme sahiptir (Olufsen ve ark., 2004, Dampney ve ark., 2001).

2.2.1.3. Kan Basıncının Uzun Süreli Düzenlenmesi

Kan basıncının uzun süreli düzenlenmesinde iki farklı yolak karşımıza çıkmaktadır. Bunlar; su ve sodyumun vücuttan atılımı ve tutulumudur.

Vücuttan su atılımı, hipotalamusta sentezlenen sonra da salgılanacağı yer olan arka hipofize taşınan ve peptid bir yapıya sahip olan antidiüretik hormon (ADH) tarafından kontrol edilir. Bu hormon arjinin, vazopressin adıyla da bilinmektedir. Hipotalamusta supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerde ADH sentezleyen iki tip magnoselüler nöron mevcuttur. Bunların yaklaşık 6'da 5'i supraoptik çekirdekte, yaklaşık 6'da 1'i de paraventriküler çekirdekte bulunmaktadır. Bu çekirdeklerin her ikisi arka hipofize uzanan aksonal uzantılara sahiptir.

Antidiüretik hormonun salgılanması üç farklı yol ile kontrol edilir. Bunlar; ozmoreseptörler, baroreseptörler ve anjiyotensin II (ANG II) gibi yolaklardır. Dokuların ozmolaritesi, total vücut sıvısı ve konsantrasyonunun bir göstergesidir. Ozmolarite 280 mOsm/kg'ın üzerine çıktığı zaman reseptörler uyarılarak antidiüretik hormonun dolaşıma salınması sağlanmış olur. Dolaşımdaki kan basıncının azalmasıyla venöz basınç da azalır ve bu durum kardiyopulmoner reseptörler tarafından algılanır. Bu durumda santral sinir sistemi ve kardiyovasküler kontrol merkezleri sempatik aktivite ile birlikte antidiüretik hormon serbestlenmesini artırarak yanıt verirler. Kan basıncının düşmesiyle renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) aktive olur ve dolaşımdaki anjiyotensin II seviyesi yükselir. Bu yükselmeye birlikte uyarılan hipotalamus antidiüretik hormonun salgılanmasını sağlar. Anjiyotensin ve sempatik hiperaktivitenin bulunduğu bazı hipertansiyon hastalarında RAAS'ın bloke edilmesinin kan basıncını düşürdüğü savunulmaktadır. Artmış refleks kazancı olan hipertansif bireylerde ise ANG II blokajının baroreflaks fonksiyonu arttırdığı bildirilmektedir (El-Farhan ve ark., 2013, Xu and Brooks 1997, Preston ve Wilson, 2013, syf 242-243).

Ozmoreseptörler su tutulumu ve atılımını kontrol ederler. Fakat reseptörler daha çok vücut sıvılarının tuzluluğuna duyarlıdırlar. Dolaşımdaki kan hacmini belirleyen ana etken renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi yoluyla düzenlenen Na^+ konsantrasyonudur. Renin, glomeruler afferent arteriyollerin duvarındaki granüler hücreler tarafından sentezlenen proteolitik bir enzimdir. Bu hücreler de Na^+ 'un renal

tübül tarafından tutulumunu düzenleyen jukstaglomerüler aparatın bir bölümünü oluştururlar. Bu aparatın uyarılmasıyla renin salgılanması sağlanmış olur. Renin, karaciğerde sentezlenen anjiyotensinojeni yıkarak anjiyotensin I'ı sentezler. Anjiyotensin I anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) için bir substrat görevi yapar ve akciğerde anjiyotensin II'nin oluşumu sağlar. Bu da damarlarda vazokonstriksiyona neden olur. Sonuçta arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormon serbestlenmesiyle birlikte susama tetiklenir ve adrenal korteksten aldosteron serbestlenmesi artırılır. Aldosteronun böbrek tübüllerinden Na⁺ ve su tutulumunu artırıcı etkileri vardır. Atriyum miyositleri, yüksek seviyede doluyla gerildikleri zaman atriyal natriüretik peptid sentezini ve depolanmasını sağlarlar. Böylelikle böbrek tübülleri boyunca Na⁺ ve su atılımı artırılır (Pacurari ve ark., 2014, Preston ve Wilson, 2013, syf 244).

Kan basıncının kısa ve uzun vadeli düzenlenmesi ile ilgili genel bilgilerin yanı sıra son yıllarda arter duvarlarında bulunan ve damarların kasılma-gevşeme özellikleri üzerine etkili kanallar ve bu kanalları kodlayan genler ortaya konulmuştur (Wehrwein ve Joyner 2013, Joseph ve ark., 2013, Mackie ve Byron 2008, Cox ve Rusch 2002).

Hipertansiyon araştırmalarında sıçanlar üzerinde oluşturulan modeller çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu araştırmaların genellikle 2 mekanizma üzerinden oluşturulduğu görülmektedir. Bunlar Ang II ve nitrikoksit sentaz (NOS) inhibisyonlarıdır. Nitrik oksit (NO) vasküler tonus ve miyokardiyal kontraktilite ile olan ilişkisi bilinmektedir (Atabay ve Uzun 2009; Loscalzo and Welch 1995, Moncada and Higs 1993). Nitrik oksit sentetaz enziminin kronik olarak inhibe edilmesiyle periferik arteriyel direncin arttığı ve sistemik hipertansiyon oluştuğu saptanmıştır (Sander ve ark., 1997, Hropot ve ark., 1994). Bu inhibisyona bağlı hipertansiyona total periferik direnç artışı, artmış renal sodyum tutulumu, sempatik sistem aktivasyonu ve birçok endojen vazoaktif maddenin aracılık ettiği düşünülmektedir. Nitrik oksit NOS enzimleri tarafından L-arjininden sentezlenmektedir. NG-nitro-L-Arjinin (L-NNA) ve NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) gibi NOS aktivitesini inhibe eden enzimler kullanılarak sıçanlarda hipertansiyon modeli geliştirilmiştir (Paulis ve ark., 2009, Tugrul ve ark., 2003, Doggrell ve Brown 1998, Sander ve ark., 1997, Ribeiro ve ark., 1992).

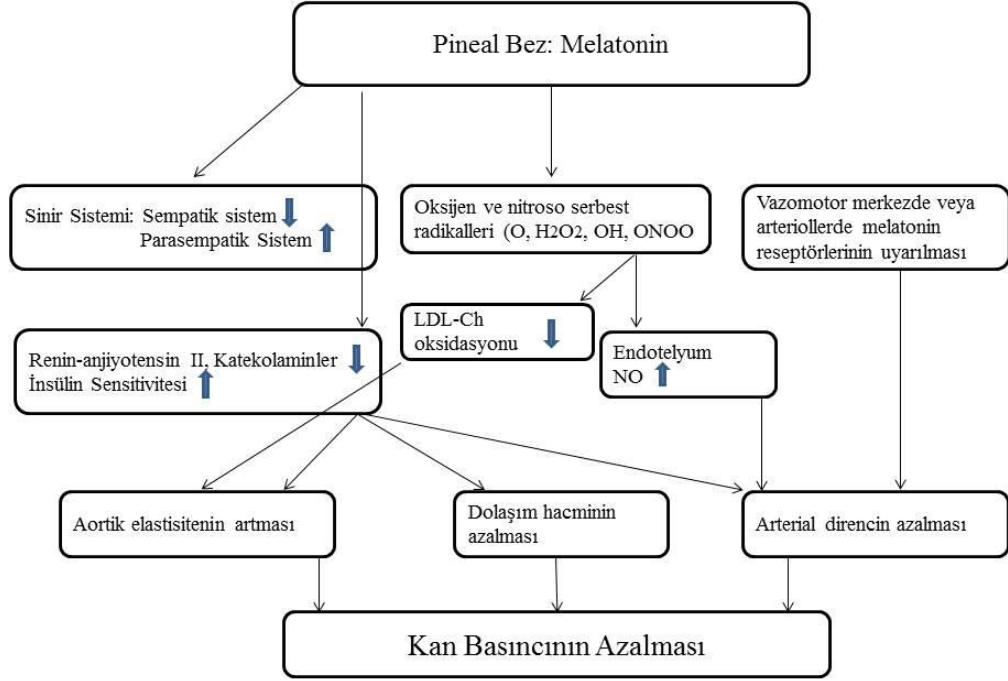
2.3. Kan Basıncı ve Melatonin İlişkisi

Melatoninin hipertansiyonu azaltıcı etkisi ve kalp-damar sistemi ilişkisi son yıllarda yoğun bir araştırma konusu haline gelmiştir (Petkova ve ark., 2014, Cheng ve ark., 2013, Huang ve ark., 2013, Ilhan ve ark 2013, Repová-Bednárová ve ark., 2013, Simko ve ark., 2013, Bang ve ark., 2012, Dominguez-Rodriguez ve ark., 2012). (Simko 2012, Reiter ve ark., 2010).

Damar içi yolla verilen melatoninin ventriküler taşikardiyi, ventriküler fibrilasyonu ve premature ventriküler kontraksiyonu engellediği saptanmıştır (Lee ve ark., 2002). Bunun yanı sıra gece boyunca salınan melatoninin kan basıncını ve kalp hızını düşürmesinden dolayı, yüksek tansiyonun dengelenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür (Yildiz ve Akdemir 2009).

Melatoninin endojen ve santral hipotansif etkisi üzerinde de durulmaktadır (Laflamme ve ark., 1998). Pineal bezi alınmış olan sıçanlarda hipertansiyon geliştiği bildirilmiş ve bundan da artmış plazma renin aktivitesiyle birlikte renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi sorumlu tutulmuştur (Burgess ve ark., 2001, Karppanen ve ark., 1970, Zanoloni ve Zanoloni-Muciaccia 1967). Bununla birlikte hipertansif sıçanlarda kronik melatonin uygulamasının bradikardiye ve hipotansiyona neden olduğu ve vazodilatasyonu arttırdığı bildirilmiştir (Girouard ve ark., 2002). Deneysel veya spontan hipertansif sıçanlarda melatoninin kan basıncını düşürdüğü ve birçok hemodinamik parametreyi olumlu yönde etkilediği de gösterilmiştir (Simko ve ark., 2009, Simko ve Paulis 2007).

Pineal bezden salınan melatoninin kan basıncını azaltıcı etkisi şematik olarak şekildeki gibi özetlenmiştir (Simko ve ark., 2013).



Şekil 4. Melatoninin kan basıncını azaltıcı etkisini gösterdiği muhtemel mekanizmalar (Simko ve ark., 2013).

2.4. Voltaj Duyarlı Potasyum Kanalları ve KCNQ Genlerinin Yapısı ve İşlevi

Hücre membranlarında bulunan ve protein yapıda olan iyon kanalları, hücreye iyon giriş-çıkışlarını kontrol ederek hücre fonksiyonlarını düzenlerler. Bu kanallar, kalbin çalışma hızı, sentezlenen hormonların kana salınması ve merkezi sinir sisteminde sinyal iletiminde rol oynayan elektriksel uyarıların oluşumunu gibi birçok işlevden sorumludurlar (Hille 1992).

Bu kanallardan bir tanesi olan voltaj kapılı potasyum kanalları hücre membranında meydana gelen voltaj değişikliklerine ve potasyuma duyarlıdır. Aksiyon potansiyeli oluşumundan sonra hücrenin tekrar dinlenme durumuna geçmesinde de önemli role sahiptir (Mackie ve Byron 2008).

Potasyum iyon kanalları, sinir hücreleri ve diğer hücrelerde uyarının oluşması için büyük öneme sahip olan membran kanallarıdır. Bu kanalların fonksiyonları arasında dinlenme zar potansiyelini, aksiyon potansiyelinin yüksekliği ile süresini ve duyarsız (refrakter) dönemin süresini belirlemek yer almaktadır. Potasyum iyon

kanalları genetik olarak çok çeşitli olmakla birlikte genel olarak voltaja duyarlıdır. Biyofiziksel olarak otuzdan fazla potasyum iyon kanalı belirlenmiş olup bu kanallar farklı derecelerde voltaja duyarlı olmaları, kinetik ve farmakolojik özelliklerinin farklı olmalarıyla birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Potasyum iyon kanalları özellikle sinir hücresinin uyarılabilirliğini değiştiren kalıtsal hastalıklarda (epilepsi ve kalp aritmisi gibi) önemli role sahiptirler (Bal ve Agar 2002).

Voltaj kapılı potasyum kanallarının alfa ve beta olmak üzere iki alt ünitesi bulunmaktadır. Alfa altünitesi (Kv α) 12 farklı gruba ayrılabilir. Bunlar yavaş aktive olan rektifiye edici potasyum kanalları (Kv7.1-5 kanalları da bu gruptadır), hızlı aktive olan A tipi potasyum kanalları, dışa doğru rektifiye edici potasyum kanalları, içe doğru rektifiye edici potasyum kanalları, yavaş aktive olan potasyum kanalları ve son olarak da susturucu (silencer) potasyum kanallarıdır (Gutman ve ark., 2005). Beta altünitesi ise alfa altünitesiyle birlikte çalışır ve daha çok potasyum kanallarının aktivitesinin modüle edilmesinde görevlidir (Li ve ark., 2006, Pongs ve ark., 1999).

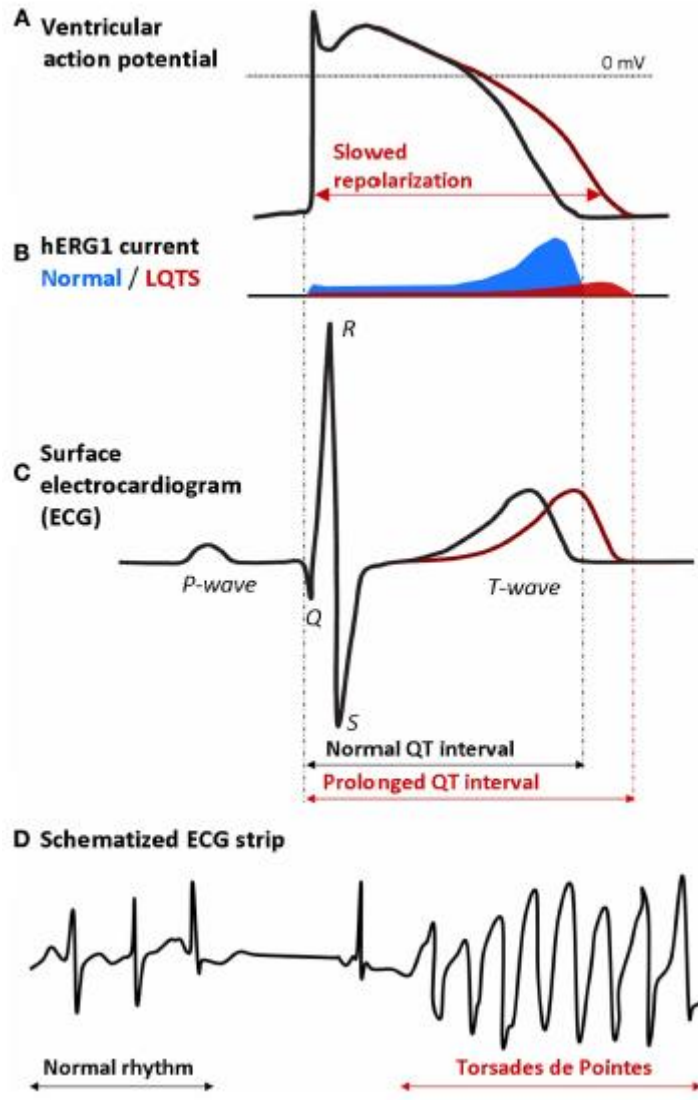
Son yıllarda K (Potasyum) kanallarının hipertansiyonla ilişkisi araştırma konusu olmuştur (Aziz ve ark., 2014, Dvir ve ark., 2014, Shipston 2014). Bunlardan voltaj kapılı K kanallarının (sırasıyla Kv7.1-7.5) kodlandığı KCNQ1-5 genlerinin nöronlar (Wang ve ark., 1998), kardiyomiyositler (Sanguinetti ve ark., 1996), kohlea (Kharkovets ve ark., 2000) ve bazı epitel hücreleri üzerinde (Bleich ve Warth 2000) fizyolojik rolü bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca vasküler (Mackie ve Byron 2008, Yeung ve Greenwood 2005) ve non-vasküler dokularda da (Rode ve ark., 2010, Jepps ve ark., 2011) Kv7 kanallarının önemli işlevleri olduğu belirtilmektedir.

İnsan ve rodent kan damarlarında Kv7 kanallarının kan damarları düz kasları kontraktilesinde etkili bir regülatör olarak çalıştıkları bilinmektedir. Bu kanallarının torasik aortta, süperior mezenterik arterde ve koroner dolaşımında fonksiyonel bir etkisinin bulunduğu ve bu etkisinin hipertansiyon patogenezinde önemli bir role sahip olduğuna dair bilgiler bulunmuştur (Jepps ve ark., 2011, Ng ve ark., 2011, Mackie ve Byron 2008). Ayrıca Kv7 kanallarının pulmoner arter düz kas hücrelerinde ekprese olanlarının, dinlenim membran potansiyeline katkıda bulunduğu ve vasküler düz kas fonksiyonunu regüle edici role sahip olduğu gösterilmiştir (Archer ve ark., 1998, Yuan ve ark., 1998). Normotensif ve hipertansif

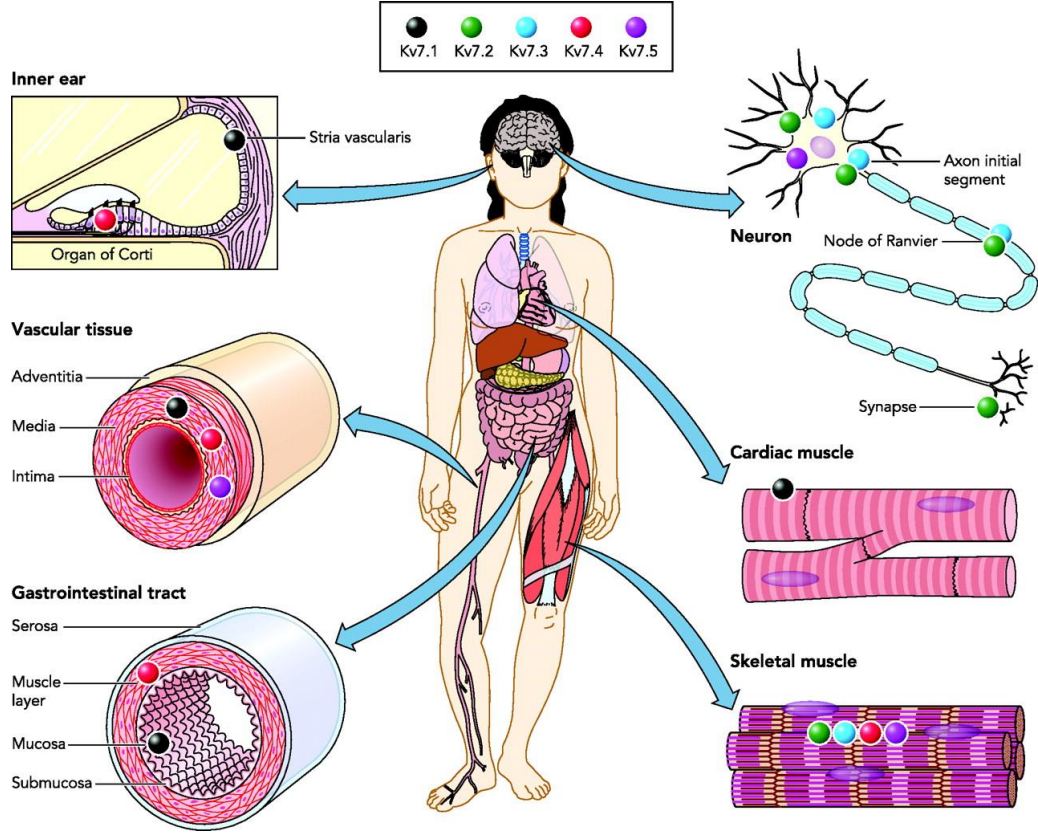
sıçanlarda Kv7 kanallarını kodlayan KCNQ genlerinin ekspresyonları kıyaslanmıştır ve normotensif sıçanlara göre belirgin değişikliklerin olduğu belirlenmiştir (Jeps ve ark., 2011). Potasyum kanallarından Kv7.1-5' in eksprese olduğu dokular farklılık göstermektedir. Bu genlerin eksprese olduğu dokuların dağılımı Resim 6'da gösterilmiştir (Soldovieri ve ark., 2011).

Potasyum kanallarından Kv7.1 (KvLQT1) ve bu kanalı kodlayan KCNQ 1 geni kalp dokusunun hücre membranında da eksprese olmaktadır ve kardiyak aksiyon potansiyelini sonlandırmasından dolayısıyla kalp kasılmasında önemli role sahiptir (Jespersen ve ark., 2005). Bu gende meydana gelebilecek mutasyonlar kalıtsal aritmilere ve uzun QT sendromuna (LQT1) da sebep olmaktadır (Hedley ve ark., 2009).

Bir diğer potasyum kanalı olan Kv11.1 ise KCNH2 geni tarafından eksprese edilmektedir. Bu kanal kalbin elektriksel aktivitesinin koordinesine en fazla katkı sunan kanal olarak göze çarpmaktadır. Bu kanalın aktivitesi ilaçlarla veya bazı mutasyonlar sonucu kalıtsal olarak inhibe edildiğinde öldürücü uzun QT sendromu (LQTS) görülmektedir (Hedley ve ark., 2009). Bu gende görülebilen mutasyonlardan olan fonksiyon kaybı mutasyonu sonucu uzun QT sendromu (LQT2) görülürken fonksiyon kazanımı mutasyonunda ise kısa QT sendromu ortaya çıkmaktadır. Bu iki klinik durum da kardiyak aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında görülen bozulmadan kaynaklanmaktadır ve öldürücü kardiyak aritmilerle (*torsade de pointes*) sonuçlanmaktadır (Moss ve ark., 2002, Sanguinetti ve ark., 1995).



Resim 5. Ventriküler aksiyon potansiyeli Faz 3 evresinin uzaması ve EKG’de görülen değişiklikler (Ackerman 1998).



Resim 6. Kv7 genlerinin eksprese olduğu dokuların dağılımı (Soldovieri ve ark., 2011).

2. 5. QT Aralığı ve Uzun QT Sendromu

Elektrokadiyografide QT aralığı ventriküler miyokardın elektriksel aktivasyon ve dinlenme sürelerini vermektedir. Bu süre kalp hızı ile ters orantılı olarak değişir. Kalbin hızlanması QT aralığının kısalmasına neden olurken, yavaşlaması QT aralığının uzamasına neden olur. Dolayısıyla sağlıklı bir QT süresini belirlemek için QTc süresini belirlemek gerekir (Beyazıt ve ark 2005, Allan ve ark., 2001, Vincent ve ark., 1992).

Uzun QT sendromu; elektrokardiyografi’de (EKG) uzamış QT aralığı, ventriküler aritmiler, TDP ve ventriküler fibrilasyona eğilim sebebiyle oluşan senkop ve ani ölümlerle karakterize klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalıktır. QT mesafesinde görülen uzama ve T dalgasının morfolojisindeki anormallikler sendromun özellikleri arasındadır (Bektaşoğlu ve ark 2009, Antselevitch ve Shimizu

2002). Düzeltilmiş QT mesafesi, yaş ilerledikçe artmaktadır. Kadınlarda erkeklere nazaran daha sık görülmektedir. Uzun QT sendromlu hastalarda QTc mesafesi 440 ms'den daha uzundur (Reardon ve Malik 1996, Moss ve ark., 1991).

Uzun QTS'nun herediter formu potasyum kanallarının oluşumundan sorumlu genlerdeki mutasyon ile ilişkilidir. İyatrojenik form ise daha çok ilaçlara ve elektrolit dengesizliğine bağlıdır. QT aralığının uzamasına kinidin, sotalol, amiodaron, prokainamid gibi antiaritmik ilaçlar sebep olmakla beraber antiaritmik kardiyak ilaçlar dışındaki birçok ilacın QT uzamasına yol açabildiği de bilinmektedir (Beyazıt 2005).

LQTS tipi	Mutant gen	Kromozom	Etkilenen iyon kanalı	Oluşan etkiler	LQTS oluşumu %
LQT1	KCNQ1(KvLQT1)	11	I _{Ks} α-altünitesi	↓ I _{Ks}	%50
LQT2	KCNH2(HERG)	7	I _{Kr} α-altünitesi	↓ I _{Kr}	%45
LQT3	SCN5A	3	I _{Na} α-altünitesi	↑ I _{Na}	%3-4
LQT4	Ankyrin-B	4	Na pompası ve Na/Ca değiştiricisi	↑geçI _{Na} ?	<%1
LQT5	KCNE1(minK)	21	I _{Ks} β-altünitesi	↓ I _{Ks}	<%1
LQT6	KCNE2(MIRP1)	21	I _{Kr} β-altünitesi	↓ I _{Kr}	<%1
LQT7	KCNJ2	17	I _{Kir2.1}	↓ I _{Kir2.1}	<%1
LQT8	CACNA1C	6	I _{CaL}	↑ I _{CaL}	<%1
LQT9	CAV3 (caveolin)	3	Nav1,5	↑INa	<%1
LQT10	SCN4B	11	SCN5A β-Alt Ünitesi	↑geçINa	<%1
LQT11	AKAP9	7	A Kinaz ankor proteini	↓ I _{Ks}	<%1
LQT12	SNTA1	20	Sodyum akımı (SCN5A) regülatörü	↑INa	<%1

Şekil 5. 1990'lı yıllardan bu yana yapılan çalışmalarda tanımlanmış olan Uzun QT genleri, Yerleşik Bulunduğu Kromozom, Etkilenen İyon Kanalı, Etkileri ve Uzun QT Sendromu Oluşturma Yüzdeleri (Bektaşoğlu ve ark 2009).

Uzamış QT aralığının altındaki temel elektrofizyolojik mekanizma, repolarizasyon sürecinden sorumlu bazı akımların yokluğu veya bloke olmalarıdır. QT aralığının uzunluğu, öncelikle gecikmiş rektifiye edici ventriküler potasyum akımı tarafından kontrol edilmektedir. Bu akımın hızlı komponentinin (I_{Kr}) bazı ilaçlarca blokajı yaşamı tehdit eden TDP tipi aritmilerin (polimorfik ventriküler taşikardiler) en önemli sebebi olarak gösterilmektedir. Hipopotasemi, hipomagnezemi ve hipokalsemi gibi elektrolit bozuklukları da QT aralığını uzatarak

aritmiye neden olabilmektedir (Witchel ve Hancox 2000, Stratmann ve Kennedy 1987).

2. 6. Melatonin Yoksunluğu Oluşturma Yöntemi Olarak Pinealektomi

Melatonin pineal bezden salgılanmakta olup kan basıncının regülasyonunda önemli bir role sahiptir. Melatonin uygulamasının da hem insanlarda hem de hayvanlarda hipertansiyonu azaltıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Melatonin eksikliğine bağlı olarak geliştirilen iki deneysel hipertansiyon modeli bulunmaktadır. Bunlar; pinealektomi yapılması ve 24 saat ışık maruziyeti yöntemleridir. Bu iki model de melatonin yokluğu sağlamak ve bu şekilde kan basıncının artması, miyokardiyal, vasküler ve renal bozukluklarla ilişkilendirilmektedir (Simko ve ark., 2013).

Pineal bezin cerrahi olarak alınması (pinealektomi) ilk olarak 1965 yılında Hoffman ve Reiter tarafından tanımlanmıştır (Hoffman ve Reiter 1965). Pineal bezin sap kısmında tutularak çıkarılmasına dayalı olan bu işlem ilerleyen yıllarda geliştirilmiş ve dura matere, venöz sinüslere ve beyine en az hasarla pineal bezin alınması sağlanmıştır (Maganhin ve ark., 2009). Bu yöntem aslında ilk olarak melatoninin ritmini ve sezonsal üretimini görmek için uygulanmıştır fakat daha sonra kan basıncını yükseltici bir role sahip olduğu görülmüş ve kronik melatonin uygulamasının hipotansif bir etkisinin olduğu gösterilmiştir (Holmes ve Sudgen 1976, Zanoboni ve Zanoboni-Muciaccia 1967). Pinealektomi sonrasında oluşturulan kan basıncı artışı bir-iki ay boyunca sürmekte fakat üçüncü aydan sonra normal seviyesine geri dönmektedir (Zanoboni ve ark., 1978).

Pinealektomize hipertansif sıçanlarda kalp ağırlığının arttığı, mikroskobik olarak gösterilebilir miyokardiyal fibrozis ve kardiyak valflerin myoksomotoz dejenerasyona maruz kaldığı görülmüştür (Mizrak ve ark 2004).

Pinealektomi melatoninin hem gece hem de gün içerisindeki salınımını azaltmaktadır. Fakat bu durum melatoninin plazmadan tamamen yok olması anlamına gelmemektedir çünkü pineal bez melatoninin ana salgı yeri olmasına rağmen tek salgı yeri değildir (Holmes ve Sudgen 1976). Gastrointestinal sistem önemli miktarda melatonin üretmektedir hatta pinealektomi sonrası ekstra melatonin

salgısı görülebilir (Reiter ve ark, 2011, Bubenik, 2008). Pinealektomi sonrası melatonin metabolitinin idrarla atılımının hem gece hem de gündüz azaldığı görülmüştür (Brown ve ark, 1991).

Bu çalışmada malatoninin kan basıncı ve QT süresi üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda melatonin yoksunluğu modeli olarak pinealektomi yöntemi kullanılmıştır. Kan basıncı artırıcı bir faktör olarak ayrıca L-NAME kullanılarak melatoninin L-NAME'nin geliştirdiği hipertasyon üzerine nasıl bir etki oluşturacağı belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca kan basıncını etkileyen Kv7 kanallarını kodlayan gen olan KCNQ1-5 gen ekspresyonları belirlenerek bunların melatoninle ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Yine tüm gruplarda QT süresi ölçülerek melatonin-kan basıncı-QT süresi arasındaki ilişkinin incelenerek, QT süresini etkileyen Kv11.1 kanalını kodlayan KCNH2 gen ekspresyonları ve melatoninin ilişkisinin ortaya konulması düşünülmüştür.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın hayvan deneyleri bölümü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında (ÇOMÜDAM) yürütüldü (Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı no: 2013/02-13). Elde edilen dokulardan RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve kantitatif Real-Time PCR işlemleri ise Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Eğitim ve Araştırma Hastanesi Moleküler Genetik Tanı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3. 1. Hayvan Materyali

Araştırmada ÇOMÜDAM'dan temin edilen 200-250 gram ağırlığında Sprague-Dawley ırkı toplam 42 adet erişkin erkek 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 içme suyu olarak normal şebeke suyu kullanıldı. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi.

3.2. Grupların Oluşturulması

Gruplar oluşturulmadan önce tüm sıçanlar tartıldı ve bazal değer kan basınçları ölçüldü. Gruplar canlı ağırlık ve bazal değer kan basınçları dikkate alınarak her grupta 7 sıçan olacak şekilde oluşturuldu. Tüm gruplarda uygulama süresi 21 gün olarak belirlendi. Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

1. **GRUP (SHAM; n=7):** Bu gruba pinealektomi işlemi yapılmış olan gruplardaki tüm cerrahi işlemler uygulandı ancak pineal bez çıkarılmadı.
2. **GRUP (SHAM+L-NAME; n=7):** Bu gruba SHAM Pinealektomi operasyonu yapıldı ve L-NAME (CAS 51298-62-5: NL'-nitro-L-arginin metil ester, Sigma-Aldrich); içme suyuna katılarak 40 mg/kg/gün) verildi.
3. **GRUP (PLT; n=7):** Bu gruptaki sıçanlara pinealektomi operasyonu yapıldı ve pineal bezleri çıkarıldı.
4. **GRUP (PLT+L-NAME; n=7):** Bu gruba pinealektomi işlemi yapıldı ve ağız yolu ile L-NAME (içme suyuna katılarak 40mg/kg/gün) verildi.
5. **GRUP (PLT+MEL; n=7):** Bu gruba pinealektomi operasyonu yapıldı ve derialtı yolla melatonin (S 4858937 244, MERCK; 5 mg/kg/gün) uygulandı.
6. **GRUP (PLT+L-NAME+MEL; n=7):** Bu gruba pinealektomi işlemi yapıldı, ağız yolu ile L-NAME (içme suyuna katılarak 40 mg/kg/gün) ve derialtı yolla Melatonin (5 mg/kg/gün) verildi.

3.3. Yöntem

Oluşturulan gruplarda uygulanan işlemlerin ayrıntıları aşağıda belirtilmiştir.

3.3.1. L-NAME Uygulaması

Sıçanlarda deneysel hipertansiyon modeli oluşturmak için L-NAME kullanıldı. Bu amaçla L-NAME her bir sıçan için 40 mg/kg/gün dozunda olacak şekilde içme sularına katılarak uygulandı (Saravanakumar ve Raja 2012, Hlavackova ve ark., 2011). İçerisinde belirlenen dozlarda L-NAME bulunan içme suları her gün yenildi. Sıçanların günlük su tüketimi deneysel süreç başlamadan önce belirlendi ve her bir sıçanın tükettiği su içerisinde günlük yaklaşık olarak 40 mg/kg L-NAME alması sağlandı.

3.3.2. Melatonin Uygulaması

Melatonin % 5 etanol (Absolute GR for analysis, MERCK, Almanya) içeren serum fizyolojik çözeltisi içerisinde çözündürülerek 5 mg/kg/gün dozunda derialtı yolla uygulandı. Uygulamada sıçanların ağırlıklarına göre doz ayarlaması yapıldı. Uygulanacak olan melatonin belirtilen dozlarda her gün taze olarak hazırlandı ve bekletilmeden uygulandı (Öztürk ve ark 2012, Aydın ve ark 2008). Tüm uygulamalar her gün 10:00-10:30 saatleri arasında gerçekleştirildi. Uygulamalardan sonra enjeksiyon bölgesinde doku ölümü ve herhangi bir enfeksiyon durumunun ortaya çıkması yönünden tüm sıçanlar izlendi.

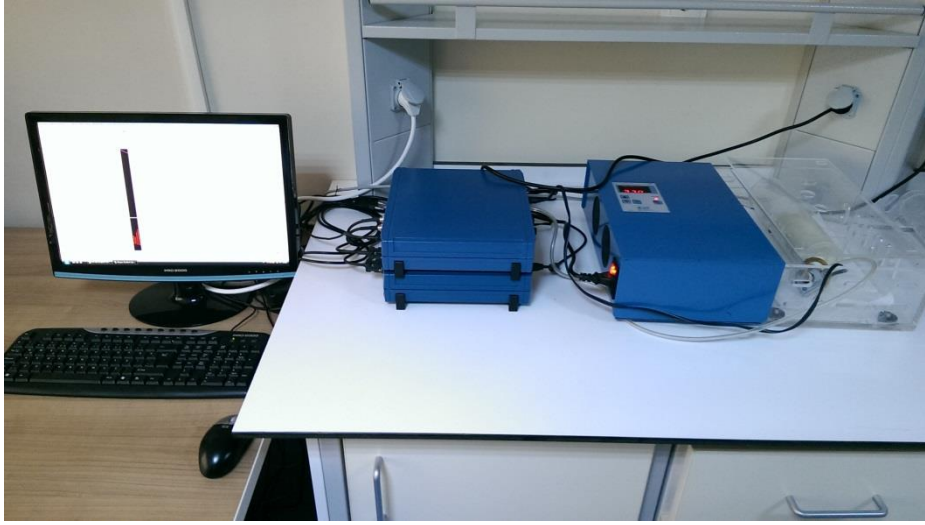
3.3.3. Hayvanlar Üzerinde Yapılan Uygulamalar

3.3.3.1. Kan basıncının ölçülmesi

Tüm gruptaki sıçanlar araştırmaya alınmadan önce kan basıncı ölçüm cihazına alınarak cihaza ve uygulanacak olan işlemlere alışmaları sağlandı.

Kan basınçları tüm grupta kuyruk arterinden tail cuff yöntemi kullanılarak ölçüldü (MAY, NIBP200-A, Noninvasive kan basıncı ölçüm sistemi, Biopac Systems INC, ABD). Tüm sıçanlardan sistolik (SKB), diastolik (DKB) ve ortalama (OKB) kan basıncı ölçümleri yapıldı. Her uygulamadan önce sıçanların kan basıncı ölçüm cihazına yerleştirilmelerini takip eden 5 dakika (dk) boyunca beklendi ve

sıçanların sakinleşmeleri sağlandı. Kan basıncı ölçümünün yapıldığı sırada odanın gürültüsüz olması sağlandı. Ölçüm sırasında sıçanlar üzerinde stres oluşturacak faktörlerden kaçınıldı ve sıçanlara elle herhangi bir temasta bulunulmadı (Oktar ve ark 2008). Sıçanlardan her seferinde 3 farklı kan basıncı değeri ölçüldü ve ortalamaları alındı. Tüm gruplarda kan basıncı ölçümleri uygulamaya başlanmadan önce (0. gün) ve uygulamaların 1., 7., 14. ve 21. günlerinde 11:00-11:30 saatleri arasında yapıldı.



Resim 7. Sıçanlarda kuyruktan kan basıncı alınması

3.3.3.2. Elektrokardiyografi (EKG) Alınması

Sıçanlar EKG sonuçlarını gözlemek için I., II. ve III. ekstremite derivasyonları ile artırılmış unipolar ekstremite derivasyonları olan aVR, aVL ve aVF derivasyonları kaydedildi. EKG kayıtları non-invaziv yolla gerçekleştirildi (Poly-Spectrum 12 channel ECG-System, Poly-Spectrum-8, Neurosoft, 5, Voronin str., Ivanovo, Rusya). EKG kayıtları; 1 mV=20 mm, hız 75 mm/sn olacak şekilde ve filtre kullanılarak (35 Hz) alındı. EKG kayıtları yapılmadan 5 dakika önce hayvanlara sedatif amaçlı 40 mg/kg ketamin HCl (Ketasol %10, 0513277AA, İnterhas A.Ş., Ankara) ve 4 mg/kg ksilazinin (Xylazinbio %2, 525120A, İntermed, Ankara) uygulandı. EKG kayıtları tüm gruplarda 0., 1., 7., 14. ve 21. günlerde 11:30-12:00 saatleri arasında alındı. EKG verileri genel olarak değerlendirildikten sonra

kalp atım hızı, RR süresi ve QT süresi hesaplandı. EKG örneklerinde II. derivasyon ve aVR kayıtları dikkate alınarak RR ve QT süreleri hesaplandı (Atabay ve Uzun, 2009). Her bir EKG kaydından arka arkaya 3 RR aralığı belirlenerek hesaplamalar yapıldı. Belirlenen QT ve RR değerlerinden milisaniye (msn) düzeyinde QTc süreleri hesaplandı (Howarth ve ark., 2009, Fridericia 1920, Bazett 1920). QTc hesaplamalarında aşağıdaki formüller kullanıldı.

Bazett (QTcB): $QT \text{ Aralığı} / \sqrt{RR}$

Fridericia (QTcF): $QT \text{ Aralığı} / \sqrt[3]{RR}$

3.3.3.3. Sedasyon ve Anestezi

3.3.3.3.1. Sedasyon İşlemi

Sedasyon işlemi sadece EKG alınması için gerçekleştirildi ve 40 mg/kg ketamin HCl (Ketasol %10, 0513277AA, İnterhas A.Ş., Ankara) ve 4 mg/kg ksilazinin (Xylazinbio %2, 525120A, İntermed, Ankara) kas içi yolla verilmesiyle gerçekleştirildi (Erbaş ve Yılmaz 2013). Bu amaçla sıçanların yaklaşık 5 dk hafif sedasyonda kalmaları yeterli görüldü.

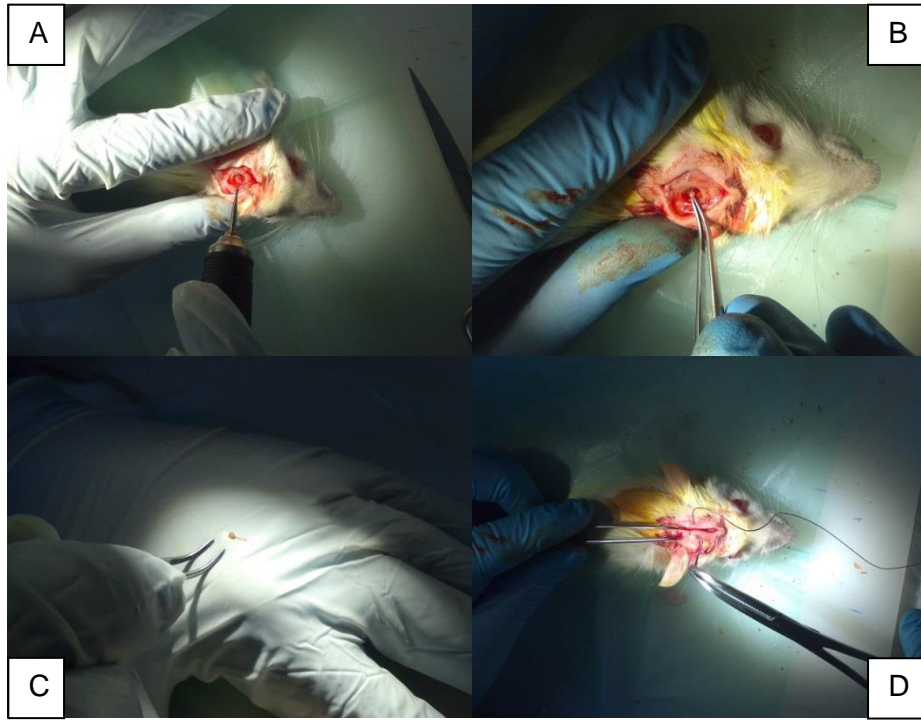
3.3.3.3.2. Anestezi İşlemi

Pinealektomi operasyonu genel anestezi altında gerçekleştirildi. Bu amaçla ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) kullanılarak sıçanlar genel anesteziye alındı (Aydın ve ark., 2008). Sıçanların anesteziye girişi refleks kontrolü yapılarak belirlendi. Deneysel sürecin sonunda dokuların alınması için hayvanlara aynı genel anestezi protokolü uygulandı ve belirtilen dokular alındı.

3.3.3.4. Pinealektomi Operasyonu

Pinealektomi operasyonu PLT, PLT+MEL, PLT+L-NAME ve PLT+MEL+L-NAME gruplarına yapıldı. Anestezi sonrasında ilk olarak sıçanların kafa derisi traşlandı. Daha sonra, kafatasının üst kısmından 3cm'lik bir deri insizyonu ile cilt

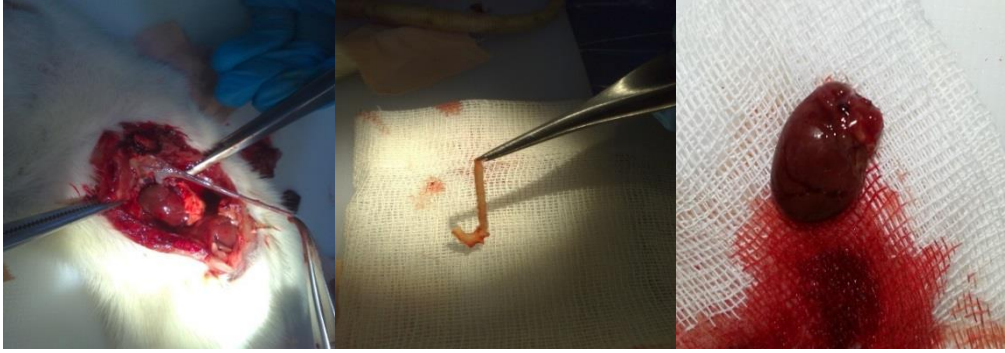
açıldı. Sonrasında sıçanın kafatasındaki *lambda-bragma* bölgeleri görünür hale getirildi. Kafatasında dişi turu yardımıyla *lambda* bölgesinden 3-5 mm çapında açılan daireden kafatası kemiği bir forseple tutularak kaldırıldı ve yaklaşık 60° lik bir açıdan ince uçlu bir forseple pineal bezin bulunduğu 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 3/0 emilebilir steril suturela dikilerek kapatıldı (Resim 10 A-D). SHAM ve SHAM-L-NAME gruplarına ise pinealektomi operasyonu forseple pineal bezin alınmasına kadar aynı protokolde ve aynı hassasiyette yapıldı fakat bu kısımda forseple pineal bezin sap kısmından tutularak alınması işlemi yapılmadı. Her operasyondan sonra deri insizyonu dikilerek kapatıldı ve pinealektomi operasyonu yapılarak pineal bezleri alınan sıçanların 3 gün süreyle iyileşmeleri beklendikten sonra deneysel aşamaya geçildi.



Resim 8. Pinealektomi operasyonunun yapılması. A: Dişi 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 suturela dikilmesi.

3.3.4. Doku Örnekleri Alınması

Deneysel süreç olan 21 günün sonunda hayvanlar genel anestezi altında uyutuldu. Tüm sıçanlardan 21. günün sonunda genel anestezi altında dokular (aort ve kalp) alındı ve sıçanlar kas içi Lysthenon (0.5 ml) verilerek uyutuldu. Sonrasında kalp sol ventrikülü ile 'arcus aorticus' çıkarılarak 'DNase/RNase free' olan tüplere alınıp bekletilmeden sıvı azot içerisine konuldu. Tüm dokular uygun koşullarda alındıktan sonra ise genetik analizler yapılmaya kadar -80 °C'de bekledi. Analiz kısmında görülebilecek herhangi bir olumsuzluğa karşılık her bir dokunun bir de yedeği aynı şartlar gözetilerek alınıp -80 °C'de saklandı.



Resim 9. Alınan doku örnekleri (Torasik Aort ve Sol Ventrikül)

3.4. Genetik Analizler

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, Hilden Almanya) homogenize edildi. Homojenize edilecek dokular 2 ml' lik steril tüplere alındı ve her birine bir adet steril çelik bilye konulduktan sonra cihaza yerleştirilerek dokuların homojenize edilmesi sağlandı. Elde edilen homejenatlardan 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 ND-1000 Spectrophotometer cihazı kullanılarak yapıldı ve sonrasında örnekler -80 °C’de saklandı.

3.4.2. cDNA Eldesi

İzole edilen RNA’lar çalışma yapılincaya kadar -80°C’de bekletildi (5 gün). 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 1. 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 2. PCR Koşulları

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

3.4.3. Primer Dizileri

Belirlenen genler için primer dizileri hazırlandı ve analiz edildikten sonra çalışıldı. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait tüm genler için sırasıyla analiz edildikleri web sayfası isimleri ve primer dizileri ve aşağıda verilmiştir;

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/14091761>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/18959271>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/140971897>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/392348319>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/403225002>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/16758827>

Tablo 3. Ekspresyon Seviyeleri Bakılan Genlere Ait Primer Dizileri.

GEN	PRİMER DİZİSİ	T _m (°C)	UZUNLUK (BP)	GC %
<i>KCNQ 1</i>	Forward: 5'-TGGGTCTCATCTTCTCCTCC- 3'	57.83	20	55.00
	Reverse: 5'-GTAGCCAATGGTGGTGGTACTG- 3'	58.55	20	55.00
<i>KCNQ 2</i>	Forward: 5'-AAGAGCAGCATCGGCAAAAA- 3'	59.04	20	45.00
	Reverse: 5'-GGTGCGTGAGAGGTTAGTAGCA- 3'	62.03	22	54.55
<i>KCNQ 3</i>	Forward: 5'-CAGCAAAGAACTCATCACCG- 3'	57.11	20	50.00
	Reverse: 5'-ATGGTGGCCAGTGTGATCAG- 3'	60.03	20	55.00
<i>KCNQ 4</i>	Forward: 5'-GAATGAGCAGCTCCCAGAAG- 3'	58.33	20	55.00
	Reverse: 5'-AAGCTCCAGCTTTTCTGCAC- 3'	59.04	20	50.00
<i>KCNQ 5</i>	Forward: 5'-AACTGATGAGGAGGTTCGGTG- 3'	59.10	20	55.00
	Reverse: 5'-GATGACCGTGACCTTCCAGT- 3'	59.39	20	55.00
<i>KCNH2</i>	Forward: 5'-CTCAAAGGCGACCCTTTCCT- 3'	59.96	20	55.00
	Reverse: 5'-AATGAGCCAGTCCCACACTG- 3'	59.96	20	55.00

T_m: Erime Sıcaklıkları, GC %: Guanin-Cytosin Yüzdesi, BP: Baz Çifti Uzunluğu

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 ekspresyonu için aşağıda verilen protokol uygulandı;

Tablo 4. Real Time PCR Malzeme Miktarları

Bileşenler	Örnek Başına Hacim
SyberGreen Master Mix	5 µl
Forward Primer	0,75 µl
Reverse Primer	0,75 µl
RNAse Free Su	2,5 µl
cDNA	1 µl
Toplam	10 µl

qRT-PCR yönteminde gen ifade düzeylerine bakılan KCNQ1, 2, 3, 4, 5 ve KCNH2 genlerinin normalizasyonu hamarat (housekeeping gene) gen olan β -actin geni ile yapıldı. Bu çalışmada, kısmi miktarlara dayalı PCR yönteminde bulunan sonuçları doğrulamak için Real-Time PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanıldı. qRT-PCR analizi cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 5. qRT-PCR Sentez Basamak Ayarları

Basamağın Adı	Döngü Sayısı	Zaman	Sıcaklık (°C)
Hold	1	10 dk	95
Döngü	40	15 sn	95
		1 dk	60
E	1	Sürekli	60-95

3.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen EKG ve Kan Basıncı verileri IBM Statistics SPSS 20.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizleri ANOVA kullanılarak tespit edildi. Gruplar arasında gözlenen farkları karşılaştırmak için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulandı ve farklar 0,05 önem düzeyinde incelendi ($p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi).

Genetik analizler kısmında 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)

SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version dosyası haline getirilip istatistiksel analiz yapıldı. Aynı zamanda GraphPad Prism 6 programı kullanılarak sonuçlar grafiksel olarak gösterildi. Elde edilen ölçüm değerleri GraphPad Prism 6.02 programında bulunan D'Agostino & Pearson omnibus normality test, Shapiro-Wilk normality test ve Kolmogorov-Smirnov test kullanılarak değerlendirildi. Dağılımın normalite testi yapıldıktan sonra SPSS 16.0 for Windows Evaluation Version programı kullanıldı. Ölçüm sonuçlarına "Wilcoxon" testi uygulandı. p değeri; $p < 0.05$ olanlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada sıçanlardan SHAM, SHAM+L-NAME, PLT, PLT+L-NAME, PLT+MEL ve PLT+L-NAME+MEL olmak üzere toplam 6 farklı grup oluşturulmuş ve 42 adet sıçan kullanılmıştır. Araştırma süresince deney hayvanları üzerinde kan basıncı ölçümleri yapılmış ve EKG kayıtları alınmıştır. Deneysel sürecin sonunda ise tüm gruplardaki sıçanlardan *torasik aorta* doku örnekleri alınarak KCNQ1-5 gen ekspresyonları düzeyleri araştırılmıştır. Yine aynı sıçanlardan kalp *sol ventrikül* doku örnekleri alınarak KCNH2 gen ekspresyon düzeyi belirlenmiştir. Araştırmaya alınan tüm sıçanlar çalışmayı sağlıklı bir şekilde tamamlamış araştırma sonucunu etkileyecek herhangi bir olumsuzlukla karşılaşmamıştır.

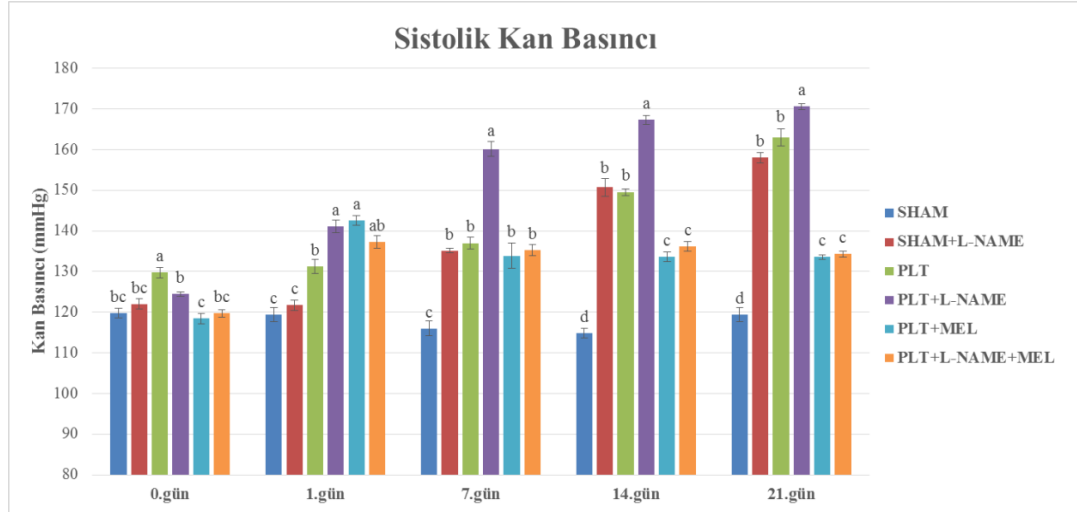
4.1. Kan Basıncı Değerleri

Tüm gruplarda SKB, DKB ve OKB değerleri 0. gün, 1. gün, 7. gün, 14. gün ve 21. günlerde *tail-cuff* yöntemiyle kaydedilmiştir.

Genel olarak bakıldığında SKB, DKB ve OKB değerlerindeki değişimlerin birbiri ile benzerlik taşıdığı görülmektedir.

4.1.1. Sistolik Kan Basıncı Değerleri

Sistolik kan basıncı değerleri açısından gruplarda günlere bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olduğu görülmektedir. Bu değişikliklerin özellikle SHAM+L-NAME, PLT ve PLT+L-NAME gruplarında 14. ve 21. günlerde ortaya çıktığı anlaşılmaktadır. SHAM grubunda önemli bir değişiklik gözlenmemiş, 0. gün 120 mmHg olan SKB değeri 21. günde yine 120 mmHg olarak kaydedilmiştir. SHAM+L-NAME grubunda ise 122 olan SKB değeri 14. günde 151 mmHg, 21. günde 158 mmHg değerine ulaşarak yaklaşık % 30 oranında bir artış göstermiştir. PLT grubunda da benzer şekilde % 25'lik bir artış olduğu göze çarpmaktadır. Sistolik kan basıncı değerindeki en yüksek artışın ise % 37 ile PLT+L-NAME grubunda olduğu anlaşılmaktadır. PLT+MEL ve PLT+L-NAME+MEL gruplarında 21. günde ölçülen SKB değerleri SHAM grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmasına rağmen ($p < 0.05$) bu artışların PLT grubuna göre çok düşük seviyelerde kaldığı dikkat çekmektedir. Anlamlı düzeydeki artışların özellikle 14. günde başladığı ve SHAM+L-NAME, PLT ve PLT+L-NAME gruplarında ortaya çıktığı ve diğer gruplara göre ($p < 0.05$) anlamlı düzeyde yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir. Benzer bulguların 21. günde de ortaya çıktığı anlaşılmaktadır (Şekil 6, Tablo 6).



Şekil 6. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda sistolik kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

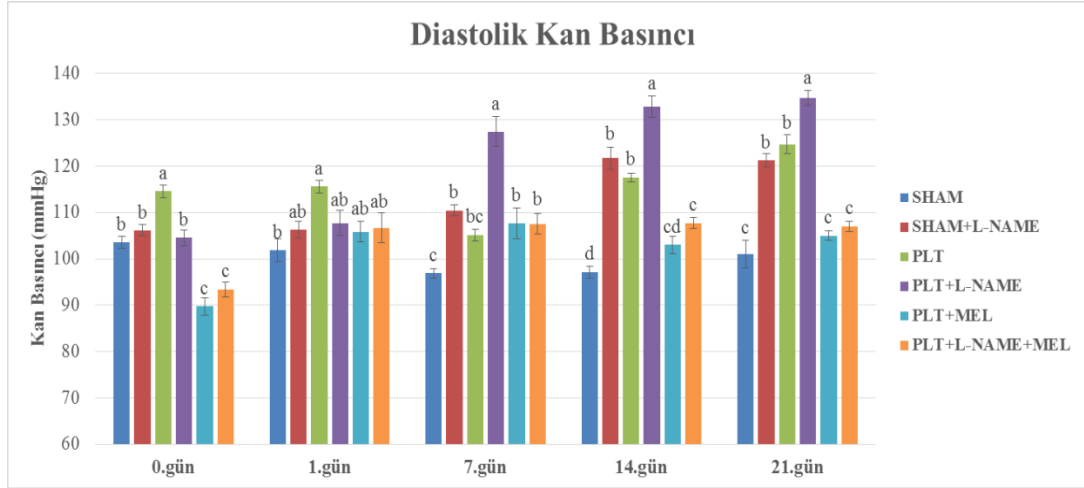
Tablo 6. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda sistolik kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	Sistolik Kan Basıncı Değerleri (mmHg)				
	0. gün	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
SHAM	120 ± 1	119 ± 1	116 ± 1	115 ± 1	119 ± 1
SHAM+L-NAME	122 ± 1 ^d	122 ± 1 ^d	135 ± 1 ^c	151 ± 2 ^b	158 ± 1 ^a
PLT	130 ± 1 ^d	131 ± 1 ^{cd}	137 ± 1 ^c	150 ± 1 ^b	163 ± 2 ^a
PLT+L-NAME	124 ± 1 ^d	141 ± 1 ^c	160 ± 1 ^b	167 ± 1 ^a	171 ± 1 ^a
PLT+MEL	119 ± 1 ^c	142 ± 1 ^a	134 ± 3 ^b	134 ± 1 ^b	133 ± 1 ^b
PLT+L-NAME+MEL	120 ± 1 ^b	137 ± 1 ^a	135 ± 1 ^a	136 ± 1 ^a	134 ± 1 ^a

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.1.2. Diastolik Kan Basıncı Değerleri

Tüm grupların DKB değerleri incelendiğinde ise SKB değerlerindeki değişimlere benzer bir şekilde yüksek kan basıncı oluşturulan gruplarda kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı artış görülürken SHAM grubunda bu değerlerin deneysel süreç boyunca anlamlı değişiklik göstermediği belirlenmiştir. Melatonin verilen gruplarda ise DKB değerlerindeki artışların sınırlı kaldığı anlaşılmaktadır. Diğer taraftan deneysel sürecin 0. gününde SHAM+L-NAME grubunda 106 mmHg olan DKB'nin 21. gün 125 mmHg değerine ulaştığı görülmektedir. Benzer şekilde PLT+ ve L-NAME grubunda ise 0. günde 105 mmHg olarak ölçülen DKB % 29'luk bir artışla 135 mmHg seviyelerine kadar yükseldiği görülmektedir. Melatonin verilen PLT+MEL ve PLT+L-NAME+MEL gruplarında ise DKB'nin SHAM grubunda belirlenen değerlere yakın seviyelerde seyrettiği belirlenmiştir (Şekil 7, Tablo 7).



Şekil 7. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda diastolik kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

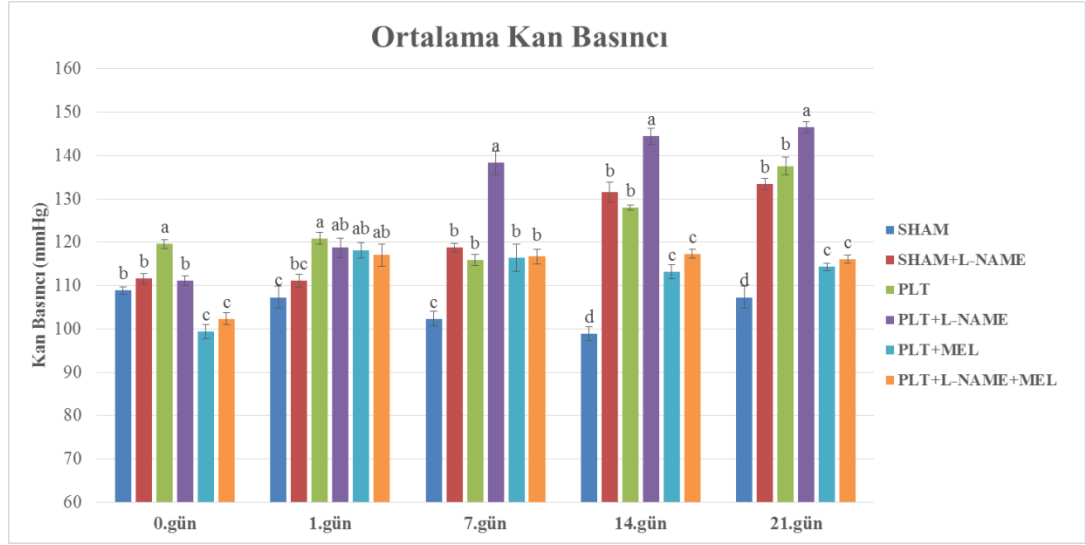
Tablo 7. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda diastolik kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	Diastolik Kan Basıncı Değerleri (mmHg)				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	103 ± 1	102 ± 2	97 ± 1	97 ± 1	101 ± 3
SHAM+L-NAME	106 ± 1 ^b	107 ± 1 ^b	110 ± 1 ^b	121 ± 2 ^a	122 ± 1 ^a
PLT	114 ± 1 ^b	116 ± 1 ^b	106 ± 1 ^c	117 ± 1 ^b	125 ± 2 ^a
PLT+L-NAME	105 ± 1 ^b	108 ± 2 ^b	127 ± 3 ^a	133 ± 2 ^a	135 ± 1 ^a
PLT+MEL	90 ± 1 ^b	106 ± 2 ^a	108 ± 3 ^a	103 ± 1 ^a	105 ± 1 ^a
PLT+L-NAME+MEL	93 ± 1 ^b	107 ± 3 ^a	107 ± 2 ^a	108 ± 1 ^a	107 ± 1 ^a

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.1.3. Ortalama Kan Basıncı Değerleri

Ortalama kan basıncı değerleri açısından SHAM+L-NAME ve PLT+L-NAME gruplarındaki değerlerin SHAM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). PLT+L-NAME grubunda % 30 düzeyinde bir artışla 147 mmHg seviyelerine çıkan OKB değerindeki artışın melatonin verilen PLT+L-NAME+MEL grubunda % 13 seviyelerinde kaldığı görülmüş ve melatoninin OKB değerindeki artışı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde önlediği görülmüştür ($p < 0.05$) (Şekil 8, Tablo 8).



Şekil 8. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ortalama kan basıncının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

Tablo 8. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ortalama kan basıncı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	Ortalama Kan Basıncı Değerleri (mmHg)				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	109 ± 1 ^a	107 ± 2 ^a	102 ± 1 ^{ab}	99 ± 1 ^b	107 ± 2 ^a
SHAM+L-NAME	112 ± 1 ^c	111 ± 1 ^c	119 ± 2 ^b	132 ± 2 ^a	133 ± 2 ^a
PLT	119 ± 1 ^c	121 ± 1 ^c	116 ± 1 ^c	128 ± 1 ^b	138 ± 2 ^a
PLT+L-NAME	111 ± 1 ^c	119 ± 2 ^c	138 ± 2 ^b	144 ± 1 ^{ab}	147 ± 1 ^a
PLT+MEL	99 ± 1 ^b	118 ± 1 ^a	117 ± 3 ^a	113 ± 1 ^a	114 ± 1 ^a
PLT+L-NAME+MEL	102 ± 1 ^b	117 ± 2 ^a	117 ± 1 ^a	117 ± 1 ^a	116 ± 1 ^a

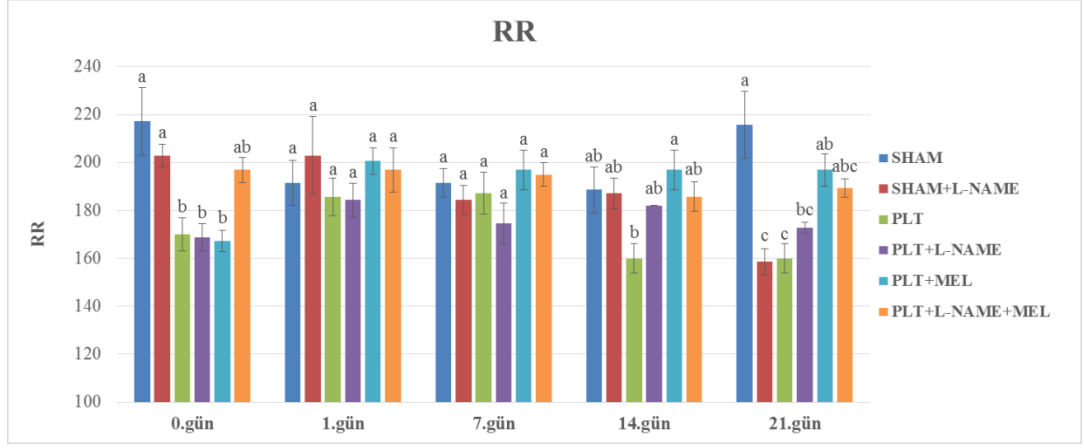
SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.2. Elektrokardiyografik Parametrelerin Değerlendirmeleri

Elektrokardiyografik veriler olarak RR süresi, KAH, QT ve QTc süresi değerleri belirlenmiştir. Tüm sıçanlardan ölçüm yapılabilir netlikte EKG kaydı alınabilmiştir.

4.2.1 RR Süresi ve Kalp Atım Hızı

RR aralığı süresi ile ilgili değişiklikler Şekil 9 ve Tablo 9' da verilmiştir.



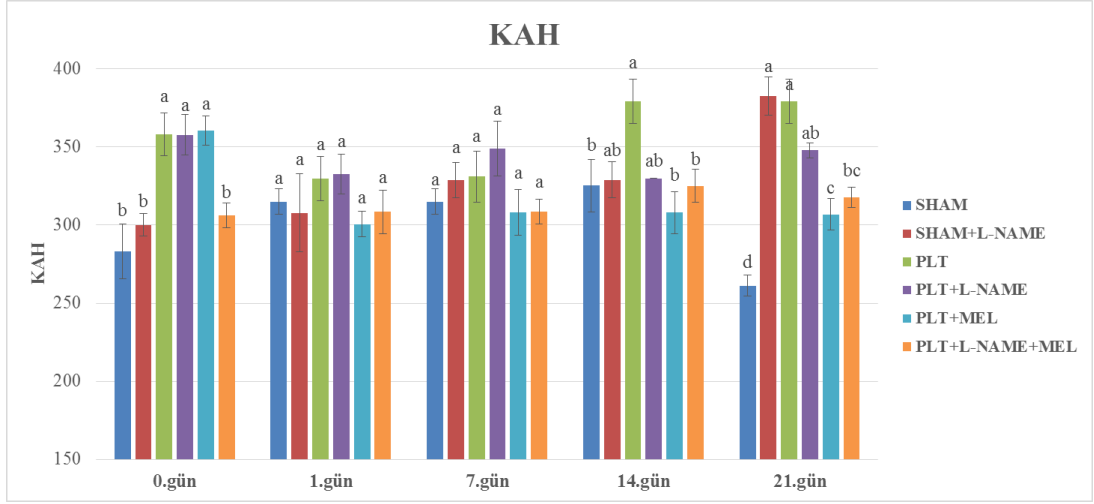
Şekil 9. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda RR aralığı süresinin tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

Tablo 9. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda RR aralığı süresinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	RR Aralığı Değerleri (msn)				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	217 ± 14	191 ± 9	191 ± 5	190 ± 9	216 ± 13
SHAM+L-NAME	203 ± 4 ^a	203 ± 16 ^a	183 ± 6 ^{ab}	184 ± 6 ^{ab}	159 ± 5 ^b
PLT	170 ± 6	186 ± 7	187 ± 8	160 ± 6	160 ± 6
PLT+L-NAME	169 ± 5	184 ± 7	175 ± 8	182 ± 1	173 ± 2
PLT+MEL	167 ± 4 ^b	200 ± 5 ^a	197 ± 8 ^a	196 ± 8 ^a	197 ± 6 ^a
PLT+L-NAME+MEL	196 ± 5	197 ± 9	195 ± 4	188 ± 6	189 ± 3

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

Kalp atım sayıları yönünden tüm grupların 21. günde SHAM grubuna göre daha yüksek bir değer gösterdiği görölmektedir. Kalp atım hızı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselerek SHAM+L-NAME grubunda 382'ye PLT grubunda ise 380'e ulaşmıştır ($p < 0.05$). Melatonin verilen gruplarda ise bu değer 306-315 arasında değişmiştir.



Şekil 10. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda kalp atım hızının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

Tablo 10. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda kalp atım hızı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

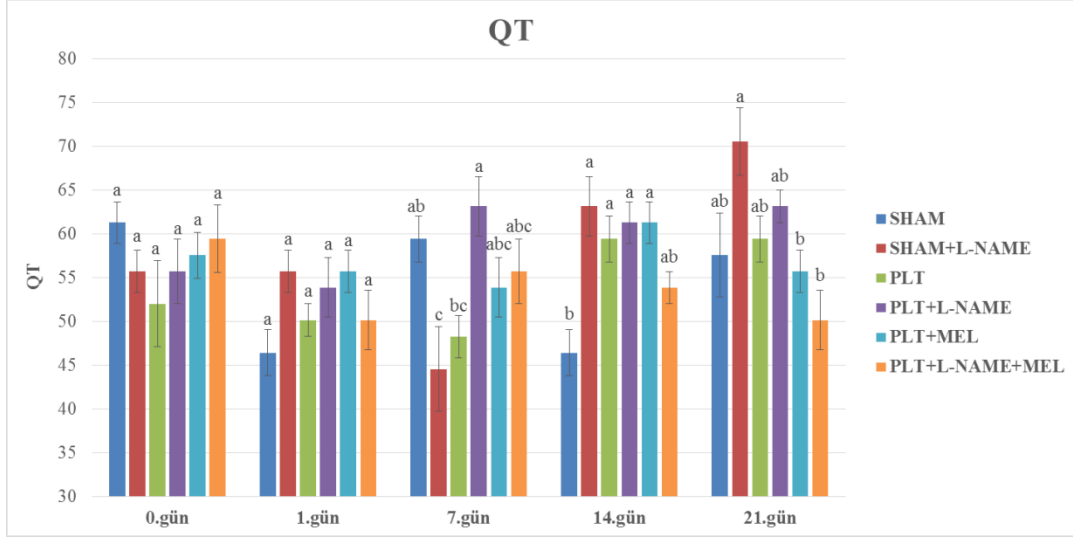
Gruplar	Kalp Atım Hızı (KAH) (dk)				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	284 ± 17 ^{ab}	314 ± 8 ^a	321 ± 8 ^a	325 ± 16 ^a	261 ± 6 ^b
SHAM+L-NAME	300 ± 7 ^b	308 ± 24 ^b	329 ± 11 ^{ab}	329 ± 11 ^{ab}	382 ± 12 ^a
PLT	358 ± 13	331 ± 14	332 ± 16	378 ± 14	380 ± 14
PLT+L-NAME	358 ± 12	333 ± 12	349 ± 17	344 ± 1	359 ± 4
PLT+MEL	360 ± 9 ^a	302 ± 8 ^b	308 ± 14 ^b	307 ± 13 ^b	306 ± 9 ^b
PLT+L-NAME+MEL	306 ± 8	308 ± 13	309 ± 7	319 ± 10	313 ± 6

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.2.2. QT ve QTc Verileri

QT değerleri açısından gruplar arasında kayda değer bir değişikliğe rastlanmamıştır. Sadece SHAM ve SHAM+L-NAME gruplarında günler arasında bazı değişimlerin olduğu göze çarpmaktadır.

Düzeltilmiş QT değerleri Bazzett ve Fridericia formülleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki formül sonucu hesaplanan QTc değerlerinin birbirleri ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. QTc sürelerinin SHAM+L-NAME, PLT ve PLT+L-NAME gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Melatonin verilen iki grubun 21. gün QTc değerlerinin SHAM grubu ile benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

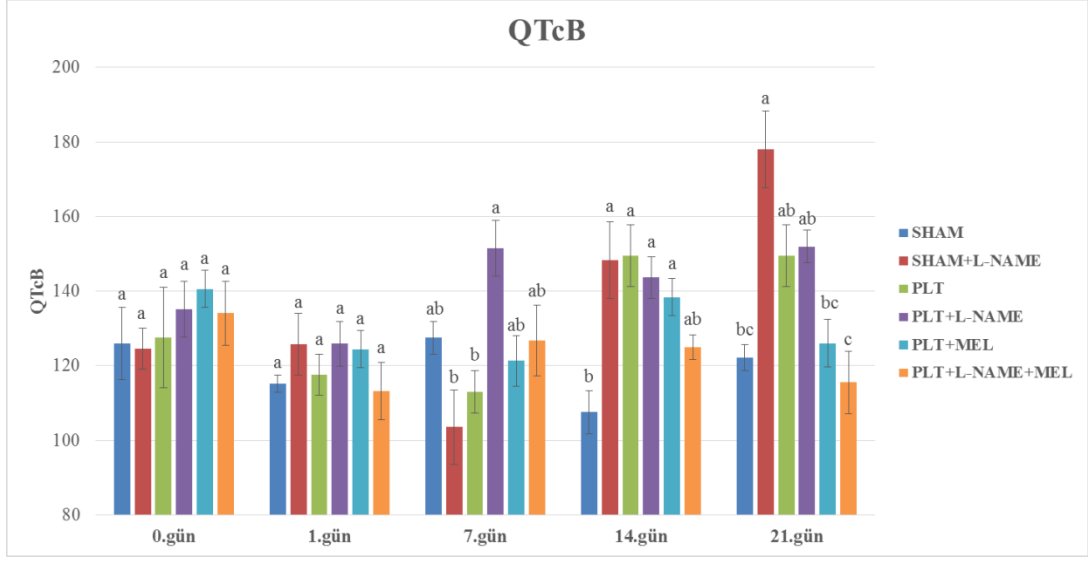


Şekil 11. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda QT aralığının tüm gruplarda zamana bağlı değişimleri. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

Tablo 11. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Qt aralığı verilerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	QT aralığının değişimi				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	61 ± 2 ^a	47 ± 2 ^b	58 ± 2 ^a	47 ± 2 ^b	58 ± 4 ^{ab}
SHAM+L-NAME	56 ± 2 ^{bc}	56 ± 2 ^{bc}	44 ± 4 ^c	63 ± 3 ^{ab}	71 ± 3 ^a
PLT	52 ± 4	51 ± 1	48 ± 2	59 ± 2	58 ± 2
PLT+L-NAME	56 ± 3	54 ± 3	63 ± 3	61 ± 2	63 ± 1
PLT+MEL	58 ± 2	56 ± 2	54 ± 3	61 ± 2	56 ± 2
PLT+L-NAME+MEL	59 ± 3	50 ± 3	56 ± 3	54 ± 1	51 ± 3

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

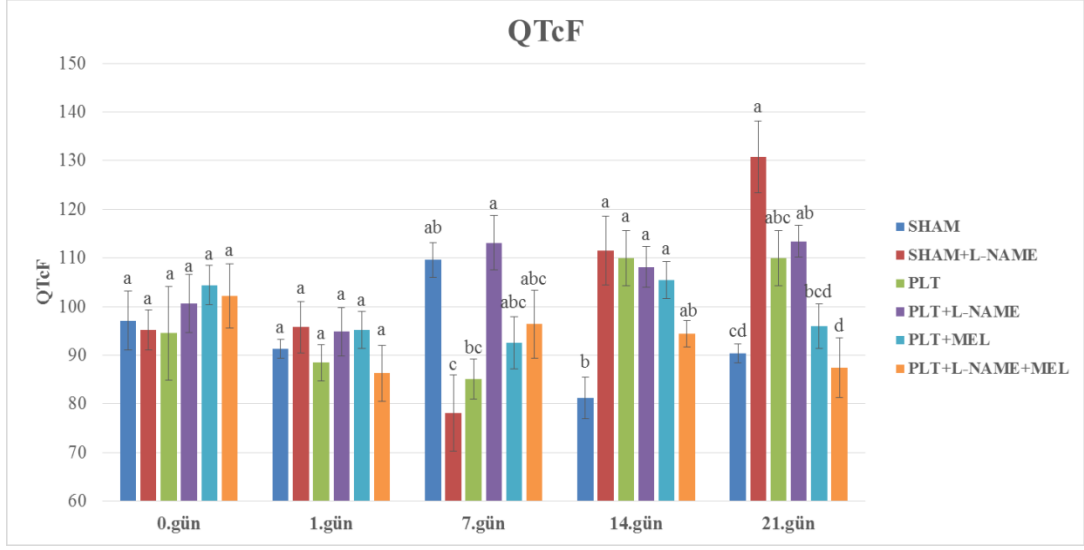


Şekil 12. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Bazzett formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinin (QTcB) tüm gruplarda zamana bağlı değişimlerinin gösterilmesi. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

Tablo 12. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Bazzett formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	Düzeltilmiş QTcB Değerleri				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	126 ± 9	116 ± 2	127 ± 4	109 ± 5	122 ± 3
SHAM+L-NAME	124 ± 5 ^{bc}	125 ± 8 ^{bc}	103 ± 9 ^c	148 ± 10 ^{ab}	178 ± 10 ^a
PLT	127 ± 13 ^{ab}	118 ± 5 ^{ab}	116 ± 5 ^b	149 ± 8 ^a	151 ± 8 ^a
PLT+L-NAME	135 ± 4 ^{ab}	125 ± 6 ^b	151 ± 7 ^{ab}	143 ± 5 ^{ab}	153 ± 4 ^a
PLT+MEL	140 ± 7	125 ± 4	122 ± 6	137 ± 5	127 ± 6
PLT+L-NAME+MEL	134 ± 8	116 ± 7	127 ± 9	125 ± 3	117 ± 8

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 13. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Fridericia formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinin (QTcF) tüm gruplarda zamana bağlı değişimlerinin gösterilmesi. Aynı gün içerisinde farklı üstel harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$).

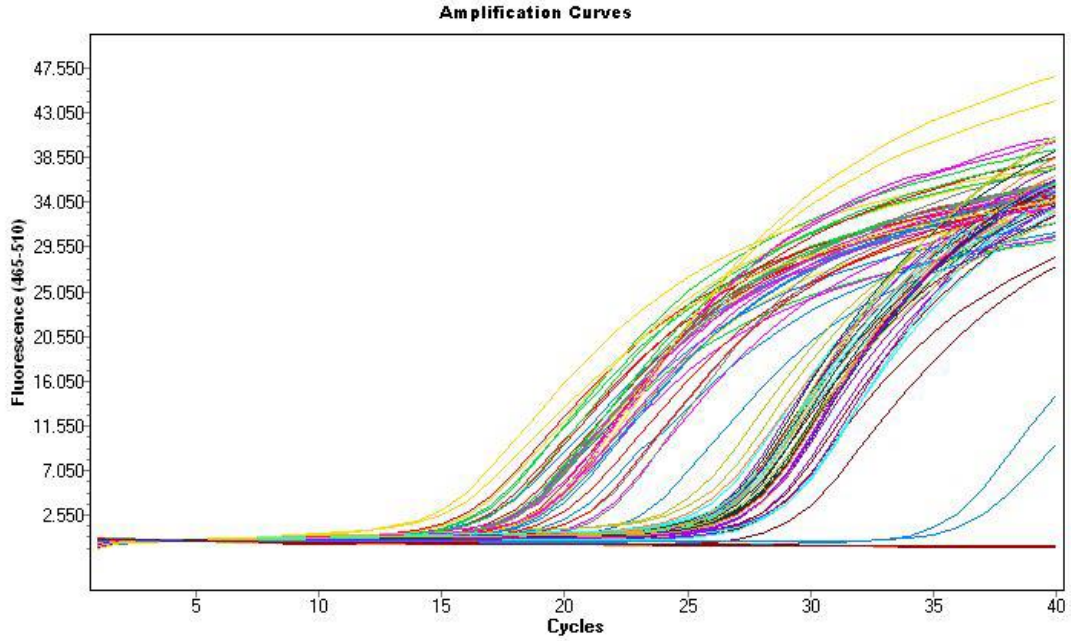
Tablo 13. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda Fridericia formülüne göre düzeltilmiş QT süresi değerinde grup içinde farklı günlerde meydana gelen değişikliklerin karşılaştırılması.

Gruplar	Düzeltilmiş QTcF Değerleri				
	0. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
SHAM	97 ± 6 ^{ab}	91 ± 2 ^b	110 ± 3 ^a	81 ± 4 ^b	90 ± 1 ^b
SHAM+L-NAME	95 ± 4 ^{bc}	96 ± 5 ^{bc}	78 ± 7 ^c	112 ± 7 ^{ab}	131 ± 7 ^a
PLT	95 ± 9	88 ± 3	85 ± 4	110 ± 5	110 ± 5
PLT+L-NAME	101 ± 5	95 ± 5	113 ± 5	108 ± 4	113 ± 3
PLT+MEL	104 ± 4	95 ± 3	93 ± 5	105 ± 3	96 ± 4
PLT+L-NAME+MEL	102 ± 6	86 ± 5	96 ± 6	94 ± 2	87 ± 6

SHAM: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan grup, SHAM+L-NAME: SHAM Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT: Pinealektomi operasyonu yapılan grup, PLT+L-NAME: Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grup, PLT+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan ve melatonin verilen grup, PLT+L-NAME+MEL: Pinealektomi operasyonu yapılan, L-NAME ve melatonin verilen grup. Aynı satırda farklı üstel harfler ile gösterilen günler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.3. Gen İfade Analizi Sonuçları

Çalışmada ekspresyon seviyeleri analiz edilen genlerden KCNQ4 geni ve endojen kontrol olan AktinBeta genine ait Real-Time PCR yöntemi ile elde edilen CP (crossing point) değerlerine ait çoğalma eğrisi sonucu aşağıda örnek olarak verilmiştir (Şekil 14).

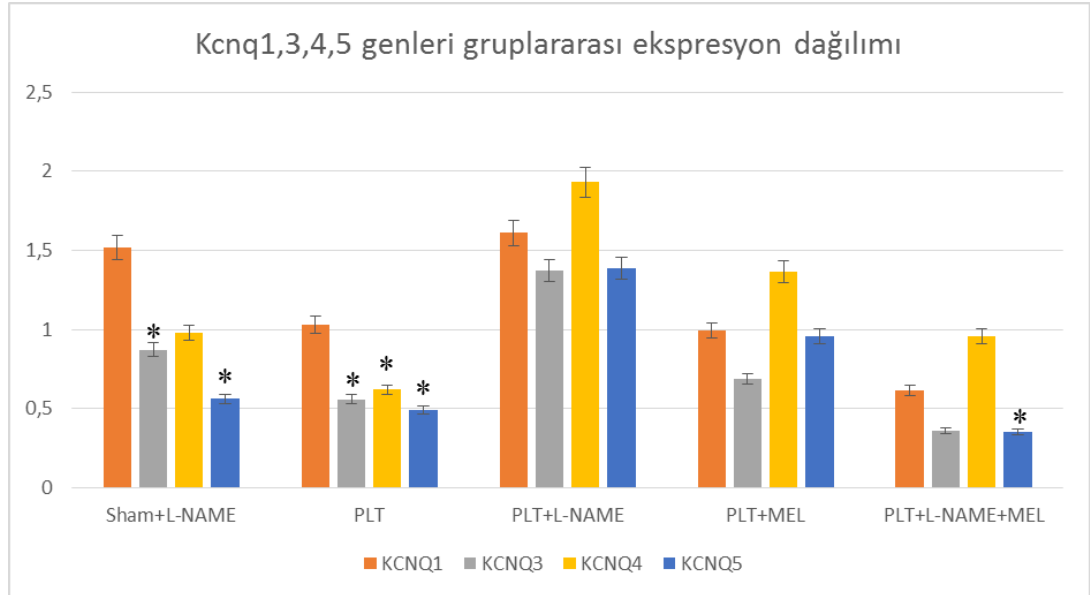


Şekil 14. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda ekspresyon seviyeleri incelenen genlere ait örnek CP değerleri (KCNQ4 ve AktinBeta genlerine ait).

Genlerin ekspresyon seviyeleri Real-Time PCR cihazında 3 kez çalışılmış ve optimizasyon sonrası elde edilen veriler esas alınmıştır. Ekspresyon seviyesine bakılması hedeflenen toplam 6 genden KCNQ2'nin CP değerleri anlamlı bulunmadığı için istatistiksel analizlerde değerlendirilmeye alınmamıştır. Torasik aortta (KCNQ1-5) ve sol ventrikülde (KCNH2) eksprese olan genlerin SHAM grubuyla kıyaslanarak elde edilen Fold Change değerlerinin istatistiki sonuçları aşağıdaki şekillerde verilmiştir (House Keeping gen olarak AktinBeta geni kullanılmıştır).

4.3.1 KCNQ Genlerine Ait Ekspresyon Analizi

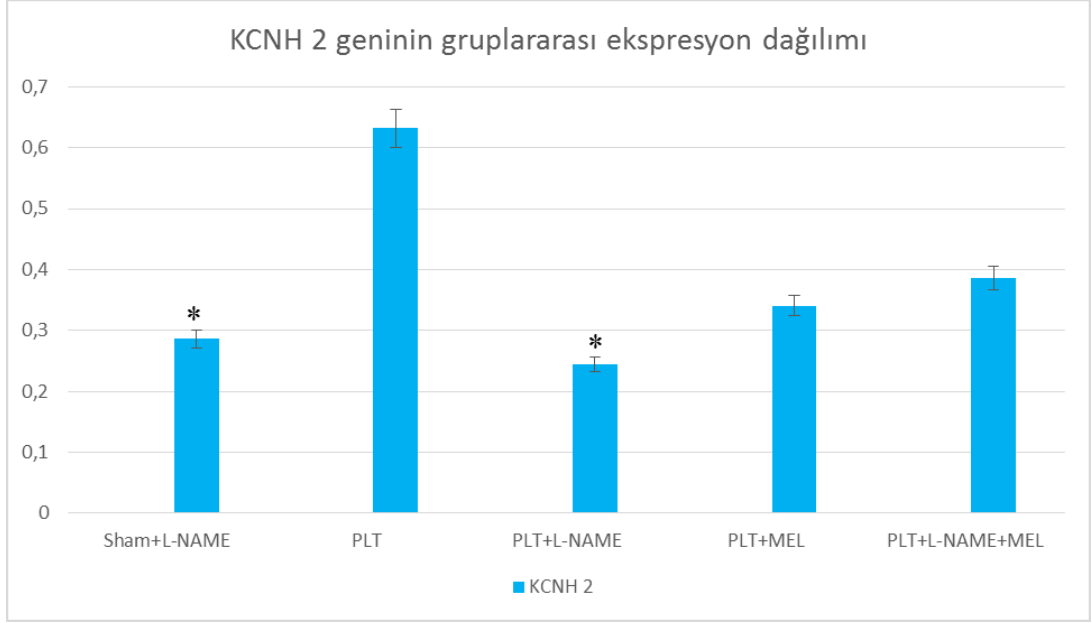
Ekspresyon seviyeleri araştırılan KCNQ gen ailesinin CP değerleri incelendiğinde ekspresyon seviyelerinin (KCNQ3, 4 ve 5) PLT grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı, buna karşılık PLT+L-NAME grubunda artış gösterdiği görülmektedir ($p < 0.05$). SHAM+L-NAME grubunda KCNQ3 ve 5 genleri anlamlı bir azalma gösterirken PLT+L-NAME+MEL grubunda sadece KCNQ5 geni anlamlı bir azalma göstermiştir. Aynı gen ailesinin ekspresyon seviyeleri ise PLT+MEL grubunda anlamlı bir değişim göstermemiştir.



Şekil 15. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda KCNQ1, 3, 4, 5 genlerine ait gruplararası ekspresyon dağılımı grafiği.

4.3.2. KCNH2 Genine Ait Ekspresyon Analizi

KCNH2 geninin ekspresyon seviyesi tüm gruplarda azalmıştır. Fakat istatistiksel olarak anlamlı azalmanın sadece SHAM+LNAME ve PLT+L-NAME gruplarında olduğu görülmektedir ($p < 0.05$).



Şekil 16. Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek sıçanlarda KCNH2 genine ait gruplararası ekspresyon dağılımı grafiği.

4.3.3. Tüm Genlerin Ekspresyon Değişimlerinin Rakamsal Analizi, Anlamlılık Tablosu ve CP Değerleri

Ekspresyon seviyeleri araştırılan genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişiminin rakamsal ifadesi tablo 14' de verilmiştir.

Tablo 14. Tüm genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin rakamsal ifadeleri

Genler	Sham+L-NAME	PLT	PLT+L-NAME	PLT+MEL	PLT+L-NAME+MEL
KCNQ1	↑ 1,5166	→ 1,0308	↑ 1,6126	→ 0,9947	↓ 0,6147
KCNQ3	→ 0,8704	↓ 0,558	↑ 1,3753	↓ 0,6883	↓ 0,3602
KCNQ4	→ 0,9798	↓ 0,6195	↑ 1,9307	→ 1,3679	→ 0,9596
KCNQ5	↓ 0,5614	↓ 0,4917	↑ 1,3865	→ 0,9602	↓ 0,3518
KCNQ6	↓ 0,2862	↓ 0,6319	↓ 0,2438	↓ 0,3407	↓ 0,3859

Tablo 15. Ekspresyon seviyeleri kıyaslanan genlere ait P değerleri (* p < 0.05).

	SHAM+LNAME	PLT	PLT+LNAME	PLT+MEL	PLT+LNAME+MEL
KCNQ1	0,753	0,463	0,345	0,753	0,917
KCNQ3	0,031*	0,031*	0,990	0,312	0,218
KCNQ4	0,075	0,046*	0,893	0,917	0,753
KCNQ5	0,046*	0,028*	0,600	0,753	0,046*
KCNH2	0,031*	0,156	0,015*	0,296	0,078

Tablo 16. Tüm gruplara ait CP değerleri

Gruplar	CP Değerleri						
	KCNQ1	KCNQ2	KCNQ3	KCNQ4	KCNQ5	KCNH2	Aktinβ
SHAM	32,20	35,00	33,45	27,87	27,56	28,79	22,71
SHAM	27,08	35,00	31,23	28,98	27,78	30,74	17,01
SHAM	25,32	35,00	31,05	26,48	27,65	30,25	17,73
SHAM	27,33	35,00	31,63	27,98	27,44	35,00	19,68
SHAM	27,21	35,00	32,60	27,18	27,32	29,70	18,90
SHAM	27,35	35,00	31,46	26,14	27,66	31,63	19,08
SHAM	26,34	35,00	31,25	26,54	27,82	35,00	17,02
SHAM+LNAME	25,21	31,88	29,96	25,94	26,70	27,73	16,65
SHAM+LNAME	25,89	35,00	30,94	26,54	27,37	25,86	17,54
SHAM+LNAME	25,91	35,00	31,43	26,50	27,69	25,03	15,93
SHAM+LNAME	24,80	30,70	28,39	25,68	27,85	24,76	19,57
SHAM+LNAME	25,34	35,00	35,00	28,71	29,69	27,96	18,56
SHAM+LNAME	26,51	35,00	31,73	28,44	28,06	28,62	20,52
SHAM+LNAME	26,57	35,00	31,54	26,29	27,89	31,13	17,34
PLT	24,61	33,36	30,51	26,98	26,88	29,97	16,25
PLT	25,53	35,00	31,47	26,07	27,16	29,83	16,62
PLT	26,78	35,00	31,71	27,12	27,96	28,58	17,90
PLT	24,38	35,00	31,33	26,70	26,92	27,61	17,07
PLT	26,48	35,00	31,69	27,56	27,78	29,62	17,93
PLT	25,82	35,00	31,54	26,25	27,32	27,28	17,68
PLT	25,53	31,82	30,23	27,05	27,51	30,28	18,47
PLT+LNAME	26,60	35,00	30,89	26,55	26,60	27,82	20,90
PLT+LNAME	25,76	35,00	32,42	26,27	26,91	28,01	18,52
PLT+LNAME	27,67	35,00	32,21	26,30	28,30	27,06	18,78
PLT+LNAME	25,87	35,00	30,65	25,37	27,90	27,01	18,93
PLT+LNAME	26,47	35,00	31,00	26,25	27,30	27,09	17,68
PLT+LNAME	26,68	35,00	30,59	27,70	27,49	26,17	18,87
PLT+LNAME	26,92	35,00	32,97	27,29	27,98	30,34	17,62
PLT+MEL	26,53	33,27	31,23	27,82	28,23	33,55	17,82
PLT+MEL	26,04	35,00	32,70	27,39	27,63	26,53	18,51
PLT+MEL	27,68	35,00	32,10	25,78	28,08	31,06	18,03
PLT+MEL	26,84	35,00	32,23	26,39	27,98	27,32	21,25
PLT+MEL	28,37	35,00	32,02	27,31	29,34	27,29	20,68
PLT+MEL	28,80	35,00	35,00	28,57	29,73	30,18	17,96
PLT+MEL	26,31	35,00	32,16	27,55	26,92	29,29	17,98
PLT+LNAME+MEL	26,29	35,00	31,64	26,98	27,53	35,00	18,54
PLT+LNAME+MEL	27,01	35,00	32,21	26,79	28,85	29,71	15,02
PLT+LNAME+MEL	24,65	35,00	33,22	24,65	26,77	28,79	16,00
PLT+LNAME+MEL	26,17	35,00	30,52	25,27	27,73	28,81	19,38
PLT+LNAME+MEL	27,39	35,00	32,04	26,85	28,73	28,80	19,15
PLT+LNAME+MEL	27,38	35,00	32,12	26,77	28,04	28,30	15,29
PLT+LNAME+MEL	26,03	35,00	31,72	26,57	27,89	31,04	16,28

5. TARTIŞMA

Bu araştırma ile deneysel hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda melatoninin kan basıncı ve QT sürelerindeki değişimler üzerine olan etkileri ile KCNQ1, 3, 4 ve 5 ve KCNH2 gen ekspresyonları arasındaki ilişki incelenmiştir.

Kardiyovasküler sistem (KVS) hastalıkları insanlarda ölüm oranı en yüksek hastalıkların başında gelmektedir. Bu nedenle kardiyovasküler sistem hastalıklarına karşı koruyucu ve tedavi edici yeni yöntemlerin geliştirilmesi konusunda araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (Kalpouzou ve ark., 2014, Paredes ve ark., 2014, Raj ve ark., 2014, Huber ve ark., 2013). Bu hastalıklar arasında hipertansiyon yaşamı tehdit eden en önemli neden veya sonuçlardan bir tanesidir. Yine QT süresindeki uzamalar ventriküler aritmilere bağlı ölümlerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Soliman ve ark., 2014, Ansari ve ark., 2013). Son yıllarda KVS hastalıkları ile ilgili araştırmalarda genetik sorgulamaların da yapıldığı ve ilgili kanalları kodlayan gen ekspresyonlarındaki değişimlerin qRT-PCR yöntemi ile ortaya konulduğu görülmektedir (Hedegaard ve ark., 2014, Jepps ve ark., 2011). Bu genlerden KCNQ genleri hipertansiyonla, KCNH2 geni ise QT süresi ile ilişkilendirilmiştir. Damar düz kaslarında bulunan KCNQ1, 3, 4 ve 5 genlerinin voltaj kapılı K kanallarını (Kv7.1, 3, 4 ve 5) eksprese ettiği bilinmektedir. KCNH2 geni ise özellikle kalpte bulunan ve Kv11.1 olarak ta isimlendirilen voltaj kapılı K kanalını ve eksprese etmektedir (Smith ve ark., 2013, Jepps ve ark., 2011).

Pineal bezden salgılanan melatoninin hem insanlarda hem de deney hayvanlarında hipertansiyonu azaltıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Pechanova ve ark., 2014, Simko ve ark., 2013). Melatonin birçok kardiyovasküler parametrenin regülasyonunda önemli role sahip olmasına rağmen bunlar arasında en fazla dikkat çekeninin kan basıncını azaltıcı etkisinin olduğu görülmektedir (Dominguez-Rodriguez ve ark., 2012, Reiter ve ark., 2010, Simko ve Pechanova 2009, Simko ve Paulis 2007). Melatonin verilen sıçanlarda artan kan basıncının azaldığı ve melatonin sayesinde normal seviyelerine geri döndürüldüğü gösterilmiştir (Tain ve ark., 2014, Huang ve ark., 2013). Melatonin MT2 reseptörü sayesinde endotel hücrelerini aktive eder ve kalsiyum salgısını uyararak L-arjininden NO

sentezlenmesini tetikler. Sentezlenen NO vasküler düz kas hücrelerinde guanilatsiklaz enzimini stimule eder ve bu da cGMP üretimini artırır. Artan cGMP düz kaslarda vazodilatasyon yapar ve kan basıncını düşürücü etki gösterir (Singh and Jadhav 2014). Sıçanlar üzerinde yürütülen bu araştırmada melatoninin kan basıncını düzenleyici etkileri araştırılmıştır. Hipertansiyon L-NAME verilerek oluşturulmuş ve melatoninin kan basıncını azalttığı ve normal seviyelere çektiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra melatoninin ana salgı yeri olan pineal bezi alınan sıçanlarda deneysel süreç boyunca kan basıncının artan bir profil izlediği buna karşılık melatoninin bu artışın önüne geçtiği görülmüştür. Pinealektomi operasyonu yapılan ve L-NAME verilen grupta en fazla kan basıncı artışı görülmüş ve melatoninin bu grupta da kan basıncını deneysel sürecin başındaki seviyelere çekebildiği anlaşılmıştır. Melatonin bu etkisi yukarıdaki literatür bilgilerine uyumlu şekilde ortaya çıkmıştır ve NO üzerinden bu etkiyi gösterebileceğini düşündürmüştür. Diğer voltaj kapılı potasyum kanallarının hipertansiyonla olan ilişkisi son yıllarda birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir (Oliveras ve ark., 2014, Stott ve ark., 2014, Ke ve ark., 2013). Bu kanalların (sırasıyla Kv7.1-7.5) kodlandığı KCNQ1-5 genlerinin bir çok dokuda eksprese olduğu ve fizyolojik düzeyde işlevleri bulunduğu bilinmektedir. Bu dokular arasında nöronlar (Wang ve ark., 1998, Jentsch 2000), kardiyomiyositler (Sanguinetti ve ark., 1996), kohlea (Kharkovets ve ark., 2000) ve bazı epitel hücreleri (Bleich ve Warth, 2000) bulunmaktadır. Bu kanallar hem vasküler (Mackie ve Byron 2008, Yeung ve Greenwood 2005) hem de non-vasküler dokularda (Rode ve ark., 2010, Jepps ve ark., 2011) önemli işlevlerden sorumlu tutulmaktadır. Ancak melatoninin kan basıncı üzerine olan etkilerinin bu kanallarla olan ilişkisini sorgulayan çalışmalara rastlanmamıştır.

İnsan ve rodent kan damarlarındaki düz kasların kasılmasında Kv7 kanalları regülatör bir role sahip bulunmaktadır (Ng ve ark., 2011, Mackie ve Byron 2008). Kv7 kanallarının torasik aortta, süperior mezenterik arterde ve koroner dolaşımında fonksiyonel bir etkisinin bulunduğu ve bu etkisinin hipertansiyon patogenezinde önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmektedir (Jepps ve ark., 2011). Voltaj kapılı potasyum kanallarından Kv7.1-5 kanallarını eksprese eden KCNQ1-5 genlerinin birçok damarda bulunduğu ve damarların kontraktilesi üzerine etkili olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (Zhong ve ark., 2010, Joshi ve ark., 2009,

Greenwood ve Ohya 2009). Normotensif ve hipertansif sıçanlarda Kv7 kanallarını kodlayan KCNQ genlerinin ekspresyonları kıyaslanmıştır ve KCNQ1 ile KCNQ4 geninin ekspresyon seviyelerinin azalmasına karşılık KCNQ5 geninin ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (Jeps ve ark., 2011).

Bu kanallarda meydana gelebilecek mutasyonlar sonucunda kardiyak aritmiler ve epilepsi dahil kadar birçok hastalık görüldüğü eskiden beri bilinmektedir (Wilde and Bezzina 2005, Jentsch 2000). Fakat bu kanalların insan arterlerindeki varlığına ilişkin çalışmalar ise nispeten daha yeni bilgiler sunmaktadır ve çalışmalar bu genlerin eksprese ettiği voltaj kapılı potasyum kanallarının aktiviteleri hakkında bilgi vermektedir (Ng ve ark., 2011, Dalby-Brown ve ark., 2006). Bu durum ileriki yıllarda kardiyovasküler hastalıklara tedavi geliştirilmesi açısından umut verecek gelişmeler arasında yer almaktadır. Bu nedenle membran potansiyelini düzenleyici ve vasküler kontraktilete üzerine olan etkileriyle Kv7 kanallarını kodlayan KCNQ gen ailesi hem deneysel hem de klinik açıdan büyük öneme sahiptir. Yapılan birçok çalışmada KCNQ genlerinin ekspresyon seviyeleri hem normotensif hem de hipertansif modeller üzerinde araştırılmış ve anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin Jepps ve ark., (2011) çalışmalarında KCNQ gen ailesinden KCNQ1 ve KCNQ4' ün ekspresyon seviyelerinin normotensif sıçanlara göre hipertansif sıçanlarda azaldığını göstermişlerdir. Buna karşılık KCNQ2, 3 ve 5'in ekspresyon seviyelerinde artış görmüşlerdir. Yaptıkları çalışmada Kv7 kanalının aktivitesinin azalması sonucu arteriyel tonusta ve vasküler dirençte artışın görüldüğü yorumunu yapmışlardır. Bu çalışmada ise L-NAME verilerek sıçanlar hipertansif hale getirilmiş ve KCNQ genlerinin ekspresyonları incelenmiştir. Bunlardan 3 grupta (SHAM+L-NAME, PLT ve PLT+L-NAME) SKB (Sistolik Kan Basıncı) değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p < 0.05$; şekil 6, tablo 6) yükselmiş ve bu gruplar hipertansif kabul edilmiştir. Nitekim SHAM+L-NAME grubunda 122 mmHg değerinden 21. gün sonunda 158 mmHg seviyesine ulaşan SKB değeri, PLT grubunda 130 mmHg'dan 163 mmHg'ya ulaşmıştır. Benzer şekilde PLT+L-NAME grubunda 125 mmHg olan başlangıç SKB değeri 21. günde 171 mmHg değerini göstermiştir. Bu gruplardan elde edilen sonuçlara bakıldığında PLT'nin kendi başına bir hipertansiyon oluşturduğu görülmektedir. Bu grupta pineal bezin çıkarılması ile melatonin yoksunluğu oluşturulmuştur. Gelişen hipertansiyonun melatonin yoksunluğuna bağlı

olduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında melatonin yoksunluğunun 21. günde klasik hipertansif etkisi çok iyi bilinen L-NAME kadar güçlü bir hipertansiyon oluşturuvcu faktör olduğu göze çarpmaktadır. Hipertansif kabul edilen 3 grup karşılaştırıldığında en güçlü artışın PLT+L-NAME grubunda olduğu görülmektedir. Bu durumun melatonin yoksunluğu etkisi ile L-NAME'nin etkisinin birlikte daha güçlü etki oluşturmasından kaynaklandığı söylenebilir. Bu etkilerin büyük oranda melatonin tarafından gerçekleştirildiğini düşündüren bulgular bu araştırmada elde edilmiştir. Çünkü PLT yapılan ve melatonin verilen grupta kan basınçlarındaki artış çok sınırlı kalmıştır ($p<0.05$; şekil 6, tablo 6). Araştırmanın 1. gününde özellikle PLT yapılan 3 grupta da istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiştir ($p<0.05$; şekil 6, tablo 6). Operasyon sonrası hayvanlar operasyonun araştırma verileri üzerindeki etkilerini en aza indirmek amacı ile 3 gün dinlendirildikten sonra uygulamalara başlanmıştır. Dolayısı ile bu süre zarfında melatonin yoksunluğu da ortaya çıkmıştır. Bu gruplardan PLT ve PLT+L-NAME grubuna melatonin verildiğinde 7. günde SKB'deki artışların azalmaya başladığı ve belli bir seviyede sabit kaldığı görülmektedir ($p<0.05$; şekil 6, tablo 6). Literatürde PLT operasyonu sonrasında L-NAME verilerek hipertansiyon modeli oluşturulan ve melatoninin etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan araştırmalar genelde ya ilave melatonin ya da melatonin agonisti veya antagonisti verilerek kan basıncındaki değişimlerin araştırılması şeklinde planlanan çalışmalardır (Huang ve ark., 2013, Kario 2011). Bu nedenle PLT operasyonu ile melatonin yoksunluğu oluşturulan deneysel modellerde melatonin replasmanının gelişebilecek hipertansiyon üzerine etkilerinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca melatoninin hem PLT operasyonu yapılmış hem de SHAM yapılmış deneysel sıçan modellerinde bu etkilerinin araştırılması da önem arz etmektedir.

Araştırmada melatoninin kan basıncı üzerine olan etkileri net olarak ortaya çıkmış olmasına rağmen KCNQ gen ailesi üzerine olan etkilerinin aynı açıklıkta belirlediğini söylemek mümkün gözükmemektedir. Çünkü OKB değerinde artış gözlemlenen SHAM+L-NAME ve PLT grubunda KCNQ3 ve KCNQ5 genlerinin ekspresyonları azalmışken benzer artışların gözlemlendiği PLT+L-NAME grubunda her iki genin ekspresyon düzeylerinde artış gözlenmiştir. Diğer taraftan melatonin PLT grubunda her iki gen ekspresyonu seviyesindeki azalmaları düzeltebilmişken

PLT+L-NAME+MEL grubunda aynı etkiyi göstermemiştir. Bu durum kan basıncı üzerine bu kanalların tek düzenleyici olmadığı şeklindeki ifadeyi doğrular niteliktedir (Jepps ve ark., 2011). Diğer taraftan L-NAME'nin kan basıncı artırıcı etkisinin NO üzerinden olduğu bilinmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Sander ve ark., 1997, Hropot ve ark., 1994). Melatonin bu grupta kan basıncındaki değişimleri sınırlandırabilmekle birlikte hem NO hem de farklı mekanizmalar üzerinden etkiyi gösterdiğini düşündürmektedir.

KCNQ gen ailesinden KCNQ4 ve KCNQ5'in ekspresyon profilinin aynı ailedeki diğer genlerden daha baskın olduğu gösterilmiştir (Jepps ve ark., 2011). Bununla beraber Jepps ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada Kv7 kanalının aktivitesinin ve ekspresyon seviyesinin azalmasının artan kan basıncıyla birlikte seyrettiğini fakat bu durumu hipertansiyon gelişmesinin primer nedeni olarak görmediklerini ifade etmişleridir. Bu çalışmada da benzer şekilde KCNQ4 ve 5'in baskın bir ekspresyon profiline sahip olduğunu görülmüştür. Jepps ve ark., (2011) KCNQ1-5 genlerinin ekspresyon seviyelerini spontan hipertansif sıçanlarda normotensif sıçanlara göre kıyaslamışlardır. Bu çalışmada ise genetik olarak hipertansif olan sıçanlar değil L-NAME verilerek hipertansif yapılan sıçanlar kullanılmıştır. Nitrik oksit sentetaz enzimini inhibe eden L-NAME kronik uygulanması sıçanlarda tercih edilen hipertansiyon yöntemleri arasında yer almaktadır (Doggrell ve Brown 1998, Sander ve ark., 1997). Çalışmamızda aynı genlerin Jepps ve ark., (2011)'in çalışmasıyla farklı bir ekspresyon profili takip etmesinin NOS inhibisyonu ile ilişkili olabileceği ve KCNQ genlerinin NOS inhibisyonu ve gelişen melatonin yoksunluğuna bağlı olarak farklı seviyelerde eksprese olabileceği düşünülmektedir.

Elde edilen veriler ile melatonin-kan basıncı-KCNQ gen ilişkisi ilk kez tartışmaya açılmıştır. Araştırmada ortaya çıkan bulgulara bakıldığında başka faktörlerin de etkili olduğu anlaşıldığından diğer gen ailelerinin de birlikte sorgulanması gerektiği düşünülmektedir.

Elektrokadiyografide QT aralığı ventriküler miyokardın depolarizasyon ve repolarizasyon sürelerini göstermektedir. Bu sürenin kalp hızı ile ters orantılı olarak değiştiği bilinmektedir (Beyazıt ve ark 2005). Bu nedenle sağlıklı bir QT verisi elde edebilmek için QTc kullanılmaktadır. QT süresi hem depolarizasyon hem de

repolarizasyon fazlarını içermekle birlikte QT mesafesindeki uzamaya genel olarak repolarizasyon evresindeki gecikmeler yol açmaktadır (Antzelevitch ve Shimizu 2002). QT aralığının uzamasının Uzun QT sendromuna sebep olduğu bilinmektedir. Bu sürenin uzamasıyla birlikte *torsade de pointes* tipi aritmiler ve ventriküler fibrilasyonla birlikte senkop ve ani kardiyak ölümler de görülmektedir. Bu sendromunun belirtileri arasında T dalga morfolojisi ve QT mesafesindeki uzamalar sayılmaktadır (Bektasoglu ve ark. 2009). QT aralığının uzunluğunun nedenleri arasında potasyum akımının rolü çok önemlidir. Eğer bu kanalın aktivitesinde bir aksaklık olur da potasyumun dışarı çıkışı engellenirse polimorfik ventriküler taşikardiler görülecektir. Bunun yanında bu kanalın aktivitesini engelleyen ilaçlar ve voltaj kapılı potasyum kanalı Kv11.1'in blokajı da bu durumun sebepleri arasında sayılmaktadır (Guo ve ark., 2014, Witchel ve Hancox 2000).

Potasyum kanallarından gecikmiş rektifiye edici voltaj kapılı potasyum kanalı Kv11.1 KCNH2 geni tarafından miyosit hücrelerinde kodlanmaktadır (Abbott ve ark., 1999). Bu genin aktivitesinde görülebilecek bir mutasyon kalbin normal çalışmasını ve aksiyon potansiyelini bozup repolarizasyon evresinde uzamaya ve sonuç olarak da QT süresinde uzamaya (Uzun QT Sendromu) sebep olacaktır (Moss ve ark., 2002). Bu kanallar birçok dokuda tanımlanmış fakat fizyolojik fonksiyonunun en iyi bilindiği hücrelerin kalp hücreleri olduğu söylenebilir. Bu genin normal fizyolojik koşullarda aktivite göstermesi kardiyak miyositlerde potasyum iyonunun hücre dışına çıkarılması dolayısıyla kalbin tekrar dinlenim durumuna geçmesinde çok büyük öneme sahiptir (Sanguinetti ve Tristani-Firouzi 2006, Cheng ve Kodama 2004). Bu genin aktivitesine ait çalışma mekanizması bilinmektedir (Schweigmann ve ark., 2014, Balijepalli ve ark., 2012, Vandenberg ve ark., 2012, Hu ve ark., 2011).

KCNH2 geninin kodladığı hERG kanalının bloke edilmesi sonucunda QT süresinin değişimlerini inceleyen araştırmalar bulunmaktadır (Sung ve ark., 2012, Gullo ve ark., 2003, Jo ve ark., 2000). Ancak gen KCNH2 gen ekspresyonlarının QT süresi üzerine olan etkisi konusunda literatürde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Benzer şekilde melatonin-KCNH2 gen ekspresyonu-QT süresi ilişkisini inceleyen bir araştırma da bulunmamaktadır. Oysa KCNH2 gen ekspresyonunda meydana

gelebilecek bir azalma hERG kanalının aktivitesinde azalmaya tam aksine gen ekspresyonlarındaki artış ise kanal aktivitesinde artmaya yol açabilecektir. Bu çalışmada QTc süresinde istatistiksel olarak anlamlı uzamalar SHAM+L-NAME ve PLT+L-NAME gruplarında ortaya çıkmıştır (p < 0.05). Her iki grupta da KCNH2 gen ekspresyonlarında anlamlı azalmalar belirlenmiştir. PLT grubunda gözlemlenen anlamlı QTc uzamalarına rağmen KCNH2 gen ekspresyonlarında anlamlı azalmalar ortaya çıkmamıştır. Bunun yanı sıra melatoninin verilen iki grupta QTc süresinde herhangi bir uzama ortaya çıkmadığı gibi KCNH2 gen ekspresyonlarında da anlamlı değişiklikler belirlenmemiştir. Bu sonuçlar melatoninin QTc süresi üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Ancak QTc süresinde uzama ve ekspresyondaki azalmaların sadece L-NAME verilen gruplarda ortaya çıkmasına rağmen QTc süresinde uzama belirlenen PLT grubunda anlamlı bir ekspresyon değişikliği olmadığı görülmektedir. Bu durum melatoninin KCNH2 genleri üzerine olan etkisinin L-NAME ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan PLT+MEL ve PLT+ L-NAME+MEL gruplarında melatonin verilmesi QTc süresinin normal değerlerde kalmasına yol açmıştır. Dolayısı ile melatoninin L-NAME dışında bir etki mekanizması olduğu da düşünülebilir. QTc süresindeki uzamalar hayati risk taşıyan ventriküler aritmileri tetikleyebileceğinden bu sonuçlar önem arz etmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Elde edilen sonuçlarla pinealektomi operasyonunun hipertansif etkisi iyi bilinen L-NAME kadar güçlü bir etkiyle hipertansiyon geliştirdiği görülmektedir. Melatoninin, gelişen hipertansiyona karşı koruyucu bir etki göstermiştir ve kan basınçlarındaki artışı önlemiştir. Bu bulgular aşırı ışığa maruz kalan insanlarda melatonin salgısının inhibisyonuna bağlı olarak gelişebilecek hipertansiyon ve KVS hastalıklarında melatoninin rolünün ortaya konulması ve tedavide melatoninin kullanılması açısından yol gösterici nitelik taşımaktadır. Araştırmada melatoninin kan basıncı üzerine olan etkileri net olarak ortaya çıkmıştır fakat KCNQ gen ailesi üzerine olan etkilerinin aynı açıklıkta belirmediğini söylemek için yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Kan basıncı ve KCNQ gen ailesi arasındaki ilişkiyi araştıran diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada hipertansiyon geliştirmek amacı ile L-NAME kullanılması ekspresyon profilinin diğer çalışmalardan farklı olmasının ana sebebi olarak düşünülmektedir. Bunun nedeninin de NOS inhibisyonu olabileceği öngörülmektedir. Bu çalışma ile melatonin-kan basıncı-KCNQ gen ilişkisi ilk kez tartışılmış ve ortaya çıkan bulgulara bakıldığında başka faktörlerin de etkili olduğu görülmüş, diğer gen ailelerinin de sorgulanması gerektiği anlaşılmaktadır.

Diğer taraftan melatonin-KCNH2 gen ekspresyonu-QT süresi ilişkisi ilk kez bu çalışmayla tartışmaya açılmıştır. Hipertansiyon oluşturulan gruplarda QTc süresinde istatistiksel olarak anlamlı uzamalar ortaya çıkmış ve aynı gruplarda KCNH2 gen ekspresyonlarında anlamlı azalmalar olduğu belirlenmiştir. Melatonin QTc süresindeki uzamayı ve KCNH2 geninin ekspresyon seviyesindeki azalmayı önleyebilmiştir. Ancak QTc süresinde uzama ve ekspresyondaki azalmaların L-NAME verilen gruplarda ortaya çıkmasına rağmen QTc süresinde uzama belirlenen PLT grubunda anlamlı bir ekspresyon değişikliği olmadığı görülmüştür. Bu da melatoninin KCNH2 genleri üzerine olan etkisinin L-NAME ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. QTc süresindeki uzamalar hayati risk taşıyan ventriküler aritmileri tetikleyebileceğinden bu sonuçlar önem arz etmektedir. Bunun yanında bundan sonraki çalışmalarda melatoninin dokulardaki seviyelerinin de belirlenmesinin açıklanamayan konulara ışık tutacağı düşünülmektedir.

7.KAYNAKÇA

Abbott GW, Sesti F, Splawski I, Buck ME, Lehmann MH, Timothy KW, Keating MT, Goldstein SA. MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell*. 1999; 97: 175–187.

Ackerman MJ. The long QT syndrome: ion channel diseases of the heart. *Mayo Clin Proc*. 1998; 73(3): 250-69.

Allan WC, Timothy KW, Vincent GM, Palomaki GE, Neveux LM, Haddow JE. Long QT syndrome in children: the value of rate corrected QT interval and DNA analysis as screening tests in the general population. *J Med Screen*. 2001; 8: 173-7.

Ansari Z, Rafat S, Jorat MV, Ghanbari-Firoozabadi M, Mirzaei M, Sarebanhassanabadi M. Effect of inpatient cardiac rehabilitation on QT dispersion in patients with acute myocardial infarction. *Acta Med Iran*. 2013; 51(9): 604-10.

Antsevitch C and Shimizu W. Cellular mechanisms underlying the long QT syndrome. *Curr Opin Cardiol*. 2002; 17: 43-51.

Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol*. 1988; 29: 205-229.

Atabay T ve Uzun M. The correlation between the plasma nitric oxide levels and QT/QTc interval in conscious rabbits. *Gen Physiol Biophys*. 2009; 28(1): 16-23.

Aydın M, Canpolat S, Kuloğlu T, Yaşar A, Çolakoğlu N, Keleştimur 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(1-3): 197-203.

- Aziz Q, Thomas AM, Gomes J, Ang R, Sones WR, Li Y, Ng KE, Gee L, Tinker A. The ATP-sensitive potassium channel subunit, Kir6.1, in vascular smooth muscle plays a major role in blood pressure control. *Hypertension*. 2014; 64(3): 523-9.
- Bal R ve Agar E. Sinir hücrelerinin voltaja duyarli potasyum membran kanalları ve fonksiyonları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002; 19(3): 229-234.
- Balijepalli SY, Lim E, Concannon SP, Chew CL, Holzem KE, Tester DJ, Ackerman MJ, Delisle BP, Balijepalli RC, January CT. Mechanism of loss of Kv11.1 K⁺ current in mutant T421M-Kv11.1-expressing rat ventricular myocytes: interaction of trafficking and gating. *Circulation*. 2012; 126(24): 2809-18.
- Bang J, Park YS, Jeong SM, Song JG, Kim YK, Hwang GS. Melatonin does not attenuate dynamic cardiovascular and cerebrovascular reflex responses to acute hypotension in healthy men. *Korean J Anesthesiol*. 2012; 63(3):245-52.
- Bazett HC. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart*. 1920; (7): 353-370.
- Bektaşoğlu G, Yılmaz B, Turgut O, Tandoğan İ. Uzun QT sendromları. *Cumhuriyet Tıp Derg*. 2009; 31: 487-501.
- Beyazit Y, Güven G, İskit A. Uzun QT sendromu. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2005; 36: 43-48.
- Brown GM, Bar-Or A, Grossi D, Kashur S, Johannson E, Yie SM. Urinary 6-sulphatoxymelatonin, an index of pineal function in the rat. *J Pineal Res*. 1991; 10: 141-147.
- Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med*. 1997; 336: 186-95.

- Bubenik GA. Thirty four years since the discovery of gastrointestinal melatonin. *J Physiol Pharmacol.* 2008; 59(Suppl 2); 33- 51.
- Burgess HJ, Sletten T, Savic N, Gilbert SS, Dawson D. Effects of bright light and melatonin on sleep propensity temperature and cardiac activity at night. *J Appl Physiol.* 2001; 91(3): 1214-22.
- Canpolat S, Sandal S, Yilmaz B, Yasar A, Kutlu S, Baydas G, Kelestimur H. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on serum leptin levels in male rat. *Eur J Pharmacol.* 2001; 428(1): 145-8.
- Chen M, Yang M, Han W, An S, Liu Y, Liu Z, Ren W. Individual aortic baroreceptors are sensitive to different ranges of blood pressures. *Sci China Life Sci.* 2014 Apr 16. [Epub ahead of print]
- Cheng MC, Wu TH, Huang LT, Tain YL. Renoprotective Effects of Melatonin in Young Spontaneously Hypertensive Rats with L-NAME. *Pediatr Neonatol.* 2013; 19. pii: S1875-9572(13)00179-4.
- Cheng JH and Kodama I. Two components of delayed rectifier K current in heart: molecular basis, functional diversity, and contribution to repolarization. *Acta Pharmacol Sin.* 2004; 25: 137– 45.
- Cox RH and Rusch NJ. New expression profiles of voltage-gated ion channels in arteries exposed to high blood pressure. *Microcirculation.* 2002; 9(4): 243-57.
- Çam A ve Erdoğan M. Melatonin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.* 2003; 56(2): 103-112.

- Dalby-Brown W, Hansen HH, Korsgaard MPG, Mirza N, Olesen SP. Kv7 channels: functions, pharmacology and channel modulators. *Curr Top Med Chem*. 2006; 6: 999–1023.
- Dampney RAL, Coleman MJ, Fontes MAP, Hirooka Y, Horiuchi J, Polson JW, Potts PD, Tagawa T. Central mechanisms underlying short-term and long-term regulation of the 51 cardiovascular system. *Proceedings of the Australian Physiological and Pharmacological Society*. 2001; 32 (1): 1-11.
- Doggrell SA and Brown L. Rat models of hypertension. cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res*. 1998; 39: 89-105.
- Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Reiter RJ. The potential usefulness of serum melatonin level to predict heart failure in patients with hypertensive cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2014; 174(2): 415-7.
- Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Reiter RJ. Melatonin and cardiovascular disease: Myth or reality? *Rev. Esp. Cardiol*. 2012; 65: 215–218.
- Dvir M, Peretz A, Haitin Y, Attali B. Recent molecular insights from mutated IKs channels in cardiac arrhythmia. *Curr Opin Pharmacol*. 2014; 15C: 74-82.
- Ekmekçioğlu C. Melatonin receptors in humans: Biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother*. 2006; 60: 97-108.
- El-Farhan N, Hampton D, Penney M. Measurement of arginine vasopressin. *Methods Mol Biol*. 2013; 1065: 129-39.
- Erbas O and Yilmaz M. Metoprolol and diltiazem ameliorate ziprasidone-induced prolonged corrected QT interval in rats. *Toxicol Ind Health*. 2013; Apr 26, [Epub ahead of print].

- Erlich SS and Apuzzo ML. The pineal gland: anatomy, physiology and clinical significance. *J Neurosurg.* 1985; 63: 321-341.
- Fridericia LS. The duration of systole in the electrocardiogram of normal subjects and of patients with heart disease. *Acta Medica Scandinavica.* 1920; 53: 469-486.
- Girouard H, Chulak C, Kejossec M, Lamontagne D, Champlain Y. Vasorelaxant effects of the chronic treatment with melatonin on mesenteric artery and aorta of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 2002; 19: 1369-77.
- Gomes P and Soares-da-Silva P. L-DOPA transport properties in an immortalised cell line of rat capillary cerebral endothelial cells, RBE 4. *Brain Res.* 1999; 829:143-150.
- Greenwood I and Ohya S. New tricks for old dogs: KCNQ expression and function in smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2009; 156: 1196–1203.
- Gullo F, Ales E, Rosati B, Lecchi M, Masi A, Guasti L, Cano-Abad MF, Arcangeli A, Lopez MG, Wanke E. ERG K⁺ channel blockade enhances firing and epinephrine secretion in rat chromaffin cells: the missing link to LQT2-related sudden death? *FASEB J.* 2003; 17(2): 330-2.
- Guo J, Durdagi S, Changalov M, Perissinotti LL, Hargreaves JM, Back TG, Noskov SY, Duff HJ. Structure driven design of novel human ether-a-go-go-related-gene channel (hERG1) activators. *PLoS One.* 2014; 9(9): e105553.
- Gutman GA, Chandy KG, Grissmer S, Lazdunski M, McKinnon D, Pardo LA, Robertson GA, Rudy B, Sanguinetti MC, Stuhmer W, Wang X. "International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacol Rev.* 2005; 57 (4): 473–508.

- Guyton AC, Hall JE. 2007. Textbook of Medical Physiology. Tibbi Fizyoloji. 11. Baskı. Çavuşoğlu H, Yeğen Çağlayan B, Nobel Tıp Kitabevi, 2007.
- Hedley PL, Jørgensen P, Schlamowitz S, Wangari R, Moolman-Smook J, Brink PA, Kanters JK, Corfield VA, Christiansen M. The genetic basis of long QT and short QT syndromes: a mutation update. *Hum. Mutat.* 2009; 30 (11): 1486–511.
- Hedegaard ER, Nielsen BD, Kun A, Hughes AD, Krøigaard C, Mogensen S, Matchkov VV, Frøbert O, Simonsen U. KV 7 channels are involved in hypoxia-induced vasodilatation of porcine coronary arteries. *Br J Pharmacol.* 2014; 171(1): 69-82.
- Hille B. Ionic channels of excitable membranes. Anonymous Sunderland: Sinauer Associates Inc., 1992.
- Hoffman RA and Reiter RJ. Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents. *Anat Rec.* 1965; 153: 19-21.
- Holmes SW and Sudgen D. The effect of melatonin on pinealectomy-induced hypertension in the rat. *Br J Pharmacol.* 1976; 56: 360P-361P.
- Howarth FC, Adeghate E, Jacobson M. Heart Rate and QT Interval in Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *Journal of Medical Sciences.* 2009; 2(3): 108-118.
- Hropot M, Grotzsch H, Klaus E, Langer KH, Linz W, Wiemer G, Scholkens BA. Ramipril prevents the detrimental sequels of chronic NO synthase inhibition in rats: hypertension. cardiac hypertrophy and renal insufficiency. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1994; 350 (6): 646-52.

- Hu C, Yan C, Lin J, Liu S, Li Y. Down-regulation of the human ether-a-go-go-related gene in rat cardiac hypertrophy. *Am J Med Sci.* 2011; 341(2): 119-25.
- Huang L, Zhang C, Hou Y, Laudon M, She M, Yang S, Ding L, Wang H, Wang Z, He P, Yin W. Blood pressure reducing effects of piromelatine and melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17(18): 2449-56.
- Huber M, Treszl A, Reibis R, Teichmann C, Zergibel I, Bolbrinker J, Scholze J, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Genetics of melatonin receptor type 2 is associated with left ventricular function in hypertensive patients treated according to guidelines. *Eur J Intern Med.* 2013; 24(7): 650-5.
- Ilhan S, Atessahin D, Atessahin A, Mutlu E, Onat E, Sahna E. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced hypertension: The beneficial effects of melatonin. *Toxicol Ind Health*, 2013. doi: 10.1177/0748233712472521.
- Jentsch TJ. Neuronal KCNQ potassium channels: physiology and role in disease. *Nat Rev Neurosci.* 2000; 1: 21–30.
- Jepps TA, Chadha PS, Davis AJ, Harhun MI, Cockerill GW, Olesen SP, Hansen RS, Greenwood IA. Downregulation of Kv7.4 channel activity in primary and secondary hypertension. *Circulation.* 2011; 124(5): 602-11.
- Jespersen T, Grunnet M, Olesen SP. The KCNQ1 potassium channel: from gene to physiological function. *Physiology (Bethesda).* 2005; 20 (6): 408–16.
- Jo SH, Youm JB, Lee CO, Earm YE, Ho WK. Blockade of the HERG human cardiac K(+) channel by the antidepressant drug amitriptyline. *Br J Pharmacol.* 2000; 129(7): 1474-80.

- Joseph BK, Thakali KM, Moore CL, Rhee SW. Ion channel remodeling in vascular smooth muscle during hypertension: Implications for novel therapeutic approaches. *Pharmacol Res.* 2013; 70(1): 126-38.
- Joshi S, Sedivy V, Hodyc D, Herget J, Gurney AM. KCNQ modulators reveal a key role for KCNQ potassium channels in regulating the tone of rat pulmonary artery smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009; 329: 368–376.
- Kalpouzos G, Rizzuto D, Keller L, Fastbom J, Santoni G, Angleman S, Graff C, Bäckman L, Fratiglioni L. Telomerase Gene (hTERT) and Survival: Results From Two Swedish Cohorts of Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014; pii: glu222.
- Kario K. Are melatonin and its receptor agonist specific antihypertensive modulators of resistant hypertension caused by disrupted circadian rhythm? *J Am Soc Hypertens.* 2011; 5(5): 354-8.
- Karppanen H, Vapaatalo H, Lahovaara S, Paasonen MK. Studies with pinealectomized rats. *Pharmacology.* 1970; 3(2): 76-84.
- Kawashima K, Miwa Y, Fujimoto K, Oohata H, Nishino H, Koike H. Antihypertensive action of melatonin in the spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens A.* 1987; 9(7): 1121-1131.
- Ke QM, Wu J, Tian L, Li W, Du YM. Role of voltage-gated potassium channels in pathogenesis of chronic pulmonary heart disease. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2013; 33(5): 644-9.
- Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers. *J Physiol Pharmacol.* 2006; 57 Suppl 5: 51-66.

- Kumar P and Prabhakar NR, Peripheral chemoreceptors: function and plasticity of the carotid body. *Compr Physiol*. 2012; 2(1): 141-219.
- Kveder S, McIsaac WM. The metabolism of melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) and 5-methoxytryptamine. *J Biol Chem* 1961; 236: 3214.
- Laflamme AK, WU L, Faucart S, Champlain Y. Impaired basal sympathetic tone and alpha1 adrenergic responsiveness in association with the hypotensive effect of melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 1998; 11(2): 219-2.
- Lee YM, Chen HR, Hsiao G, Sheu JR, Wang JJ, Yen MH. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo. *J Pineal Res*. 2002; 33 (72): 80-87.
- Li Y, Um SY, McDonald TV. Voltage-gated potassium channels: regulation by accessory subunits. *Neuroscientist*. 2006; 12 (3): 199–210.
- Livak KJ and Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} Method. *Methods*. 2001; 25(4): 402-408.
- Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Progr Cardiovas Dis*, 1995; 38. 87-104.
- Macchi MM and Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol*. 2004; 25(3-4): 177-195.
- Mackie AR and Byron KL. Cardiovascular KCNQ (Kv7) potassium channels: physiological regulators and new targets for therapeutic intervention. *Mol Pharmacol*. 2008; 74(5): 1171-9.

- Maganhin CC, Simões RS, Fuchs LF, Oliveira-Filho RM, J Simões Mde, Evêncio Neto J, Baracat EC, Soares JM. Rat pinealectomy: a modified direct visual approach. *Acta Cir Bras.* 2009; 24: 321-324.
- Mizrak B, Parlakpınar H, Acet A, Turkoz Y. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on rat hearts. *Acta Histochem.* 2004; 106: 29-36.
- Moncada S and Higs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *New Eng J Med*, 1993; 329: 2002-2012.
- Morecroft I, Murray A, Nilsen M, Gurney AM, MacLean MR. Treatment with the Kv7 potassium channel activator flupirtine is beneficial in two independent mouse models of pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol.* 2009; 157(7): 1241-9.
- Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS, Tzivoni D, Locati EH, MacCluer J, Hall WJ, Weiskamp L, Vincent GM, Garson A Jr. The long QT syndrome. Prospective longitudinal study of 328 families. *Circulation.* 1991; 84: 1136-44.
- Moss AJ, Zareba W, Kaufman ES, Gattman E, Peterson DR, Benhorin J, Towbin JA, Keating MT, Priori SG, Schwartz PJ, Vincent GM, Robinson JL, Andrews ML, Feng C, Hall WJ, Medina A, Zhang L, Wang Z. Increased risk of arrhythmic events in long-QT syndrome with mutations in the pore region of the human ether-a-go-go-related gene potassium channel. *Circulation.* 2002; 105 (7): 794-9.
- Ng FL, Davis AJ, Jepps TA, Harhun MI, Yeung SY, Wan A, Reddy M, Melville D, Nardi A, Khong TK, Greenwood IA. Expression and function of the K⁺ channel KCNQ genes in human arteries. *Br J Pharmacol.* 2011; 162(1): 42-53.

- Oktar S, Ilhan S, Aksulu HE. Clonidine prevents development of hypertension in N (omega)-nitro-L-arginine-treated rats. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2008; 8(2): 104-110.
- Oliveras A, Roura-Ferrer M, Solé L, de la Cruz A, Prieto A, Etxebarria A, Manils J, Morales-Cano D, Condom E, Soler C, Cogolludo A, Valenzuela C, Villarroel A, Comes N, Felipe A. Functional assembly of Kv7.1/Kv7.5 channels with emerging properties on vascular muscle physiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34(7): 1522-30.
- Olufsen M, Tran H, Ottesen J. Modeling cerebral blood flow control during posture change from sitting to standing. *Cardiovascular Engineering.* 2004; 4 (1): 47-58.
- Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin: Genel Özellikleri ve Psikiyatrik Bozukluklardaki Rolü Melatonin: General Features and its Role in Psychiatric Disorders. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry.* 2013; 5(2): 179-203.
- Öztürk L ve Darıyerli N. Melatonin ve Uyku Fizyolojisi, *Türkiye Tıp Dergisi.* 2000; 7(2): 104-109.
- Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, Ndebele K. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Vascular Inflammation and Remodeling. *Int J Inflam.* 2014; 2014: 689360.
- Pardridge WM, Mietus LJ. Transport of albumin-bound melatonin through the blood- brain barrier. *J Neurochem.* 1980; 34: 1761-1766.
- Paredes SD, Forman KA, García C, Vara E, Escames G, Tresguerres JA. Protective actions of melatonin and growth hormone on the aged cardiovascular system. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2014; 18(2): 79-88.

- Paulis L, Pechanova O, Zicha J. The effect of melatonin on left ventricular hypertrophy and fibrosis in L-NAME-induced hypertension. *J Hypertens*, 2009; 27(Suppl. 5): S11–S16.
- Pechanova O, Paulis L, Simko F. Peripheral and central effects of melatonin on blood pressure regulation. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(10): 17920-37.
- Petkova Z, Tchekalarova J, Pechlivanova D, Moyanova S, Kortenska L, Mitreva R, Popov D, Markova P, Lozanov V, Atanasova D, Lazarov N, Stoynev A. Treatment with melatonin after status epilepticus attenuates seizure activity and neuronal damage but does not prevent the disturbance in diurnal rhythms and behavioral alterations in spontaneously hypertensive rats in kainate model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2014; 31: 198-208.
- Pongs O, Leicher T, Berger M, Roeper J, Bähring R, Wray D, Giese KP, Silva AJ, Storm JF. Functional and molecular aspects of voltage-gated K⁺ channel beta subunits. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 868: 344–55.
- Preston RR, Wilson T E. 2013, Lippincott Fizyoloji, 1. Baskı, İsoğlu-Alkaç Ü, Ermutlu MN, Yılmaz B, Nobel Tip Kitabevi, 2013.
- 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: 803-811.
- Raj R, Bhatti JS, Bhadada SK, Ramteke PW. Genetic basis of Dyslipidemia in disease precipitation of Coronary Artery Disease (CAD) and Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). *Diabetes Metab Res Rev*. 2014; doi: 10.1002/dmrr.2630.
- Reardon M and Malik M. QT interval change with age in an overtly healthy older population. *Clin Cardiol*. 1996; 19: 949-52.

- Reiter RJ, Rosales-Corral S, Coto-Montes A, Boga JA, Tan DX, Davis JM, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption: the requisite interplay between the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin. *J Physiol Pharmacol.* 2011; 62: 269-274.
- Reiter RJ and Tan DX. Fuentes-Broto, L. Melatonin: A multitasking molecule. *Prog. Brain Res.* 2010; 181: 127–151.
- Reiter RJ and Korkmaz A. Clinical aspects of melatonin. *SMJ.* 2008; 29: 1537-47.
- Reiter RJ. Melatonin: Clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003; 17: 273–85.
- Reiter RJ. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals. *News Physiol. Sci.* 2000; 15: 246-250.
- Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endoc Rev.* 1991; 12: 151-80.
- Repová-Bednářová K, Aziriová S, Hrenák J, Krajčirovičová K, Adamcová M, Paulis L, Simko F. Effect of captopril and melatonin on fibrotic rebuilding of the aorta in 24 hour light-induced hypertension. *Physiol Res.* 2013; 12: 62 Suppl 1: S135-41.
- Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension.* 1992; 20(3): 298-303.
- Sallinen P, Saarela S, Ilves M, Vakkuri O, Leppäluoto J. The expression of MT1 and MT2 melatonin receptor mRNA in several rat tissues. *Life Sci.* 2005; 76(10): 1123-1134.

- Sander M, Hansen J, Victor RG. The sympathetic system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N^{sup} omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester. *Hypertension*. 1997; 30: 64-70.
- Sanguinetti MC and Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature*. 2006; 440(7083): 463–9.
- Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, Keating MT. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell*. 1995; 81 (2): 299–307.
- Schweigmann U, Biliczki P, Ramirez RJ, Marschall C, Takac I, Brandes RP, Kotzot D, Girmatsion Z, Hohnloser SH, Ehrlich JR. Elevated heart rate triggers action potential alternans and sudden death. translational study of a homozygous KCNH2 mutation. *PLoS One*. 2014; 9(8): e103150.
- Shipston MJ. S-acylation dependent post-translational cross-talk regulates large conductance calcium- and voltage- activated potassium (BK) channels. *Front Physiol*. 2014; 5: 281.
- Simko F, Reiter RJ, Pechanova O, Paulis L. Experimental models of melatonin-deficient hypertension. *Front Biosci*, 2013; 18: 616-625.
- Simko F. Chronobiology of blood pressure: emerging implications of melatonin. *Eur J Clin Invest*. 2012; 42(11): 1252-1254.
- Simko F and Pechanova O. Recent trends in hypertension treatment: Perspectives from animal studies. *J. Hypertens*. 2009; 27: S1–S4
- Simko F and Paulis L. Melatonin as a potential antihypertensive treatment. *J Pineal Res*. 2007; 42(4): 319-322.

- Singh M and Jadhav HR. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discov Today*. 2014; 19(9): 1410-8.
- Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 351(2): 152-66.
- Smith JL, Reloj AR, Nataraj PS, Bartos DC, Schroder EA, Moss AJ, Ohno S, Horie M, Anderson CL, January CT, Delisle BP. Pharmacological correction of long QT-linked mutations in KCNH2 (hERG) increases the trafficking of Kv11.1 channels stored in the transitional endoplasmic reticulum. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013; 305(9): C919-30.
- Soldovieri MV, Miceli F, Tagliatela M. Driving with no brakes: molecular pathophysiology of Kv7 potassium channels. *Physiology (Bethesda)*. 2011; 26(5): 365-76.
- Soliman EZ, Shah AJ, Boerkircher A, Li Y, Rautaharju PM. Inter-relationship between electrocardiographic left ventricular hypertrophy and QT prolongation as predictors of increased risk of mortality in the general population. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2014; 7(3): 400-6.
- Stott JB, Jepps TA, Greenwood IA. K(V)7 potassium channels: a new therapeutic target in smooth muscle disorders. *Drug Discov Today*. 2014; 19(4): 413-24.
- Stratmann HG and Kennedy HL. Torsade de pointes associated with drugs and toxins: recognition and management. *Am Heart J*. 1987; 113:1470-82.
- Su DF and Miao CY. Arterial baroreflex function in conscious rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2002; 23 (8): 673-679.

- Sung DJ, Kim JG, Won KJ, Kim B, Shin HC, Park JY, Bae YM. Blockade of K⁺ and Ca²⁺ channels by azole antifungal agents in neonatal rat ventricular myocytes. *Biol Pharm Bull.* 2012; 35(9): 1469-75.
- Tain YL, Huang LT, Hsu CN, Lee CT. Melatonin therapy prevents programmed hypertension and nitric oxide deficiency in offspring exposed to maternal caloric restriction. *Oxid Med Cell Longev.* 2014; 283180, doi: 10.1155/2014/283180.
- Tengattini S, Reiter RJ, Tan DX, Terron MP, Rodella LF, Rezzani R. Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin. *J Pineal Res.* 2008; 44(1): 16-25.
- Thrasher TN. Baroreceptor and the long-term control of blood pressure. *Experimental Physiology.* 2004; 89 (4): 331 341.
- Topal T, Öter S, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Derg.* 2009; 19(3): 137-143.
- Tugrul I, Oktar S, Deniz E, Yilmaz E, Aksulu HE. NOS inhibition mediated hypertension: High and low doses of L-NNA administration. In Turkish Pharmacological Society, 17th National Congress of Pharmacology, Antalya/TURKEY, 2003.
- Vandenberg JI, Perry MD, Perrin MJ, Mann SA, Ke Y, Hill AP. hERG K(+) channels: structure, function, and clinical significance. *Physiol Rev.* 2012; 92(3): 1393-478.
- Veneroso C, Tuñón MJ, González-Gallego J, Collado PS. Melatonin reduces cardiac inflammatory injury induced by acute exercise. *J Pineal Res.* 2009; 47(2): 184-191.
- Vincent GM, Timothy KW, Leppert M, Keating M. The spectrum of symptoms and QT intervals in carriers of the gene for the long QT syndrome. *N Engl J Med.* 1992; 327: 846-52.

Vollrath I. The Pineal organ. Springer. Berlin, 1981.

Wehrwein EA and Joyner MJ. Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic nervous system. *Handb Clin Neurol.* 2013; 117: 89-102.

Wilde AAM and Bezzina CR. Genetics of cardiac arrhythmias. *Heart.* 2005; 91: 1352–1358.

Williams PL. *Gray's Anatomy.* 38. Ed. 1995; 1888-1891.

Witchel HJ and Hancox JC. Familial and acquired long QT syndrome and the cardiac rapid delayed rectifier potassium current. *Clin Exp Pharmacol P.* 2000; 27: 753-66.

Witte K, Grebmer W, Scalbert E, Delagrangé P, Guardiola-Lemaître B, Lemmer B. Effects of melatonergic agonists on light-suppressed circadian rhythms in rats. *Physiol Behav.* 1998; 65: 219-224.

Xu L and Brooks VL. Sodium intake, angiotensin II receptor blockade and baroreflex function in conscious rat. *Hypertension.* 1997; 29 (2): 450-457.

Yıldırım M. *Temel İnsan Anatomisi.* 1. Baskı. İstanbul. Beta Basım Yayın Dağıtım, 1990: 400-402,

Yildiz M and Akdemir O. Assessment of the effects of physiological release of melatonin on arterial distensibility and blood pressure. *Cardiol Young.* 2009; 19: 198-203.

Zanoboni A, Forni A, Zanoboni-Muciaccia W, Zanussi CI. Effect of pinealectomy on arterial blood pressure and food and water intake in the rat. *J Endocrinol Invest.* 1978; 1: 125-130.

Zanoboni A and Zanoboni-Muciaccia W. Experimental hypertension in pinealectomized rats. *Life Sci.* 1967; 6: 2327-31.

Zhong XZ, Harhun MI, Olesen SP, Ohya S, Moffatt JD, Cole WC, Greenwood IA. Participation of KCNQ (Kv7) potassium channels in myogenic control of cerebral arterial diameter. *J Physiol.* 2010; 588: 3277–3293.

<http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures-M/Melatonin.htm>

<http://www.biolreprod.org/content/81/3/445/F1.large.jpg>

http://en.wikipedia.org/wiki/Pineal_gland

8. EKLER

EK. 1

SPİRALLİ TEZ KONTROL FORMU

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

EK. 2

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİTLİ TEZ YAZIM
KONTROL LİSTESİ

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kapak sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Onay sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Teşekkür sayfası	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Türkçe özet	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İngilizce özet	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekiller dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tablolar dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Yöntem ve Gereç	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Bulgular	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tartışma	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sonuç ve Öneriler	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kaynaklar	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tez planı	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tarih: ... / ... / 20... Öğrencinin Adı Soyadı	Tarih: ... / ... / 20... Danışmanın Adı Soyadı	

EK. 3

ETİK KURUL ONAYI



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

Sayı : B.30.2.ÇAÜ.0.05.06- 050.04-19
Konu : Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı

14/02/2013

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 13.02.2013
TOPLANTI SAYISI : 2013/ 02
DOSYA KAYIT NUMARASI : 2013/ 18
KARAR NUMARASI : 2013/ 02- 13
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Arş. Gör. Dr. Mehmet Akif OVALI
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI : Sprague-Dawley ırkı 42 sıçan

Prof. Dr. Metehan UZUN, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Melatoninin Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Erkek Sıçanlarda KCNQ, KCNH2 Gen Ekspresyonları ile QT Süresi Üzerine Etkileri" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin mevzuatın emirleri doğrultusunda incelenerek, ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Büleç GÜNDÜZ
Başkan

Doç. Dr. Akın PALA
Üye

Doç. Dr. Mustafa SAÇAR
Üye

Doç. Dr. Mustafa DENİZ
Üye

Doç. Dr. Sebahattin ERGÜN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ahmet UZATICI
Üye

Yrd. Doç. Dr. Dilek Ülker ÇAKIR
Üye
(izinli)

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR
Üye

Ecz. Zerrin GÜMÜŞ
Sivil Üye

Şahabettin KALFA
Sivil Üye

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MEHMET AKİF	Soyadı	OVALI
Doğum Yeri	ŞEBİNKARAHİSAR	Doğum Tarihi	11.07.1987
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	21409957962
E-mail	maovali@hotmail.com	Tel	0507 017 5328

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Fatih Üniversitesi	2011

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma görevlisi	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2012-

Yabancı Dil Sınav Notu[#]

KPDS	ÜDS	YDS	IELT S	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	CAE
	77,5						

[#] Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır[#] KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; YDS: Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

A-Uluslararası Yayınları:

1. Evaluation of the effect of cagPAI genes of Helicobacter pylori on AGS epithelial cell morphology and IL-8 secretion. Salih BA, Guner A, Karademir A, Uslu M, Ovali MA , Yazici D, Bolek BK, Arikan S, Antonie Van Leeuwenhoek.105(1):179-89, 2014	2014
2. Does Omegaven have beneficial effects on a rat model of ovarian ischemia/reperfusion? Gungor AN, Turkon H, Albayrak A, Ovali M , Islimye M, Gencer M, Hacivelioglu S, Cevizci S, Cesur I, Cosar E, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 181:240-5, 2014	2014
3. The investigation of airway management capacity of v-gel and cobra-PLA in anaesthetised rabbits. Uzun M, Kiraz HA, Ovalı MA , Sahin H, Erbas M, Toman H, Acta Cir Bras	2015
4. Comparison of the effects of various airway devices on hemodynamic response and QTc interval in rabbits under general anesthesia. Toman H, Erbas M, Sahin H, Kiraz HA, Uzun M, Ovali MA . J Clin Monit Comput. 2015 Jan 31. [Epub ahead of print]	2015

B-Katıldığı Uluslararası ve ulusal konferans ve kongreler:

Moleküler Biyoloji Derneği 2. Uluslararası Moleküler Biyoloji Kongresi, İstanbul, 22-23 Kasım 2013 The cagPAI genes of Helicobacter pylori and their effect on the AGS cancer cell morphology and IL-8 secretion	2013
Helicobacter pylori cagA Geni 3' Uç Bölgesi EPIYA motifleri ve vacA Ara i-Bölgesi ile Farklı Mide Patolojileri Arasındaki İlişkinin Analizi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AnabilimDalı ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü "Uluslararası Katılımlı 3. Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma ile Uygulama Platformu" 27-30 Ağustos 2009, İzmir	2009
8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 04 - 07 Haziran 2014, Ankara Helicobacter pylori'nin cagPAI genleri ve bunların AGS kanser hücre morfolojisi ile IL-8 salınımına olan etkisi	2014
40. Ulusal Fizyoloji Kongresi TFBĐ, 2-6 Eylül Kayseri Erciyes Üniversitesi, Spontan veya kontrollü solutulan anesteziye edilmiş tavşanlarda v-gel ve cobraPLA'nın havayolu sağlamadaki etkinliklerinin araştırılması	2014

TFBD 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 02-06 Eylül 2014, Kayseri	2014
5. Aile Hekimliği Araştırma Günleri, SPSS Eğitim Kursu, 20-23 Mart 2014, Çanakkale	2014
6. Sınır Bilim Günleri, 30 Kasım- 1 Aralık, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2013
Elektrofizyoloji Yama Kenetleme (Patch-Clamp) Kursu (4 saat pratik ve 4 saat teorik), 1 Aralık 2013, Gaziantep	2013
TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 25-29 Eylül 2012, Trabzon	2012
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı "Uluslararası Katılımlı 3. Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma ile Uygulama Platformu" 27-30 Ağustos 2009	2009

C-Sertifikalar:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

SPSS Kursu Katılım Sertifikası

Elektrofizyoloji Yama Kenetleme Patch-Clamp Sertifikası