



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

OREKSİN'İN OLUŞTURDUĞU KARDİYOVASKÜLER ETKİLERDE MERKEZİ SİKLOOKSİJENAZ  
VE LİPOOKSİJENAZ YOLAKLARIN ARACILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Gökçen GÜVENÇ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Bursa - 2016



T. C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

OREKSİN'İN OLUŞTURDUĞU KARDİYOVASKÜLER ETKİLERDE MERKEZİ SİKLOOKSİJENAZ VE  
LİPOOKSİJENAZ YOLAKLARIN ARACILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Gökçen GÜVENÇ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Murat YALÇIN

Bursa - 2016

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Gökçen GÜVENÇ** tarafından hazırlanan **Oreksinin Oluşturduğu Kardiyovasküler Etkilerde Merkezi Siklooksijenaz ve Lipooksijenaz Yolaklarının Aracılığının Araştırılması** konulu Yüksek Lisans tezi 24/12/2015 günü, 11:00-12:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/ayçokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Murat YALÇIN
Üye	Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN
Üye	Prof. Dr. Nurten GALİP

*İmza*  
*M. Özcan*  
*M. Özcan*  
*N. Galip*

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ülgen GÜNAY  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET .....	III
SUMMARY .....	IV
GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
Oreksinlerin Genel Özellikleri.....	4
Oreksinlerin Yapısı.....	4
Oreksinlerin Merkezi Ekspresyonları.....	4
Oreksinerjik Nöron Projeksiyonları .....	6
Oreksinerjik Nöronlar .....	8
Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri .....	10
Beslenme Üzerine Etkisi .....	10
Uyku-Uyanıklık Döngüsü Üzerine Etkisi.....	10
Susama ve Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi.....	11
Nöroendokrin Etkileri .....	11
Nosisepsiyondaki Rolü.....	11
Solunum Üzerine Etkisi.....	12
Merkezi Kardiyovasküler Kontrol ve Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri .....	12
Prostaglandinler ve Lökotrienler .....	18
GEREÇ VE YÖNEM .....	23
Genel .....	23
Genel Hazırlık ve Cerrahi İşlemleri .....	23
Kan Basıncı ve Kalp Atım Sayısı Kaydı.....	24
Mikrodiyaliz Çalışması .....	25
Serebral Yan Ventrikül'e İlaç Verilişi.....	25
Diyalizatlardan Total Prostaglandin Miktarının Belirlenmesi.....	26
Deneysel Protokol .....	27
İlaçlar .....	27
İstatistiki Değerlendirme .....	28
BULGULAR .....	29
Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Etkileri.....	29
Merkezi Olarak Enjekte Edilen Oreksinin Posterior Hipotalamusta Ekstraselüler Total Prostaglandin Konsantrasyonuna Etkisi .....	30
Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Siklooksijenaz Yolağının Aracılığı .....	32

Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Tromboksan A <sub>2</sub> 'nin Aracılığı .....	34
Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Prostaglandin F <sub>2α</sub> 'nin Aracılığı .....	37
Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Prostaglandin E ve Prostaglandin D'nin Aracılığı.....	38
Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Lipooksijenaz Yolağının Aracılığı.....	40
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	42
KAYNAKLAR .....	46
TEŞEKKÜR .....	60
ÖZGEÇMİŞ .....	61



## ÖZET

Bu çalışmada, merkezi yolla uygulanan oreksinin kardiyovasküler etkilerini belirlemek ve oreksinin yaratmış olduğu bu etkilerde merkezi siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX), tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostaglandin (PG) E, D ve F<sub>2α</sub>'nın aracılığını göstermek ve oreksinin posterior hipotalamustan (PH) ekstraselüler PG çıkışlarına etkisini ortaya koymak amaçlandı. Çalışmada 107 adet erkek Sprague Dawley ırkı sıçan kullanıldı. Sevofluran anestezisi (% 2–4 / % 100 O<sub>2</sub>) altında kardiyovasküler parametrelerin takibini yapabilmek amacıyla sol femoral arterlerine heparinli % 0,9 tuzlu su (100 Ü/ml) ile doldurulmuş katater (PE 50) yerleştirildi. Merkezi yolla ilaç enjeksiyonları için ise sıçanların serebral yan ventriküllerine (s.y.v.) 22 G paslanmaz çelik iğneden elde hazırlanmış kılavuz kanül yerleştirildi. Ekstraselüler total PG seviyesini belirlemek amacıyla PH'den mikrodiyaliz çalışması yapıldı. Çalışmada ilk olarak merkezi yolla uygulanan oreksinin, arteriyel kan basıncı ve kalp atım sayısı üzerine etkileri araştırıldı. Oreksin (0,75, 1,5 ve 3 nmol; s.y.v.) doza- ve zamana- bağlı olarak sıçanlarda kan basıncını arttırıcı ve taşikardik yanıtlara neden oldu. Ayrıca oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) uygulaması ile PH'de ekstraselüler total PG seviyesinde artış meydana geldi. Oreksinin yaratmış olduğu bu kardiyovasküler etkilerde merkezi COX, LOX, TXA<sub>2</sub>, PGE, PGD ve PGF<sub>2α</sub>'nın aracılığını göstermek için seçici olmayan COX inhibitörü ibuprofen (250 ve 375 µg; s.y.v.), seçici olmayan LOX inhibitörü nordihydroguaiaretic asit (NDGA) (250 µg; s.y.v.), TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate (250 ve 375 µg; s.y.v.), PGE ve PGD'nin reseptör antagonisti AH6809 (5 µg; s.y.v.) veya PGF<sub>2α</sub> reseptör antagonisti PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (50 µg; s.y.v.) ön tedavisi, oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) tedavisinden 5 dakika önce uygulandı. İbuprofen ve furegrelate doza- ve zamana- bağlı olarak; NDGA, AH6809 ve PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine ise zamana bağlı olarak oreksinin yaratmış olduğu kardiyovasküler etkileri kısmen bloke etti.

Sonuç olarak, bulgular merkezi olarak uygulanan oreksinin sıçanlarda, PH'de ekstraselüler total PG seviyesini arttırarak kan basıncını arttırıcı ve taşikardik bir kardiyovasküler yanıtı neden olduğunu göstermektedir. Oreksinin oluşturduğu bu kardiyovasküler etkilere merkezi COX-TXA<sub>2</sub>-PGE, PGD ve PGF<sub>2α</sub> yolağı ve ayrıca LOX yolağı da kısmen aracılık etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Oreksin, Arteriyel Kan Basıncı, Kalp Atım Sayısı, Mikrodiyaliz, Siklooksijenaz, Lipooksijenaz.

## SUMMARY

### **The Investigation of The Mediation of Central Cyclooxygenase and Lypooxygenase Pathways in Orexin-Induced Cardiovascular Effects**

In this study, after the central administration of orexin, subsequent cardiovascular responses were determined and role of orexin in the mediation of central cyclooxygenase (COX), lypooxygenase (LOX), thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostaglandine (PG) E, D and F<sub>2α</sub> and extracellular release of PG from posterior hypothalamus (PH) was demonstrated. 107 male Sprague Dawley rats were used during the experimental procedure. Under sevoflurane anesthesia (2–4 % / O<sub>2</sub> 100 %), in order to determine the cardiovascular parameters, a catheter (PE 50) filled with heparinized saline 0,9 % (100 U/ml) was inserted into the left femoral artery. For intracerebroventricular (i.c.v.) administration of drugs, a guide cannula (a 22 gauge stainless steel hypodermic tubing) was directed into the lateral ventricle. To determine extracellular total PG level from PH, microdialysis study was performed. First of all, after central administration of orexin, arterial blood pressure and heart rate were determined. Orexin (0.75, 1.5 and 3 nmol; i.c.v.) induced dose- and time- dependent pressor and tachycardiac effects. After central administration of orexin (1.5 nmol; i.c.v.), extracellular total level of PG in PH were increased. In order to determine the mediation of COX, LOX, TXA<sub>2</sub>, PGE, PGD and PGF<sub>2α</sub> in orexin induced cardiovascular effects, a non-selective COX inhibitor ibuprofen (250 and 375 μg; i.c.v.), non-selective LOX inhibitor nordihydroguaiaretic acid (NDGA) (250 μg; i.c.v.), TXA<sub>2</sub> synthase inhibitor furegrelate (250 and 375 μg; i.c.v.), PGE and PGD receptor antagonist AH6809 (5 μg; i.c.v.) or PGF<sub>2α</sub> receptor antagonist PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (50 μg; s.y.v.) were injected as pretreatments 5 min before injection of orexin (1.5 nmol; i.c.v.). Ibuprofen and furegrelate dose- and time- dependently, while NDGA, AH6809 and PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine only time dependently induced partial blockage of orexin evoked cardiovascular responses.

As a result, our findings showed that centrally administered orexin induced an increase in extracellular total PG level in PH and also evoked pressor and tachycardiac cardiovascular responses, and these responses were partially mediated by COX-TXA<sub>2</sub> - PGE, PGD, PGF<sub>2α</sub> as well as LOX pathways.

**Key Words:** Orexin, Arterial Blood Pressure, Heart Rate, Microdialysis, Intracerebroventricular, Cyclooxygenase, Lypooxygenase.

## GİRİŞ

Oreksinler (OA ve OB) prepro-oreksin adı verilen öncül bir prekürsör peptidten köken alan hipotalamik peptidlerdir (1). Oreksinler ve oreksin reseptörleri ilk olarak beyinde ve ardından periferik sinir sistemi (2), gastrointestinal sistem (3), nöroendokrin sistemi (4-7), testisler, böbrekler, kalp ve plasentada da tanımlanmışlardır (2). Merkezi sinir sistemi (MSS) içerisinde oreksinerjik nöronlar besin alımının düzenlenmesi (2, 8), enerji homeostazisi (9), uyku-uyanıklık döngüsü (10, 11), nosisepsiyon (12), hafıza ve ödüllendirmenin kontrolü, reproduktif kontrol, adrenal fonksiyonlar (13), susama ve sıvı dengesi (14), solunumun kontrolü (15) gibi birçok hayati öneme sahip sistemin düzenlenmesinde önemli role sahiptirler. Bununla birlikte oreksinin kardiyovasküler sistem kontrolünde de nörotransmitter ve/veya nöromodülatör olarak etkileri olduğu bilinmektedir (16). Oreksinin merkezi veya periferal yolla uygulanması hem normotansif hayvanlarda (17) hem de hemorajik hipotansif hayvanlarda (18) kan basıncını arttırıcı ve taşikardik bir etki oluşturduğu ve hipotansiyonu geri döndürdüğü rapor edilmiştir. Oreksinin normotansif ve hipotansif koşullarda oluşturduğu bu kardiyovasküler etkilere periferal adrenerjik  $\alpha$ - ve  $\beta$ - adrenoreseptörlerin aracılığının gösterilmesi merkezi olarak uygulanan oreksinin sempatoadrenerjik sistemi aktive ederek kardiyovasküler etkilerini gösterdiğini düşündürmektedir (17, 19). Daha sonra yapılan çalışmalarda merkezi yolla uygulanan oreksinin sempatik sinir aktivitesini arttırdığı (20) ve yine plazma adrenalin ve noradrenalin seviyesinde anlamlı artışlar oluşturduğunun gösterilmesi (19, 21) oreksinin sempatoadrenerjik sistemi aktive ederek kan basıncını arttırıcı ve taşikardik yanıtlar oluşturduğu düşüncesini güçlendirmektedir. Oreksinin bu kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkilerinin oreksin reseptör antagonistleri ile geri döndürülmesi, oreksinin kardiyovasküler etkilerine merkezi oreksinerjik reseptörlerin aracılık ettiğini göstermektedir (22). Oreksinerjik nöronların hem merkezi kolinerjik sistem (19) hem de merkezi histaminerjik sistem (23) ile etkileşim içinde olduğu da bilinmektedir.

Araşidonik asit (AA), hücre membranı fosfolipidlerinin hidrolizi sonucunda serbest hale geçen polidoymamış yağ asitidir. AA ve metabolitleri MSS'de kardiyovasküler sistemi de içine alan organizmadaki birçok sistemin kontrolünde hem fizyolojik hem de farmakolojik olarak görev almaktadırlar (24). Merkezi olarak uygulanan hücre membranından AA'nın serbest bırakılmasını sağlayan enzim olan fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi (FLA<sub>2</sub>) aktive eden melittinin ve AA'nın hem normotansif, hem de hemoraji yapılarak hipotansiyon oluşturulmuş sıçanlarda katekolamin, vazopressin ve renin-anjiyotensin



sistemini aktive ederek kan basıncını arttırdığı gösterilmiştir (25-29). Yine MSS'de bir AA ürünü olan tomboksan A<sub>2</sub>'nin (TXA<sub>2</sub>) ve ayrıca kolinerjik nikotinik reseptörlerin (26) kısmen de olsa melittinin oluşturduğu pressör yanıtı aracılık ettikleri gösterilmiştir. Merkezi olarak uygulamanın yanı sıra melittin intraperitoneal yolla enjekte edildiği zaman da pressör bir yanıt oluşturmakta ve bu yanıtın merkezi ya da periferik siklooksijenaz (COX) inhibitörü olan indometazin ön tedavisi ile tamamen, merkezi kolinerjik nikotinik reseptör blokajı ile kısmen inhibe edilmesi, etkide COX aracılığı ile sentezlenen prostaglandinlerin (PG) ve merkezi nikotinik reseptör aktivasyonunun aracılığını düşündürmektedir (29). Ayrıca merkezi olarak enjekte edilen melittinin kardiyovasküler etkilerinin, hem hipotansif hem de normal kan basıncına sahip hayvanlarda FLA<sub>2</sub> inhibitörü mepakrin, COX inhibitörü indometazin ile tamamen ve TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile kısmen engellenmesi, melittinin FLA<sub>2</sub>'yi aktive ederek AA salınımına neden olduğunu, AA'nın da COX aracılığı ile TXA<sub>2</sub> ve olasılıkla başka PG'lerin sentezini artırarak etkisini gösterdiğini açıklamaktadır (30). Bunu destekleyen başka bir çalışmada, hem normotansif (28, 31) hem de hipotansif koşullarda (29) merkezi olarak uygulanan AA'nın oluşturduğu pressör etkide sentezlenen PG'lerin aracılığı gösterilmiştir. Söz konusu çalışmalarda COX inhibitörü indometazin ile yapılan ön tedavi AA'nın etkisini tamamen engellerken, TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile yapılan ön tedavi AA'nın etkisini kısmen bloke edebilmiştir. Yine başka bir çalışmada hem melittinin hem de AA'nın oluşturduğu pressör yanıtlar, merkezi nikotinik ve merkezi histaminerjik reseptörler tarafından engellendiği bildirilmiştir (32, 33). S.y.v.'ye enjekte edilen TXA<sub>2</sub> de melittin ve AA'nın etkisine benzer şekilde, hem normotansif hem de hipotansif hayvanlarda pressör bir yanıt oluşturmakta ve hipotansiyonu geri döndürmektedir (31, 34-36). TXA<sub>2</sub>'nin belirtilen bu etkilerine, MSS'de, hem kendi reseptörleri (34) hem de kolinerjik nikotinik reseptörler aracılık etmektedir (36, 37). Bu çalışmalar AA yolağının, merkezi kardiyovasküler sistemi kontrol eden merkezlerde, COX yolağını kullanarak bir nöromodülatör olarak çalıştığını ve yine kardiyovasküler düzenlemede çalışan diğer nörotransmitter veya nöromodülatör maddelerin etkilerine de aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmalar göz önüne alındığında hem AA yolağının hem de oreksinin merkezi olarak uygulanmasının benzer kardiyovasküler etkiler oluşturduğu görülmektedir. Bununla birlikte hem oreksin hem de AA ve metabolitlerinin oluşturduğu kardiyovasküler etkilere merkezi kolinerjik ve histaminerjik aktivasyonun aracılık etmesi oreksin ve AA

yolağı arasında kardiyovasküler dzenleme açısından bir etkileşim olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir. Ayrıca oreksinerjik nronların özellikle hipotalamus başta olmak üzere kardiyovasküler sistemin kontrolünde kritik önemi olan beyin bölgelerinde yoğunlaşmış olması ve yine AA ve metabolitlerinin de söz konusu beyin bölgelerinde varlığının gösterilmesi, oreksininin merkezi enjeksiyonlarının oluşturduğu kardiyovasküler yanıtla, merkezi AA yolağının aktivasyonunun aracılık edebileceğini düşündürmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmada, merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler etkilerinde merkezi COX ve LOX yolaklarının aracılığının gösterilmesi amaçlanmıştır.



## GENEL BİLGİLER

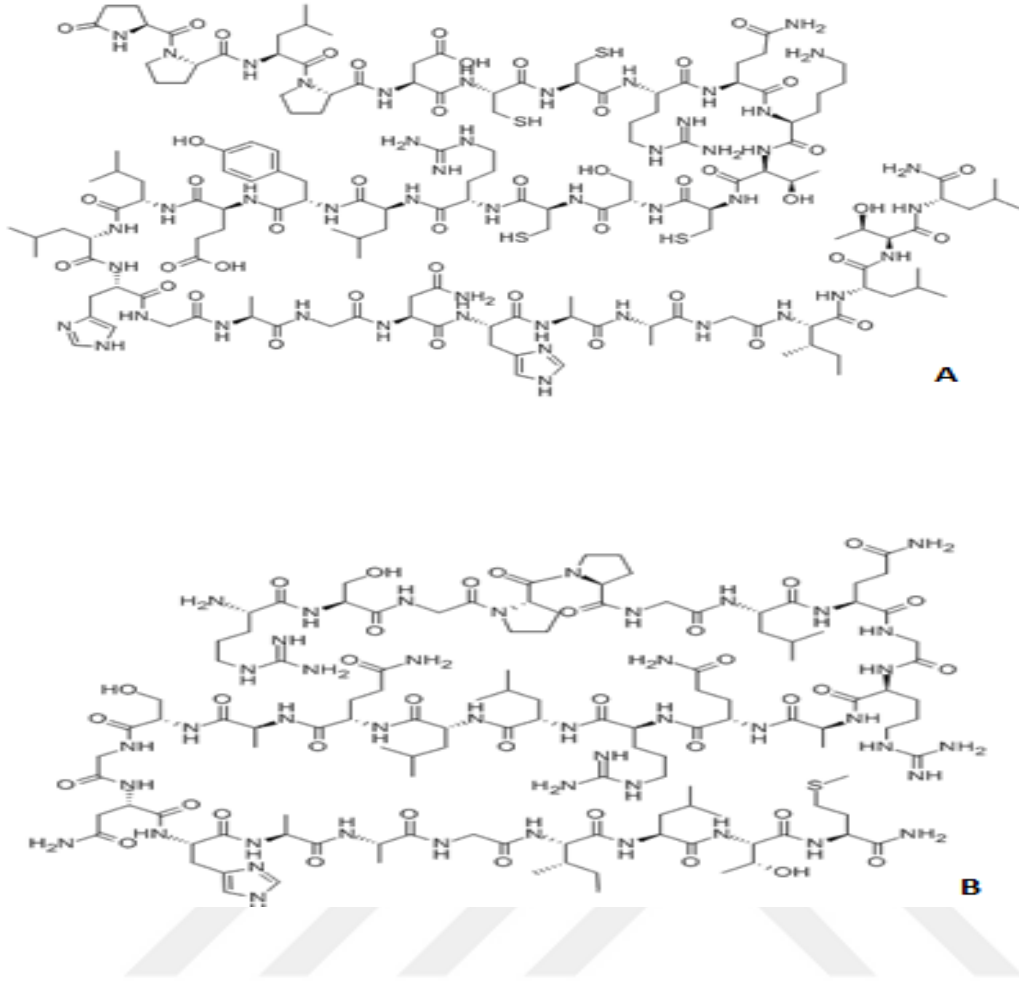
### Oreksinlerin Genel Özellikleri

#### Oreksinlerin Yapısı

Oreksinler, inkretin ailesinden sekretin benzeri peptidlerden oreksin A (OA) [Oreksin 1 (OX<sub>1</sub>)] ve oreksin B (OB) [Oreksin 2 (OX<sub>2</sub>)] (Şekil 1 A, B) olarak 33 ve 28 amino asit içeren hipotalamik peptidlerdir (1). 1998 yılında Lecea ve arkadaşları tarafından nöronal hücre gövdelerinde ve lateral hipotalamik bölgelerde tanımlanırlar ve hipokretin (Hcrt) 1 ve 2 olarak da bilinirler. Prepro-oreksin (pp-OX veya Hcrt geni) adı verilen aynı öncül yapının proteolitik yıkımı ile oluşurlar (38). Her ikisi de 17q21 kromozom bölgesinden kodlanmaktadır ve % 46 oranında homologturlar (8). Oreksinlerin hipotalamusta spesifik mRNA'ları kodlayan prepro-hipokretin adında prekürsör bir proteini tanımlanmış, bu prekürsör proteinin yıkımı sonucu 2 peptid olduğu ve bunlardan 28-66 rezidülü olana hipokretin I (H I) ve 69-77 rezidülü olana ise hipokretin II (H II) adı verilmiştir (38). Daha sonra OA'nın H I, OB'nin ise H II olduğu anlaşılmıştır. Bazı kaynaklara göre H I ve H II'nin oreksin reseptörleri üzerinde oreksinlerden farklı etkide oldukları söylene de, bu peptidlerin kaynağının ve / veya diziliminin aynı olduğu görüşü genel olarak kabul edilmektedir (39).

#### Oreksinlerin Merkezi Ekspresyonları

Prepro-oreksinler çoğunlukla MSS'de, daha az miktarda ise testis, kalp ve adrenal bezler gibi periferik dokularda da tanımlanmışlardır. Merkezi prepro-oreksin mRNA'ları özellikle lateral ve posterior hipotalamusta bulunmaktadır. OA ve OB etkilerini, oreksin reseptör 1 (OX<sub>1</sub>R / HcrtR1) ve oreksin reseptör 2 (OX<sub>2</sub>R / HcrtR2) adları verilen G-protein reseptörleri üzerinden göstermektedirler. OX<sub>1</sub>R'nin yüksek oranda eksprese olduğu diğer beyin bölgeleri ise tenia tekta, indusium griseum, septohipokampal nükleus, stria terminalisin bed nükleusu, paraventriküler talamik nükleus, hipokampus'un CA1 ve CA2 bölgeleri, amigdalohipokampal bölge, dorsal ve median rafe nükleidir (2).



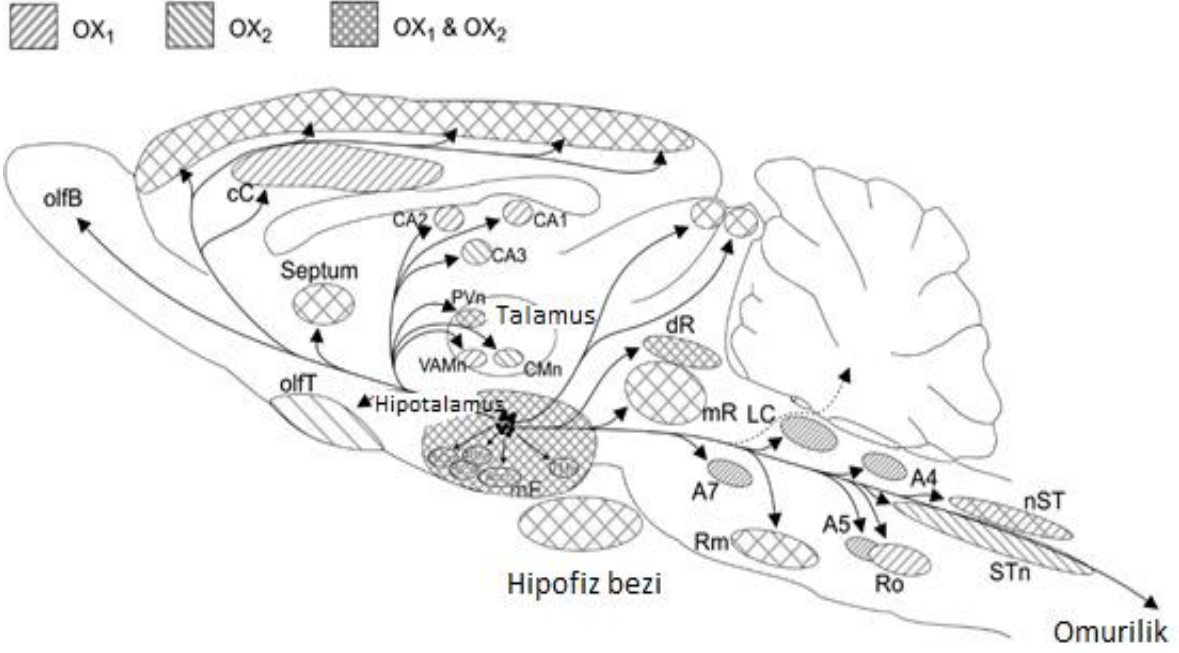
**Şekil-1: A, Oreksin A'nın moleküler yapısı, moleküler formülü ve aminoasit dizilimi.**

Oreksin A ( $C_{152}H_{247}N_{47}O_{44}S_4$ ), (PYR- PRO- LEU- PRO- ASP- CYS- CYS- ARG- GLN- LYS- THR- CYS- SER- CYS- ARG- LEU- TYR- GLU- LEU- LEU- HIS- GLY- ALA- GLY- ASN- HIS- ALA- ALA- GLY- ILE- LEU- THR- LEU-  $NH_2$ ).

**B, Oreksin B'nin moleküler yapısı, moleküler formülü ve aminoasit dizilimi.**

Oreksin B ( $C_{120}H_{206}N_{44}O_{35}S$ ) (ALA11,D-LEU15).

Oreksin sinirleri hipotalamik yapılar dışında, serebral korteks, talamus, sirkumventral organlar, limbik sistem ve özellikle lokus seruleus (LC) ve rafe nükleusta yerleşik durumdadırlar (8). OA en fazla arkuat nükleus (AN), paraventriküler nükleus (PVN) ve dorsamedial hipotalamik nükleusta eksprese edilirken OB hipotalamusta daha az eksprese edilmektedir (40). OA mRNA'sı en yüksek ventromedial hipotalamik nükleusta, OB mRNA'sı ise en yüksek paraventriküler hipotalamik nükleusta bulunur (2) (Tablo 1). Her iki oreksinin de mRNA'sı hipofiz ve bağırsakta tanımlanmıştır (8) (Şekil 2).



**Şekil-2: MSS’de oreksinlerin eksprese olduğu yerler.**

Arcn, arkuat nükleus; hipokampusun CA1–3 bölgeleri; cC, cingulate korteks; CMn, sentromedial nükleus; dR, dorsal rafe nükleus; LC, lokus seruleus; mE, median eminence; mR, median rafe nükleus; nST, nükleus traktus solitarius; olfB, olfactory bulb; olfT, olfactory tubercle; PVn, paraventriküler nükleus (talamus ve hipotalamusta); Rm, nükleus rafe magnus; Ro, nükleus rafe obscurus; SCn, suprakiazmatik nükleus; SON, supraoptik nükleus; STn, spinal trigeminal nükleus; TMn, tuberomamillar nükleus; VAMn, ventral anteromedial nükleus.

### **Oreksinerjik Nöron Projeksiyonları**

Oreksin nöronları geniş bölgede lokalize olmasına karşın oreksin aksonları serebellum hariç MSS boyunca bulunmaktadır (41-43). *In situ* hibridizasyon çalışmaları sonucunda OX<sub>1</sub>R ve OX<sub>2</sub>R mRNA’ları, oreksin inervasyonlarını içerirler ve her ikisi de arka beyin, hipotalamus, beyin kökü ve omurilik gibi önemli bölgelerde bulunurlar (2, 44). Her iki OX reseptörü ve efferent projeksiyonları kardiyovasküler, solunum ve termoregülasyondan sorumlu önemli bölgeler olan PVN, nükleus traktus solitarius (NTS), retrotrapezoid nükleus (RTN), Kölliker-Fuse nükleusu, rostral ventrolateral medulla (RVLM), medullar rafe, lateral paragigantoselüler nükleus, noradrenerjik nöronları içeren LC, parabrahial bölge, area postrema, omurilik ve sempatik preganglionik nöronlarının intermediolateral hücre hattında bulunmuştur (2, 41-44) (Şekil 3). Özellikle beyin kökü ve hipotalamus bölgesindeki monoaminerjik ve kolinerjik nöronlara, histaminerjik nöronlar bulunduran tuberomammillar nükleusa (TMN), serotonerjik nöronlar içeren rafe nükleusa (Raphe), asetilkolinerjik nöronlar bulunduran lateradorsal ve pedunkülopontintegmental nükleusa,

**Tablo-1: Oreksin reseptörleri**

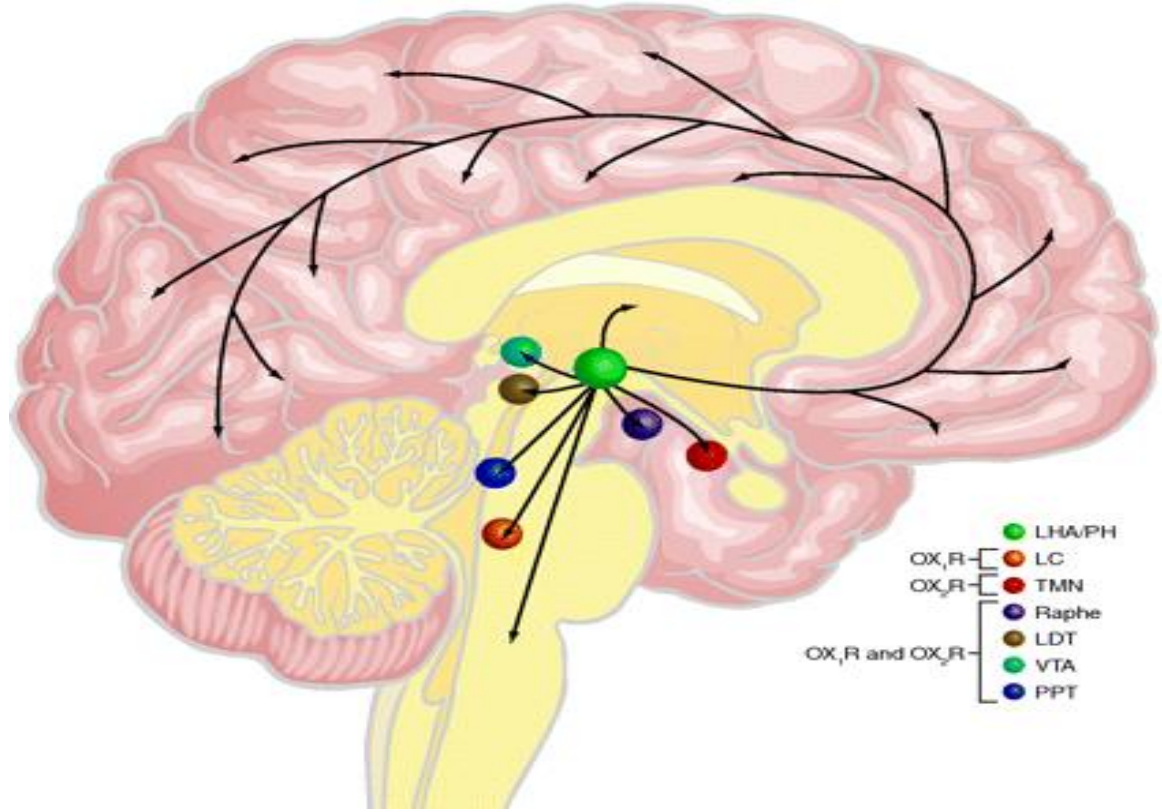
Bölge	OX <sub>1</sub> R	OX <sub>2</sub> R
Cingulate korteks	+	-
Korteks layer VI	-	+++
Olfactory tubercle	+++	++
Tenia tecta	+++	+
Indusium griseum	+++	-
Septohipokampal nükleus	+++	-
Accumbens nükleus kabuğu	-	++
Sria terminalisin bed nükleusu	++	-
Medial septal nükleus	-	+
Diagonal band nükleusun vertical kolu	-	+
Lambdoid septal alan	-	+
Paraventrikular talamik nükleus	++	++
Ventral anteromedial talamik nükleus	++	-
Sentral medial talamik nükleus	-	++
Subtalamik nükleus	+	++
Anterior pretektal nükleus	-	++
Medial preoptik bölge	++	-
Lateroanterior hipotalamik nükleus	++	-
Paraventrikular hipotalamik nükleus	-	+++
Ventromedial hipotalamik nükleus	+++	++
Dorsomedial hipotalamik nükleus	+	+
Lateral mamillar nukleus	+	-
Lateral hipotalamik bölge	-	+
Posterior hipotalamik bölge	+	+
CA1	++	-
CA2	++	-
CA3	-	++
Dentat girus	+	+
Medial amygdaloid nukleus	+	-
Amygdalohipokampal bölge, posteromedial kısım	++	-
Dorsal rafe	+	-
Median rafe	+++	-
Locus coeruleus		

**Tablo-1:** Merkezi sinir sistemi içerisindeki oreksin reseptörlerinin dağılımı (2).

(LDT - PPT) ve dopaminerjik nöronlar bulunduran ventral tegmental nöronları da (VTA) içeren tüm MSS'ye sinir telleri gönderirler (45).

Oreksin sisteminin geniş bir bölgeye yayılması ve spesifik bağlantılarının bulunması, oreksinin sadece uyku-uyanıklık döngüsü ve iştah kontrolünde değil, aynı zamanda

otonomik fonksiyonlar ve kısmen kardiyorespiratuar fonksiyonlarda da önemli rollere sahip olabileceğini ortaya koymaktadır (42).



### Şekil-3: Oreksinerjik nöronların merkezi sinir sisteminde dağılımı ve projeksiyonları.

Oreksinerjik nöronlar lateral hipotalamus (LHA) ve PH'den köken alırlar ve serebellum hariç, özellikle beyin kökü ve hipotalamus bölgesindeki monoaminerjik ve kolinerjik nöronlara, nöradrenarjik nöronlar içeren lokus seruleusa (LC), histaminerjik nöronlar bulunduran tuberomammillar nükleusa (TMN), serotonerjik nöronlar içeren rafe nükleusa (Raphe), asetilkolinerjik nöronlar bulunduran laterodorsal ve pedunkülopontintegmental nükleusa (LDT-PPT) ve dopaminerjik nöronlar bulunduran ventral tegmental nöronları da (VTA) içeren tüm merkezi sinir sisteminde sinir telleri gönderirler.

### Oreksinerjik Nöronlar

MSS'de, oreksin nöronlarının hücre gövdeleri perifornikal bölge, lateral ve dorsal hipotalamik bölgelerde lokalize olmuşlardır (41-43). Oreksin nöronları GABA, serotonin ve katekolamin nöronlarından afferent uyarım alır ve lateral hipotalamik bölge (LHA) nöronları ile etkileşime girerek melanin konsantrasyon artırıcı hormon (MCH) üretimi ve leptin reseptör (LepR) ekspresyonunda rol alırlar (46-51). Oreksince zenginleştirilmiş yeşil floresan protein (EGFP) transgenik farelerden alınan hipotalamik kesitlerde yapılan

çalışmalar, serotoninin (5-HT), 5-HT<sub>1A</sub> reseptörleri üzerinden oreksin nöronlarını hiperpolarize ederek, G-protein çifti aracılığı ile potasyum kanallarının (GIRK) içe doğru açılmasını düzenleyici bir etkisinin bulunduğunu göstermektedir (52). LHA'daki oreksin-immünoreaktif (OX-ir) nöronları, yoğun tirozin hidroksilaz-immünoreaktif (TH-ir) aksonları ile çevrilidir (53), ancak oreksin nöronları içindeki katekolaminlerin rolü ile ilgili çalışmaların sonuçları tutarsızdır. Bayer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada noradrenalinin, oreksin nöronlarını depolarize edip, uyarılmış hale getirdiğini gösterirken (46), Yamanaka ve arkadaşları ise katekolaminlerin, oreksin nöronlarını  $\alpha_2$ -adrenoreseptör aracılığı ile direkt veya indirekt olarak inhibe ederek GIRK kanallarının aktivasyonunu düzenlediğini rapor etmişlerdir (53).

LHA'daki nöronların üç ana tipi olan OX, MCH, LepR ekspresyonları, sıkıca birbirine karışmış ve karmaşık bir interaktif ilişki içerisindedirler. Gelişmekte olan bir hipoteze göre OX - MCH- LepR mikro – devrelerinin hem otonomik fonksiyon hem de enerji dengesini düzenlemede rol oynayabileceği gösterilmiştir (47, 49, 54, 55).

Oreksin nöronları uyanıklık sırasında en aktif durumdadır (56), oreksin reseptör aktivasyonu uyanıklık (57-59), beslenme ve enerji metabolizmasının düzenlenmesine katkıda bulunmakta (60-63), solunumu uyarmakta ve sempatik sinir aktivitesinin (SSA) uyarılmasını sağlayıp kan basıncının arttırılmasını sağlamaktadır (15, 20-22, 64-66). Bunların tersine, MCH nöronları uyku sırasında en aktif durumdadır (56) ve MCH, uyku ve fiziksel inaktivite düzenlenmesine katkıda bulunup (67-70) otonomik sinir sisteminin çalışmasını düzenler. MCH'ın kronik s.y.v. infüzyonu (71) veya NTS'ye yapılan direkt enjeksiyonu, bradikardiye ve kan basıncının düşmesine neden olur (72).

Yapılan çalışmalarda LHA'da LepRb nöronlarının, OX ve MCH nöronları ile ko-eksprese olmadığı, ancak OX nöronları arasında dağılım gösterdiği rapor edilmiştir. LHA'da LepRb ve OX nöronları MCH içeren nöronlar ile çevrilmiş durumda konumlanmışlardır (47, 55). Aynı zamanda LHA'da LepRb nöronları ile OX nöronları arasında önemli bir düzenleyici ilişki olduğunu düşündüren doğrudan sinapslar bulunmaktadır (73).



## **Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri**

### **Beslenme Üzerine Etkisi**

Hipotalamus; bilindiği gibi metabolik, nörohormonal ve davranışsal cevaplarla, uyanıklık durumunun uyumunda ve bu faktörlerin integrasyonunda anahtar rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalara göre ‘ikili merkez modeli’ adı verilen modelde LHA açlık, ventromedial hipotalamus (VMH) ise tokluk merkezidir. Oreksinerjik sinirler LHA’da yoğun olarak bulunmakta, metabolik ve çevresel uyaranlara verilen adaptif davranışsal ve uyanıklık cevaplarını şekillendiren önemli santral yolları yapılandırmaktadır (74). Enerji dengesinin düzenlenmesinde LHA ve VMH dışında, AN, PVN, dorsamedial hipotalamus, area postrema, amigdala, NTS de rol oynamaktadır (9). Bu bölgelerden, karın ve toraks içindeki organlardan gelen sinirlerin ve asendens vagal yolların da oreksinerjik sinir lifleri içerdiği bilinmektedir. Oreksin reseptörleri de enerji dengesinde rol alan hipotalamik bölgelerde, enterik sistem ve midenin endokrin bezlerinde gösterilmiştir (3). Bu da oreksinlerin, beslenmenin düzenlenmesinde hem merkezi hem de periferik mekanizmalara katkıda bulduklarını göstermektedir. Ayrıca prepro-oreksin mRNA’sının ekspresyonu açlık durumlarında ifadesini arttırırken, s.y.v. yoluyla enjekte edilen oreksin sıçanlarda besin alımını arttırmaktadır ve bu etkilerde OA’nın daha etkin rol aldığı gösterilmiştir (2, 8). Sonuçta oreksinlerin besin alımında ve enerji dengesinin düzenlenmesinde etkin şekilde rol aldıkları söylenebilir.

### **Uyku-Uyanıklık Döngüsü Üzerine Etkisi**

Oreksinerjik sinirler beyinde, uyku düzenlenmesinde önemli rolleri olan ön ve arka hipotalamus, talamus ve beyin kökündeki monoaminerjik ve kolinerjik nüleuslarda yoğun olarak bulunmaktadır (10). Oreksin reseptörlerinin de LC, PVN, dorsolateral pons ve dorsal rafe gibi uyku ile ilişkili olan bölgelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (11). Oreksinler, vücut ısısı ile uyku-uyanıklık döngüsünde eş zamanlı değişiklikler oluşturmada rol almaktadırlar (41).

## **Susama ve Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi**

Oreksinerjik sinirler ve bunların reseptörleri, susama ve sıvı kontrolünün düzenlendiği area postrema, subfornikal organ, lateral hipotalamik bölgelerde de bulunmaktadır. OA ve OB yapılan deneylerde sıçanlara s.y.v. olarak enjekte edildiklerinde su alımını arttırdıkları ve aynı zamanda OA'nın susama oluşturulması açısından OB'ye oranla daha fazla, anjiyotensin II'den ise daha az etkin olduğu gösterilmiştir (14).

## **Nöroendokrin Etkileri**

Oreksinler, hipotalamus – hipofiz - adrenal aksın işlevinde rol alırlar. OA ve OB'nin s.y.v. yoluyla uygulanması PVN'de c-Fos mRNA ekspresyonunun artmasını sağlar (13) ve bununla birlikte kanda kortikosteron, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRF) ve vazopressin seviyesinde artış meydana gelir (75, 76). OA'nın POMC sinirleri dahil hipotalamik nöroendokrin hücrelerini uyardığı ve hipotalamustan da CRF salınımını arttırdığı gösterilmiştir (4).

OA hem dopamine bağımlı, hem de dopaminden bağımsız mekanizmalarda prolaktin seviyesini baskılamaktadır (5). OA, hipotalamustan somatostatin salınımını artırarak büyüme hormonunu baskılar ve bu etkinin oreksinin hipofize doğrudan etkisi olduğu düşünülmektedir. Büyüme hormonu, prolaktin ve kortikosteron seviyelerindeki koordineli değişiklikler, oreksinlerin uyku-uyanıklık döngüsünün düzenlenmesinde aldıkları rolle ilişkili olabilir (6). OA, hipotalamustan lüteinize hormon salıcı hormon ve ayrıca vazoaaktif intestinal polipeptid ve nörotensin salınımını da uyarır (7).

## **Nosisepsiyondaki Rolü**

Mobarakeh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, farklı nosiseptif cevaplarda oreksinlerin rolünü ortaya koymuşlardır (12). Oreksinler s.y.v. yoluyla uygulandığında termal, mekanik, kimyasal ve nosisepsiyon uyarımları ile oluşturulan davranışsal cevaplarda, ağrının azaltılmasında etkin rol oynamaktadırlar. OA, OB'den daha fazla etkin olmakla birlikte, bu etkisini adenzin içeren nöronlar ve / veya adenzin yolağı üzerinden göstermektedir. Bu etkisinin dışında OA intravenöz (i.v) yoldan uygulandığında ise aneljezik bir etki göstermektedir (77). Bu sonuçlara göre oreksinler beyin ve omurilik

üzerindeki reseptörleriyle, opioid sistem aracılığı olmadan ağrının giderilmesinde rol almaktadır.

### **Solunum Üzerine Etkisi**

Farelerde oreksinin lateral ventriküle enjeksiyonu ile solunum sıklığı ve tidal volümde doza ve zamana bağlı olarak artışlara neden olduğu, intrasisternal enjeksiyonunda ise solunum sıklığı dışında tidal volümde lateral ventrikül enjeksiyonuna benzer şekilde artışlara neden olduğu gösterilmiştir. Solunum etkilerinin dışında hipoksik ve hiperkapnik kemoreflaks yanıtlarına oreksinin solunum sıklığı ve tidal volüm üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur (15).

### **Merkezi Kardiyovasküler Kontrol ve Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri**

Kardiyovasküler sistemin esas görevi, akciğerler yoluyla alınan oksijenin ( $O_2$ ), glikoz, aminoasit, yağ asitleri gibi besin maddelerinin dokulara taşınması, karbondioksitin ( $CO_2$ ) ve hidrojen iyonlarının dokulardan uzaklaştırılması, dokulardaki diğer iyonların konsantrasyonlarının dengelenmesi, çeşitli hormonların ve spesifik moleküllerin dokular arasında taşınması ve en önemlisi ise vücuttaki hücrelerin optimal işlevlerini yerine getirebilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için tüm doku sıvılarında uygun ortamı sağlamaktır. Tüm doku ve organlara kanın perfüzyonunun yeterli miktarda sağlanabilmesi için kardiyovasküler sistemin önemli elemanlarından olan vasküler sistem içerisinde kan dolaşımı sağlanırken basıncın sabit bir düzeyde tutulması gerekir. Kan basıncı, kanın damar çeperinin herhangi bir birim alanına uyguladığı basınçtır ve periferik arteriyel direnç ve kalp debisi düzeyleri tarafından belirlenir. Bunun sağlanması için kalp atımı, damar elastikiyeti, çevresel direnç ve kanın varlığı gibi temel prensiplerin mevcut olması gerekir (78).

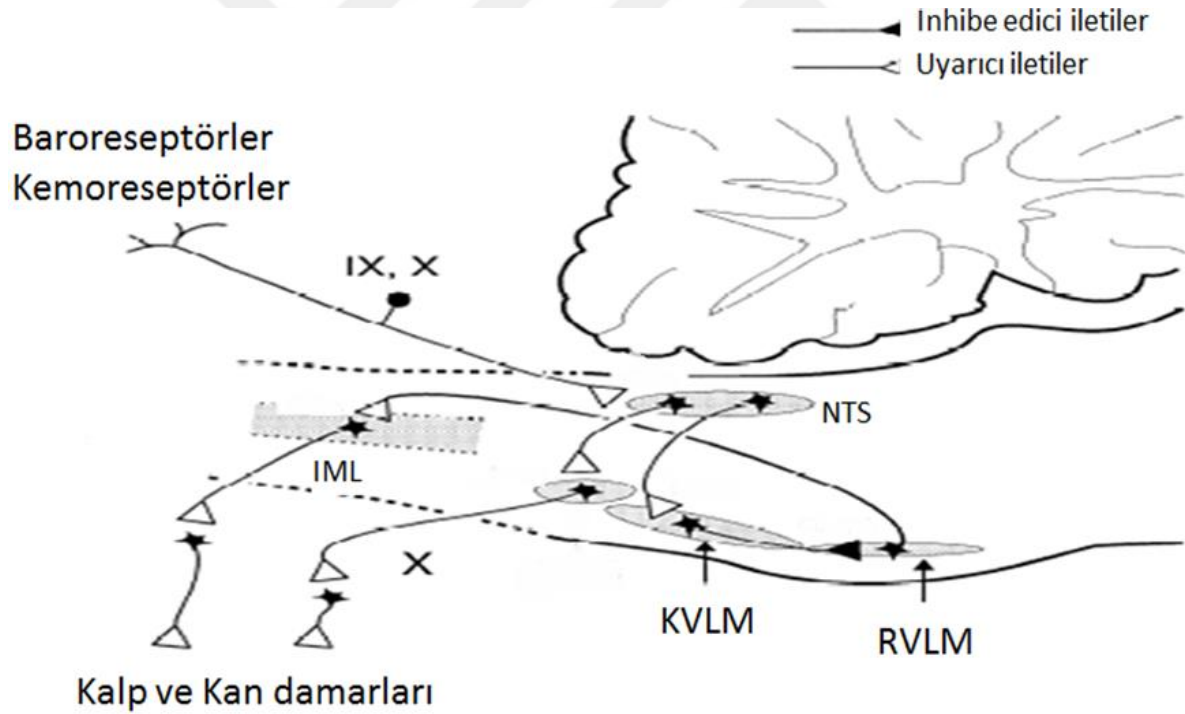
Kan basıncının kontrolü, merkezi ve periferik nöral mekanizmalar, lokal vasküler faktörler, hormonların kısa ve uzun süreli etkileri ve böbrekler aracılığı ile sağlanmaktadır (79). Otonom sinir sistemi [sempatik sinir sistemi (SSS) ve parasempatik sinir sistemi (PSS)] kardiyovasküler sistemdeki efektör organları etkileyerek kan dolaşımının ve kan

basıncı düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Lateral hipotalamus ve beyin sapındaki çoğu nöronal grup da bu düzenlemede kritik görevlere sahiptir (80-82).

Kardiyovasküler düzenleme içerisinde basınca ve kimyasal cevaba duyarlı olan baroreseptör ve kemoreseptörler adı verilen periferik sinyal sistemleri vardır. Baroreseptörler, basınçtaki değişikliğe duyarlı gerilim reseptörleridir ve basınçta meydana gelen artış baroreseptör refleksini başlatıp MSS'ye uyarıların gönderilmesine neden olarak kan basıncının saniyeler ve dakikalar içinde düzenlenmesini sağlar. Yüksek basınç reseptörleri arkus aorta ve sinüs karotikusta, düşük basınç reseptörleri ise atriumlar ve pulmoner dolaşımında bulunur (83, 84). Kemoreseptörler kimyasal duyarlılığı olan hücrelerdir, O<sub>2</sub> yoğunluğuna, CO<sub>2</sub> artışına veya hidrojen iyonlarının artışına çok hassastırlar ve yüksek basınç reseptörleri gibi arkus aorta ve sinüs karotikusta yerleşik durumdadırlar (85). Kemoreseptör refleks de baroreseptör refleks ile hemen hemen aynı çalışmakla birlikte kan basıncının kısa süreli düzenlenmesinde rol alır. Her iki refleks de bu düzenlemeleri yaparken medulla oblangatadaki otonomik çıkıştan sorumlu NTS'nin kontrolünde çalışan merkezi yolların aracılığını kullanırlar (86). Baroreseptör ve kemoreseptörlerden çıkan uyarımlar IX. kafa çifti olan glossofaringeus ve X. kafa çifti olan vagus sinirleri aracılığı ile NTS bölgesine ulaşarak sinaps yaparlar (83). NTS, hem nöropeptid hem de biyojenik aminler açısından en zengin beyin sapı bölgesi olmakla birlikte, sinir gövde ve uçlarında çok sayıda nörotransmitter ve nöromodülatör madde taşımaktadır (87). NTS'deki nöronlar, vagusun dorsal motor çekirdeği ve nükleus ambigustaki preganglionik vagal nöronlara aksonal uzantılar yaparlar, aynı zamanda buradaki nöronlar kaudal ventrolateral medulla'daki (KVLM) GABAerjik nöronları da innerve ederler (83, 88). Aynı zamanda KVLM'deki GABAerjik nöronlar RVLM'ye de uyarımlar göndermektedir. RVLM'nin, medulla spinalisin torasik segmentlerinin intermediolateral hücre kolonlarındaki sempatik pregangliyonik nöronlara aksonal uzantıları vardır. KVLM'ye yapılan L-glutamat gibi nöroeksitatör ajanların enjeksiyonu ile kan basıncının düştüğü ve sempatik sinir aktivitesinin de inhibe edildiği ve bu durumun aksine L-glutamatın RVLM'ye uygulanması sonucu kan basıncı ve sempatik sinir aktivitesinin arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (86). Elde edilen sonuçlara göre KVLM, ventrolateral alanın kaudal depressör alanı, RVLM ise rostral pressör alan olarak adlandırılmaktadır. RVLM pressör alan olarak adlandırılmakla birlikte vazomotor alan ve çoğunlukla presempatik nöronlar olarak da bilinirler (86). RVLM, nükleus intermediolateral spinal kolonunda (IML) preganglionik sempatik nöronlara uyarıcı etki

gönderen başlıca bölgedir. KVLM ise kan basıncının düzenlenmesinde RVLM'ye tonik inhibitör ve uyarıcı ileti sağlar (89) (Şekil 4).

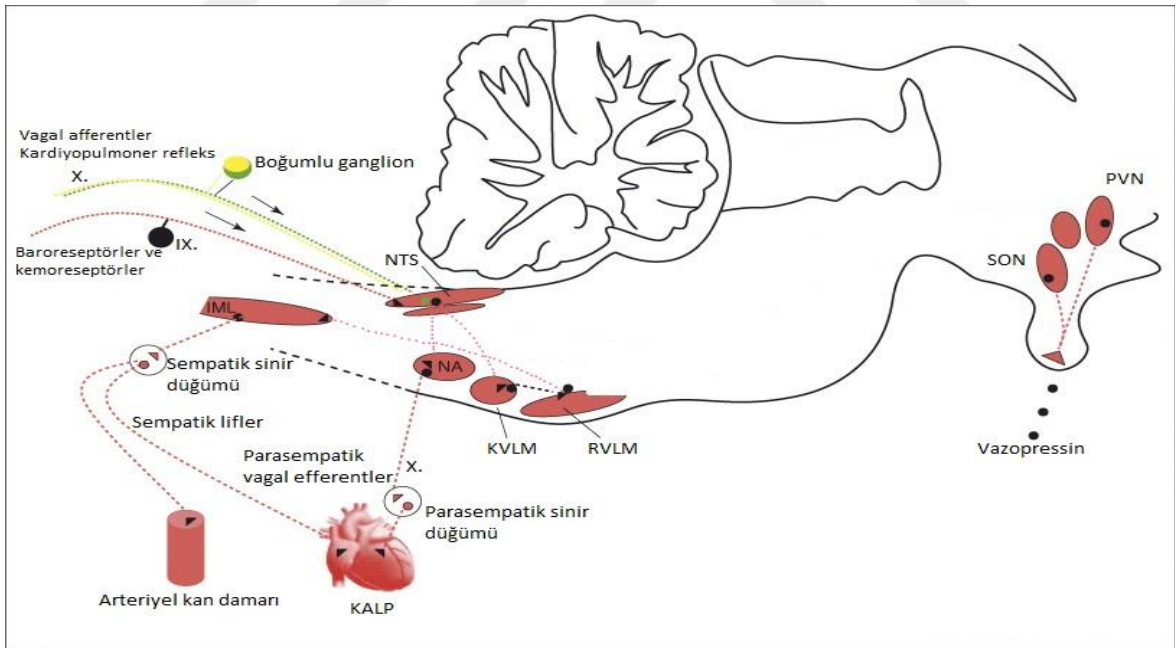
NTS'deki nöronlar RVLM'deki nöronları inhibe eden KVLM'deki inhibitör nöronları aktive ederler (90, 91). Bu depressör ve pressör bölgeler arasında kan basıncının ihtiyaca göre düzenlenebilmesi için NTS ana şalter görevini üstlenmektedir. Ayrıca NTS, IML'ye de sinir lifi göndermektedir (92). IML'ye preempatik nöronlardan gelen efferentler, düz kas damarları ve miyokarta kadar uzanmaktadır (93). NTS, akut strese aracılık eden kardiyovasküler cevaplarda da önemli rol oynar ve bu yönü ile NTS ön beyin bölgeleri ve hipotalamusu da içeren beynin yüksek merkezlerinden gelen uyarımları alır. İlgili reseptörler aracılığı ile NTS'ye ulaştırılan uyarılara karşı oluşan cevaplar, başta hipotalamus olmak üzere beynin önemli bölgelerine iletilerek kardiyovasküler sistemin düzenlenmesi sağlanmış olur (83, 94-96).



**Şekil-4: Kardiyovasküler sistemin merkezi düzenlenmesinde yer alan bölgelerin baroreseptör ve kemoreseptörlerden aldığı uyarımların beyin sapındaki işleyişi.**

IML, spinal kordun intermediolateral hücre kolonu; NTS, nükleus traktus solitarius; RVLM, rostral ventrolateral medulla; KVLM, kaudal ventrolateral medulla.

Diğer promotör nükleus olan ve sempatik sinir aktivitesinde önemli rol oynadığı bilinen merkez ise PVN'dir, anatomik olarak magnosellüler ve parvosellüler nöronlar olarak ikiye ayrılır (97). Magnosellüler nöronlar arka hipofize kadar uzanarak vazopressin ve oksitosinin kan dolaşımına verilmesinden sorumludurlar. Parvosellüler nöronlar ise MSS'de kardiyovasküler düzenlemede önemli otonomik alanlarla birlikte çeşitli beyin bölgelerine sinir lifleri gönderirler. Parvosellüler nöronların uzandığı bölgelerden biri IML'yi doğrudan, RVLM'yi ise dolaylı olarak innerve eder (98, 99). Yapılan çalışmalarda PVN'nin, RVLM'yi ve IML'yi hem doğrudan hem de dolaylı yollardan innerve ettiği de gösterilmiştir (99). Ayrıca kan basıncının kontrolü, merkezi ve periferik nöral mekanizmaların yanında lokal vasküler faktörler, hormonların kısa ve uzun süreli etkileri ve böbrekler aracılığı ile de sağlanmaktadır (78) (Şekil 5). Yapılan in vivo çalışmalarda hipotalamusun perifornikal nükleusunun elektrikselsel veya kimyasal yolla uyarılmasıyla kan basıncı ve kalp atım sayısı artmakta ve lateral paragigantoselüler bölgedeki nöronların aktive olması hipotalamusun perifornikal nükleusunun kardiyovasküler kontrolde rol aldığı göstermektedir (100, 101).



**Şekil-5: Kardiyovasküler sistemin merkezi kontrolü.**

Afferent ve efferent baroreseptör yolları. NTS, nükleus traktus solitarius; KVLM, kaudal ventrolateral medulla; RVLM, rostral ventrolateral medulla; IML, spinal kordun intermediolateral hücre kolonu; PVN, paraventrikular nükleus; SON, supraoptik nükleus; NA, nükleus ambiguus.

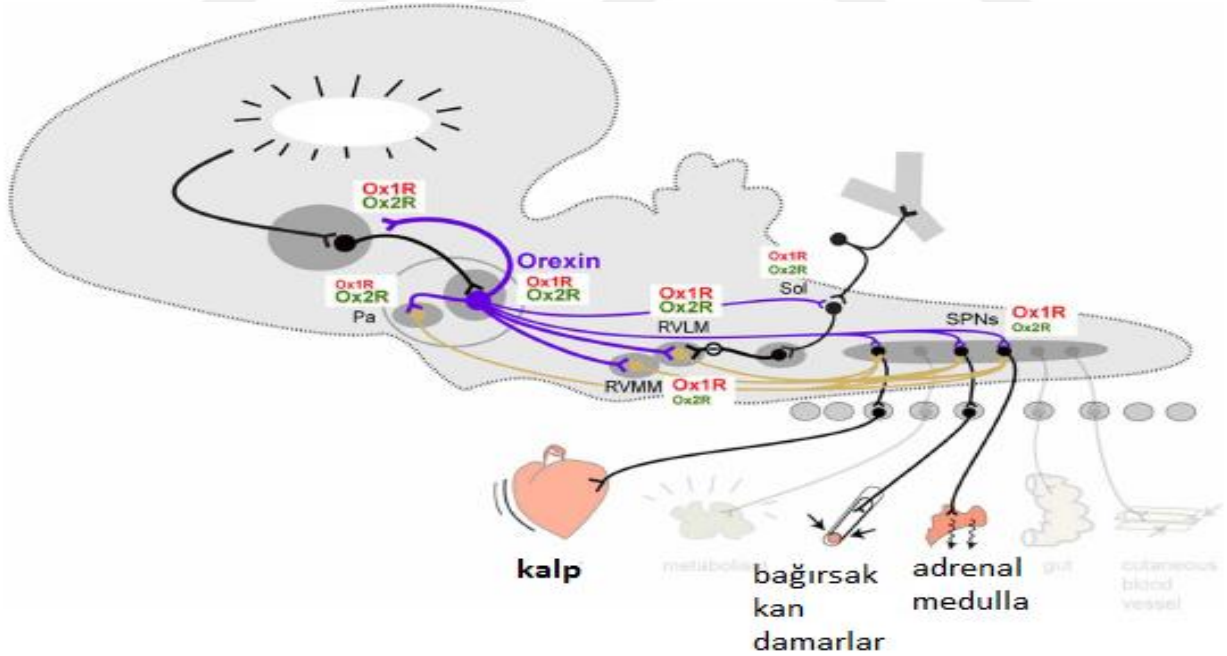
Oreksin ve oreksin reseptörlerinin 1998'de bulunmasından sonra, MSS'den kardiyovasküler ve sempatik fonksiyonların kontrolünde oreksinin etkileri incelenmeye başlanmıştır (16, 17, 21). İn vitro olarak yapılan çalışmalarda doza bağımlı olarak oreksinin, kan basıncı düzenlenmesinde ve SSA düzenlenmesinde rol alan PVN ve RVLM'deki nöronları ve bu bölgelerin yanısıra omurilik pregangliyonik nöronlarını da depolarize ettiği gösterilmiştir (19, 22, 102, 103). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, oreksinin lateral ventriküle enjeksiyonu ile kan basıncı ve kalp atım sayısında doza ve zamana bağlı olarak artışlara neden olduğu, intrasisternal enjeksiyonunda ise kardiyovasküler etkilerin lateral ventrikül enjeksiyonuna benzer artışlar yarattığı ancak intrasisternal enjeksiyonun daha etkili olduğu rapor edilmiştir (15). Oreksinerjik sinir lifleri ve reseptörleri beyin kökünde de yer almaktadır. Sıçan ve tavşanlarda oreksinlerin s.y.v. yoldan uygulanması ortalama arteriyel kan basıncını ve kalp atım sayısını artırır. Kan basıncında yarattıkları bu artışı ise  $\alpha$ - ve  $\beta$ -adrenoreseptörleri üzerinden yaptıkları gösterilmiştir.

Bu şekilde, oreksinler sempatik sinir sistem etkinliğini artırır ve aynı zamanda plazma katekolamin seviyesi de artmış durumdadır (17, 20, 21). İntratekal olarak, RVLM ve NTS'ye yapılan oreksin mikro enjeksiyonları da kan basıncı ve kalp atım sayılarında artışa neden olmaktadır (19, 104, 105). Yine yapılan çalışmalarda i.v. yolla uygulanan pentolinium gibi gangliyon blokörlerinin oreksin kaynaklı kan basıncı ve plazma adrenalini seviyelerinde meydana gelen artışı ortadan kaldırdığı ve bu blokaj da oreksinin s.y.v. enjeksiyonunun birincil etkisi olan artmış SSA ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (21). Oreksinin RVLM'ye yapılan mikro enjeksiyonu da hem uyanık hem de anestezi altındaki sıçanlarda arteriyel kan basıncı ve ortalama kalp atım sayısında önemli artışlara neden olduğu bilinmektedir (65, 104, 105). Anestezi altındaki sıçanlarda artan splanknik SSA ve ventilasyonun (frenik sinir aktivitesi) arttırdığı arteriyel kan basıncı  $OX_1R$  blokajıyla tekrar düşürülebilir (65).

Hemorajik şok oluşturulan sıçanlarda ise s.y.v. uygulama ile verilen oreksinin ortalama kan basıncını ve periferik kan akımını arttırdığı ve bu etkileri periferik adrenoreseptörlerden olan  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir. SSA sağlayarak resüstasyona katkıda bulunan oreksin, hayatta kalma mekanizmalarını periferik vasküler direnç aracılığı ile gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (18).

Normal ve anestezi durumlarının dışında oreksin, panik ve korku gibi akut stres durumlarında da kardiyorespiratuar cevaplara neden olmaktadır (106-110). Örneğin sıçanlarda, RNAi ile hipotalamik pp-OX genini susturma veya oreksin reseptör antagonistleri ile akut panik stres durumunda artmış olan kan basıncı ve kalp atım sayısı cevapları bloke edilebilmiştir (111). Oreksin reseptörlerinin bloke edilmesi ile; hipertansiyon, taşikardi ve renal sempatik uyarılma gibi artmış stres cevapları önemli ölçüde düşürülürken (108); korku kaynaklı pressör, taşikardik ve lokomotor cevaplar azaltılır (107) ve dinlenme durumundaki nefes alış verişini etkilemeden hiperkapniye bağlı respiratuar kemoreflekte azalma sağlanır (112).

Özetle normal hayvanlarda yapılan çalışmalarla merkezi oreksin sisteminin, kan basıncı, kalp atım sayısı ve SSA düzenlenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. MSS'deki veya sadece RVLM'deki oreksin reseptörlerinin aktivasyonu, ekzojen oreksinin SSS aracılığıyla yol açtığı hipertansiyon ve taşikardi OXR antagonistleriye azaltılabilir. Oreksin panik ve korku gibi bazı stres koşullarına karşı gelişen kan basıncı, kalp atım sayısı ve SSS cevaplarında önemli rol oynar (Şekil 6).



**Şekil-6: Kardiyovasküler sistemin kontrolünde sempatik sinir aktivitesinde rol alan oreksinerjik yolların şematik gösterimi.**

Oreksin 1 reseptörleri (OX<sub>1</sub>R) ve oreksin 2 reseptörlerinin (OX<sub>2</sub>R) merkezi sinir sistemi içerisindeki dağılımı. Pa, paraventricüler nükleus; RVLM, rostral ventrolateral medulla; RVMM, rostral ventromedial medulla; Sol, solitary nükleus; SPN, sempatik preganglionik nöronlar.



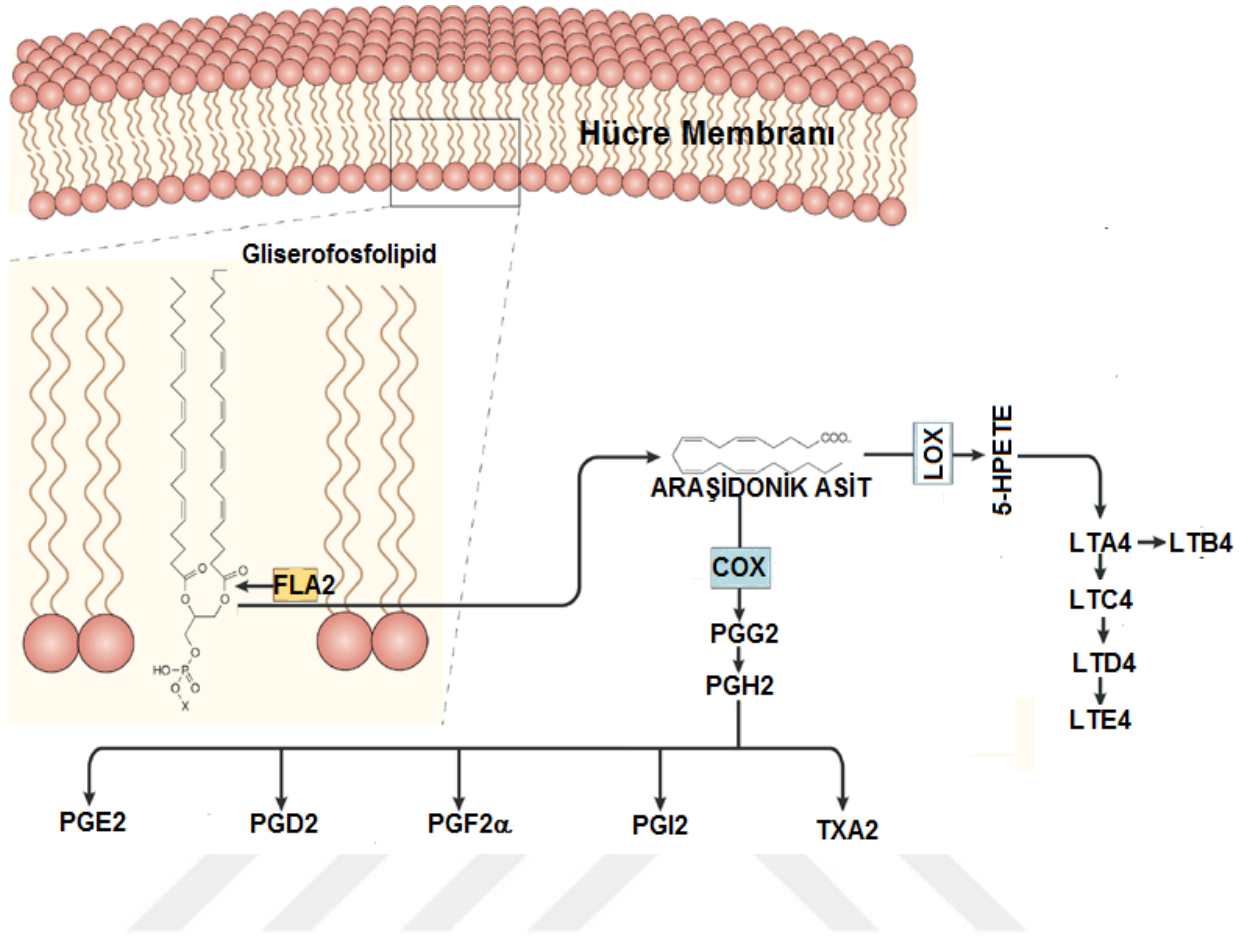
## Prostaglandinler ve Lökotrienler

AA, hücre membranı fosfolipidlerinin hidrolizi sonucunda serbest hale geçen polidoymamış yağ asitidir. FLA<sub>2</sub> membran fosfolipitlerini hidroliz ederek AA'nın salınımını sağlar. AA, COX yolunda PG'ler ve TX'lerin; LOX yolunda ise lökotrienler (LT), hidrosieikozatetraenoik asitler (HETE) ve lipoksinlerin sentezlenmesinde prokürsör endojen bir moleküldür. COX yolunda PG ve TXA<sub>2</sub> sentezi için, zardan serbestleştirilen AA, COX aktivitesi içeren [PGH sentaz (PGHS)] enzimi etkisiyle PG endoperoksit üzerinden PGH<sub>2</sub>'ye dönüştürülür. PGH<sub>2</sub>, başka bir zara bağlı enzime geçer; bu enzim de onu hücre tarafından yapılan PG ürünlerine dönüştürür. Bu ürünler ise; PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub> ve TXA<sub>2</sub>'dir (113). AA'nın LOX yolunda ise 5-LOX enzimi LT'leri meydana getirir. LT'ler 5-HPETE den oluşurlar. 5-HPETE asit lökotrien A<sub>4</sub>'e (LTA<sub>4</sub>) dönüşür. LTA<sub>4</sub>'ten LTB<sub>4</sub> ve LTC<sub>4</sub> oluşturulur. LTC<sub>4</sub>'ten LTD<sub>4</sub> ve en son basamakta ise LTE<sub>4</sub> oluşturulur (114) (şekil 7).

PG'lerin çok sayıda ve değişik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Damar düz kaslarını gevşettiği gibi aynı zamanda vücuttaki diğer düz kasları da kasmaktadırlar. Kardiyovasküler sistem üzerinde geniş etkilere sahip olan PG'lerden PGE'ler güçlü bir vazodilatör etki gösterirken kan basıncını da düşürürler. PGF<sub>2α</sub>'nın kan basıncı üzerinde önemli bir etkisi bulunmamakla birlikte TXA<sub>2</sub>, tüm damar yataklarında güçlü vazokonstriksiyon yaparlar (115, 116).

Üreme sisteminin çeşitli kısımlarında bol miktarda PG'ler oluşmaktadır. Sperma sıvısında bol miktarda bulunan PG'ler ovumun döllenenmesini kolaylaştırırken i.v. yolla uygulanan PGE ve PGF'ler uterusu oksitosik etki yapmaktadırlar. Gebelik esnasında verilmeleri aborsiyona ve gebelik sonunda verilmeleri doğum eyleminin başlamasına neden olur. PGF<sub>2α</sub>'nın üreme sistemi ile ilgili diğer bir endokrin etkisi ise döllene ve nidasyon olmayan durumlarda korpus luteum'un gerilemesine (luteolizise) neden olmaktadır (117, 118).

Tüm sistemlerde olduğu gibi gastrointestinal sistem içerisinde de PG'lerin rolü büyüktür. PGE<sub>1</sub> ve PGE<sub>2</sub>'nin i.v. olarak uygulanmasıyla midedeki asit salgısı azalmaktadır. PGE'ler ve PGI<sub>2</sub>'nin diğer bir etkisi de sitoprotektif (hücre-koruyucu) etkidir. Bu PG'lerin hücre koruyucu etkileri yalnız midede değil diğer doku ve organlarda da (miyokard, pankreas, karaciğer, beyin ve lökositler) karşımıza çıkmaktadır.



Şekil-7: FLA<sub>2</sub> etkisi ile AA'dan PG ve LT'lerin sentezi.

PGE<sub>1</sub> ve PGF<sub>2α</sub>, ince bağırsak mukozasında su ve sodyum absorpsiyonunu inhibe ederek sulu diyare yaparlar (119-121).

Solunum sistemi üzerine etkileri ise; PGE<sub>1</sub> ve PGE<sub>2</sub> bronş düz kaslarını gevşeterek bronkodilatasyon yaparken aksine PGF<sub>2α</sub> ise bronkokonstriksiyon yapar (122).

Kanın şekilli elamanları ve trombonu kontrolünde ise; PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub> ve PGD<sub>2</sub> trombositlerin agregasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ederler. PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> ve TXA<sub>2</sub> ise trombosit agregasyonunu güçlü bir şekilde stimüle ederler. Tromboz oluşumunun kontrol altında tutulmasında PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> oranı önemli rol oynar (123, 124).

Boşaltım sisteminde; böbreklerde glomerüllerde ve diğer damarlarda PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> ve PGF<sub>2α</sub>; interstisyel doku, tubuluslar ve toplayıcı kanallarda ise esas olarak PGE<sub>2</sub> oluşmaktadır. Renal kan akımında PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> ve PGD<sub>2</sub> böbrekte güçlü vazodilatör etki yaparlar. Su reabsorpsiyonunda PGE<sub>2</sub> vazopressin etkisinin antagonize edilmesine bağlı

olarak diüretik etki yapar. PGI<sub>2</sub>, böbrekte renin salınımını arttırırken PGF<sub>2α</sub> ise inhibe eder. PGI<sub>2</sub>, böbrekten eritropoietin salgılanmasını da arttırır. PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> ve PGF<sub>2α</sub> böbrek tubuluslarında Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> reabsorpsiyonunu inhibe ederek vücuttan tuz atılımını arttırırlar (125, 126).

Periferik sinir sisteminde; PGE'ler, PGD<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> sempatik adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eder. PG'ler, nöroefektör kavşaklarda, kolinerjik sinir uçlarından, asetilkolin salıverilmesini ise genellikle arttırırlar (127).

PG'ler diğer dokularda olduğu gibi sempatik sinir sisteminde de bol bulunurlar. Beyinde en fazla bulunan ise PGE<sub>2</sub>'dir (128).

PG'ler doku ve organlarda doğal olarak bulunmasının yanında inflamasyon, dolaşımın lokal homeostazisi, hipertansiyon, tromboz, ateroskleroz, bartter sendromu (hiperreninemik hiperaldosteronizm), diabetes mellitus, dismenore ve kansere bağlı hiperkalsemi gibi birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda da önemli roller üstlenmektedirler (129-131).

LT'ler de PG'lere benzer şekilde birçok doku ve organda önemli işlevlere sahiptirler. LT'lerin LOX'lar tarafından oluşturulması esas olarak trombositlerde ve lökositlerde incelenmiştir. Trombositlerde sadece 12-LOX bulunur ve AA'yı 12-HPETE'ye dönüştürür. 5-LOX ise lökositlerde ve mast hücrelerinde bulunur ve AA'yı 5-HPETE'ye çevirir. Arteriyel endotel hücreleri 15-LOX enzimi içerirler. Bu enzim etkisi ile endotel hücresinde linoleik asidden 13-hidroksioktedekadienoik asid (13-HODE) oluşur. Bu önemli metabolit, endotel yüzeyinde trombosit ve lökositlerin agregasyonunu engeller (114).

5-LOX ürünleri arasında LTA<sub>4</sub> primer LT'dir; diğer beş LT ondan oluşur. LTB<sub>4</sub> güçlü kemotaktik etkinlik gösteren proinflamatuvar maddelerdendir; lökosit ve monosit fonksiyonlarının düzenlenmesi, doğal öldürücü hücrelerinin (NK) stimülasyon, kemotaksi, kemokinezis ve agregasyonunu sağlar. Diğer LT'lerde bu etkinin olamamasının yanısıra adı geçen LOX ürünlerinin PGI<sub>2</sub> sentazı inhibe ettiği bilinmektedir (132).

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub>, alerji durumlarında rol almaktadırlar. LTC<sub>4</sub> ve LTD<sub>4</sub> damar ve damar dıőı düz kasları büzmektedirler. LTD<sub>4</sub> çok güçlü bronkokonstriktör ve kapiller permeabilitesini artırıcı etkinlik gösteren bir bileşiktir (132).

LT'ler gösterdikleri bu etkinliklerini hücre membranında yerleşmiş kendilerine özgül



Yine merkezi sinir sisteminde bir AA ürünü olan TXA<sub>2</sub>'nin ve kolinerjik nikotinic reseptörlerin (26) kısmen de olsa melittinin oluşturduğu pressör yanıtı aracılık ettikleri gösterilmiştir. Ayrıca merkezi olarak uygulamanın yanı sıra, melittin, intraperitoneal enjekte edildiği zaman da pressör bir yanıtı oluşturmaktadır ve bu yanıtın merkezi ya da periferik indometazin ön tedavisi ile tamamen, merkezi kolinerjik nikotinic reseptör blokajı ile kısmen inhibe edilmesi, etkide COX aracılığı ile sentezlenen PG'lerin ve merkezi nikotinic reseptör aktivasyonunun aracılığını göstermektedir (29). Başka bir çalışmada ise merkezi olarak enjekte edilen melittin'in kardiyovasküler etkilerinin, hem hipotansif hem de normal kan basıncına sahip hayvanlarda FLA<sub>2</sub> inhibitörü mepakrin, COX inhibitörü indometazin ile tamamen ve TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile kısmen engellenmesi, melittinin FLA<sub>2</sub>'yi aktive ederek AA salınımına neden olduğunu, AA'nın da COX aracılığı ile TXA<sub>2</sub> ve olasılıkla başka PG'lerin sentezini artırarak etkisini gösterdiğini açıklamaktadır (30). Yine benzer bir çalışmada hem normotansif (28, 31) hem de hipotansif koşullarda (29) merkezi olarak uygulanan AA'nın oluşturduğu pressör etkide sentezlenen PG'lerin aracılığı gösterilmiştir. Bahsi geçen çalışmalarda COX inhibitörü indometazin ile yapılan ön tedavi AA'nın etkisini tamamen engellerken, TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile yapılan ön tedavi yanıtı kısmen bloke edebilmiştir. S.y.v. yolla uygulanan TXA<sub>2</sub> ise melittin ve AA'nın etkisine benzer şekilde, hem normotansif hem de hipotansif hayvanlarda pressör bir yanıtı oluşturmaktadır ve hipotansiyonu geri döndürmektedir (31, 34-36). TXA<sub>2</sub>'nin bu etkilerine, MSS'de, hem kendi reseptörleri (34) hem de kolinerjik nikotinic reseptörler aracılık etmektedir (36, 37). Bu çalışmalar hem FLA<sub>2</sub> hem de AA'nın MSS'deki kardiyovasküler sistemi kontrol eden merkezlerde, COX yoluyla kullanarak bir nöromodülatör olarak çalıştığını ve yine kardiyovasküler düzenlemede çalışan diğer nörotransmitter veya nöromodülatör maddelerin etkilerine de aracılık edebildiğini ortaya koymaktadır.

## GEREÇ VE YÖNEM

### Genel

Çalışmada, Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezinden temin edilen 107 adet yetişkin, erkek Sprague-Dawley sıçan (230-280 gr) kullanıldı. Sıçanlar 3'erli gruplar halinde olacak şekilde kafeslere alındı ve 20-22 °C sıcaklık, % 60-70 nem koşulları sağlanıp, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünde (08.00-20.00 saatleri arası aydınlık) olacak şekilde, *ad libitum* olarak beslendi.

Çalışmada tüm cerrahi ve deneysel işlemler, Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanımı Etik Komitesi tarafından 02.12.2014 tarihinde 2014-16/01 karar no ile onaylandı.

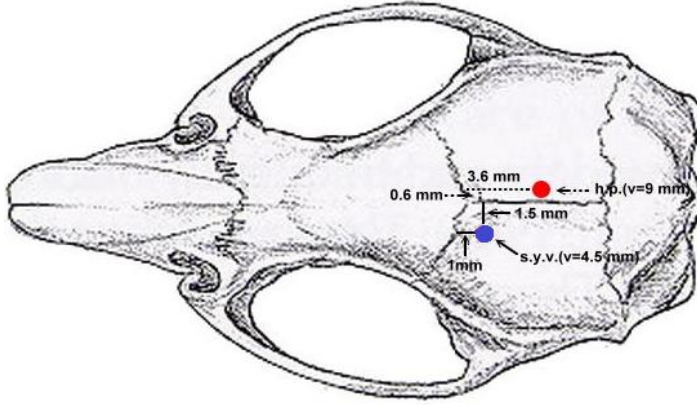
### Genel Hazırlık ve Cerrahi İşlemleri

Sıçanlar, sevofüloran (% 2-4 / % 100 O<sub>2</sub>) ile anestezi altına alındı. Anestezi altında, kardiyovasküler parametrelerin incelenmesi amacıyla tüm sıçanların sol femoral arterlerine heparin içeren tuzlu su (100 Ü/ml) ile doldurulmuş polietilen kateter (PE 50, Clay Adams, BD. Co, NJ, ABD) yerleştirildi. Kateterizasyon işlemini takiben yerleştirilen kateter deri altından ilerletilerek hayvanların ense bölgesinden çıkartıldı. Yapılan cerrahi işlemde sonra, sıçanların kafa tüyleri traşlanıp stereotaksik alete yerleştirildi ve kafatası sabitlenerek kafa derisi orta hattın kesilip kemik net bir şekilde ortaya çıkarıldı. S.y.v. yolla ilaçların verilmesi için Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası'nda (134) belirtilen koordinatlara göre bregmanın 1,0 mm posterioru, orta hattın 1,5 mm lateralinde kafatasına bir delik açılarak, 22 G' lık paslanmaz çelik iğneden hazırlanmış (laboratuvarımızda iğne uçlarından hazırlanan) kafatasından itibaren 4,5 mm vertikale ulaşacak olan kılavuz kanül bu delikten sokularak lateral ventriküle doğru itildi (Şekil 9).

S.y.v.'ye kılavuz kanül yerleştirildikten sonra, PH'de mikrodiyaliz çalışması için 18 kDa'luk zar ve 2 mm diyaliz yüzeyine sahip olan daha önceden hazırlanmış mikrodiyaliz problemleri kullanıldı. Problemler, PH'ye Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası'nda (134) belirtilen koordinatlara göre kafatasında bregmanın 3,6 mm posterioru, orta hattın 0,5 mm

laterali delinerek stereotaksik alet yardımıyla 9,0 mm vertikale ulaşacak şekilde yerleştirildi (Şekil 9). Probların ucuna yerleştirilen 18 kDa'lık diyaliz zarı 2,0 mm uzunluğunda PH boyunca yerleştirildi. Bu şekilde s.y.v. için yerleştirilen kılavuz kanül ve mikrodiyaliz probu dişçi akriliği ile kafatasına tutturuldu. Cerrahi işlemler bittikten sonra hayvanlar ayrı ayrı deney kutularına yerleştirildi ve anestezinin etkisinden çıkmaları için 4-5 saat beklendi. Bu süre laboratuvarımızda yapmış olduğumuz çalışmaların sonucuna göre yeterli gözükmektedir. Daha önceki çalışmalarımıza göre cerrahi işlemlerden 4-5 saat sonra yapılan deneylerde sıçanların ortalama kan basınçları 110-120 mmHg ve kalp atım sayıları ise 280-330 atım/dak olarak ölçüldü ki bu da sıçanlar için fizyolojik sınırlar içerisinde (33, 37, 135).

Tüm cerrahi işlemler ısıtıcı tabla üzerinde gerçekleştirilerek anestezi altındayken sıçanların beden ısıları 37 °C'de sabit tutulmuştur.



**Şekil-9: PH için mikrodiyaliz probunun (kırmızı) ve s.y.v. enjeksiyonu (mavi) için kılavuz kanülün bregmaya göre yerleşim yeri.**

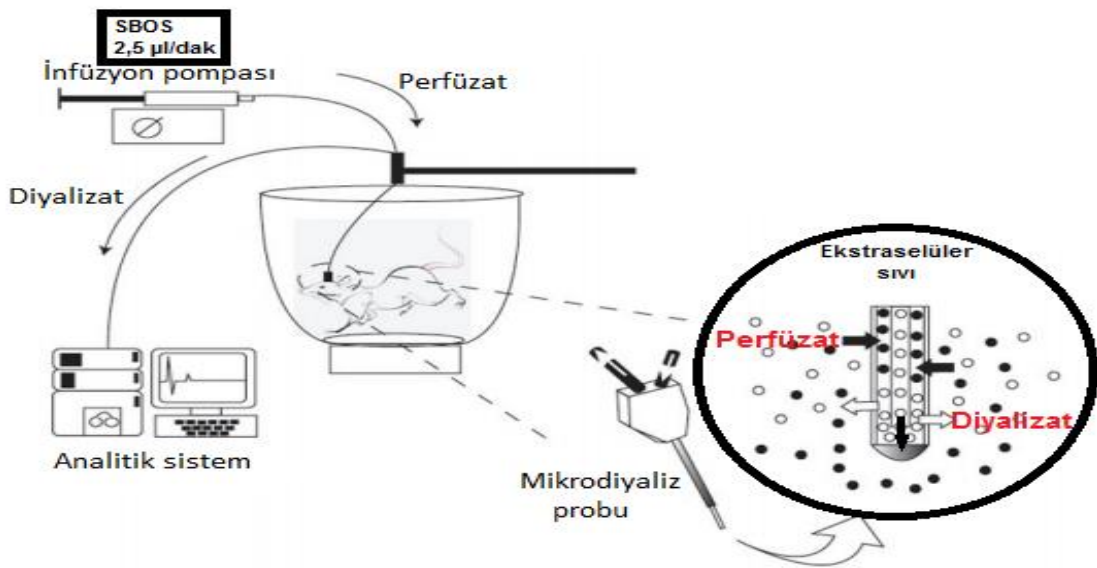
Koordinatlar Paxinos ve Watson Sıçan Stereotaksik koordinatlarını gösteren atlasan alınmıştır (134).

### **Kan Basıncı ve Kalp Atım Sayısı Kaydı**

Cerrahi işlemlerin tamamlanması ve hayvanların anestezisi etkisinden çıkması için beklenen 4-5 saatlik periyottan sonra arteriyel kateter volümetrik pressure transducer'a (BPT 300, BIOPAC Systems Inc., CA, ABD) bağlanarak, kardiyovasküler parametreler devamlı olarak kayıt altına alındı. Hayvanlara enjeksiyonlar yapılmadan önce stabilizasyon amacıyla 30 dakika süreyle beklendi ve sonrasında hayvanlara ilaç uygulamaları yapıldı. Kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları MP 36 sistemi, Acqknowledge programı (BIOPAC Systems Inc., CA, ABD) kullanılarak kaydedildi. Kan basıncı, ortalama kan basıncı olarak (mmHg), kalp atım sayısı ise kan basıncı verilerine göre kullanılan program tarafından hesaplanması yapılarak dakika kalp atım sayısı (atım/dk) olarak değerlendirildi.

## Mikrodiyaliz Çalışması

Tüm cerrahi işlemler tamamlandıktan ve hayvanların anestezi etkisinden çıkması için beklenen 4-5 saatlik periyottan sonra mikrodializ probu, perfüzyon pompasına bağlandı. Perfüzyon sıvısı için suni beyin omurilik sıvısı (120 mM NaCl, 1,3 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1,2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3,5 mM KCl, 25 mM NaHCO<sub>3</sub> ve 10 mM glikoz, pH'sı 7,4) hazırlandı ve perfüzyon pompası dakikada 2,5 µl perfüzyon sıvısı pompalayacak şekilde ayarlandı. Mikrodiyaliz prensibine göre, suni beyin omurilik sıvısı probun uç kısmındaki kapalı bir sistem içerisinde zar kısmından geçerken şekil 10'da görüldüğü gibi difüzyon ile ekstraselüler sıvı ortamında daha bol bulunan maddeler zardan suni beyin omurilik sıvısına geçerler. Bu prensibe göre çalışmada, probun çıkış ucu aracılığı ile ilaç enjeksiyonundan önce ve sonra 20'şer dakika aralıklarla 2,0 mm uzunluğundaki bir PH alanından difüzyon ile diyalizat örnekleri toplandı. Çalışmanın sonunda sıçanların beyinleri çıkartılıp mikrodializin PH'den yapılabildiği doğrulandı (Şekil 11).



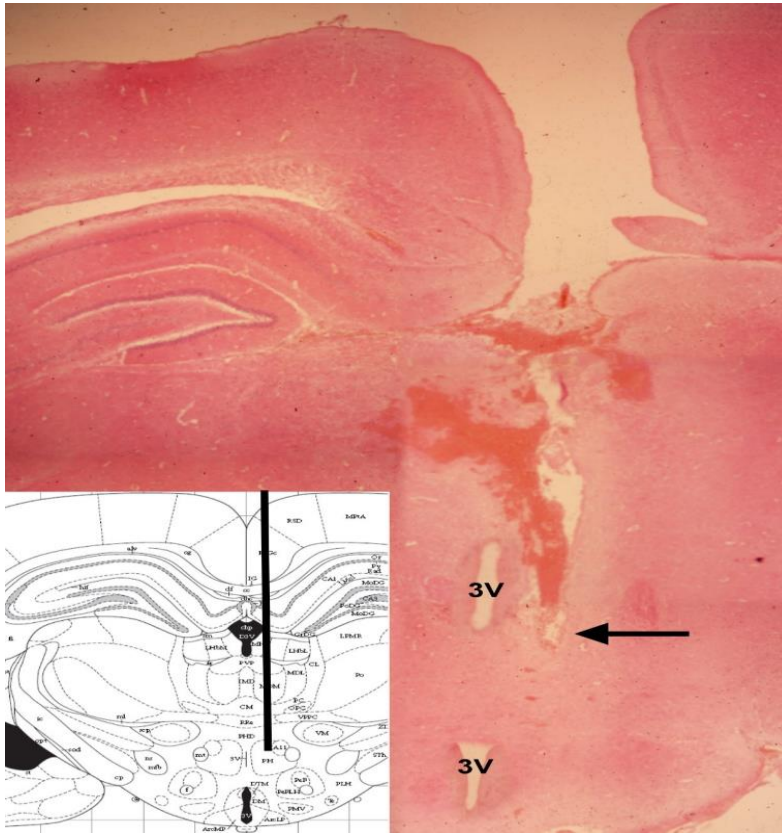
Şekil-10: Mikrodiyaliz düzeneği ve mikrodiyaliz prensibi.

## Serebral Yan Ventrikül'e İlaç Verilişi

S.y.v.'ye ilaç enjeksiyonları, için 28 G paslanmaz çelik iğneden hazırlanan 4,5 mm uzunluğa sahip mikroenjeksiyon kanülünün kılavuz kanül içerisine yerleştirilmesiyle yapıldı. Polietilen kateter (PE 20, Clay Adams, BD. Co, NJ, ABD), mikroenjeksiyon kanülü ile bağlantılı idi. Mikroenjeksiyon kanülü % 0,9 tuzlu su veya % 0,9 tuzlu suda



çözünmüş uygun doz ilaç; % 30 DMSO veya % 30 DMSO içinde çözünmüş uygun doz ilaç ile dolduruldu. İlaç enjeksiyonları toplam 5 µl içinde, 60 saniye boyunca yavaş infüzyon tarzında uygulandı. Kullanılan ilaçların tam verimli bir şekilde istenilen hacimde infüze edilmesini doğrulamak amacıyla mikroenjeksiyon kanülüne bağlı kateter verilmek istenen ilaç ile doldurulurken içinde ufak bir hava kabarcığı bırakıldı ve enjeksiyon sırasında bu hava kabarcığının hareketi takip edilerek istenilen hacimdeki sıvının veriliş verilişmediği kontrol edildi.



**Şekil-11: Mikrodiyaliz probunun PH'de yerleşiminin doğrulanması.**

Okunucu probun girdiği PH bölgesini göstermektedir. 3V: 3. Ventrikül. Sol alt şekil Paxinos ve Watson Sıçan Stereotaksik koordinatlarını gösteren atlasın PH'nin konumunu göstermektedir (134).

**Diyalizatlardan Total Prostaglandin Miktarının Belirlenmesi**

Çalışmadaki mikrodiyalizat örneklerinden total PG ölçümü ticari olarak bulunan total PG kiti (Prostaglandin Screening Enzyme Immunoassay Kit, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD) kullanılarak ELISA yöntemi ölçüldü. Ölçümler kit prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi. Mikrodiyaliz problemlerinin ne oranda diyalizati

gerçekleştireceğini (recovery) öğrenmek için 3 mikrodializ probu en yüksek kit standardına daldırılarak aynen mikrodializde yapıldığı gibi örnekler toplandı ve bu örneklerden ölçüm yapılarak problemlerin geri kazanımları yüzdesel olarak değerlendirildi.

### **Deneysel Protokol**

Çalışmada ilk olarak normotansif hayvanlarda merkezi yolla uygulanan oreksinin kardiyovasküler etkilerini doza ve zamana bağlı olarak göstermek amaçlandı. Bu amaçla oreksin (0,75, 1,5, 3 nmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) hayvanlara s.y.v. yol ile uygulandı ve bir saat süre ile hayvanların kan basıncı ve kalp atım sayısı takibi yapıldı.

İkinci deney setinde merkezi yolla enjekte edilen oreksinin PH'den total PG çıkışına etkisi araştırıldı. Bu amaçla oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) tedavisinden öncesi (bazal değer olarak) ve sonrasında bir saat süreyle PH'den mikrodializ çalışması gerçekleştirildi ve total PG seviyesini ölçmek için diyalizat örnekleri toplandı.

Son deney setinde ise merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler etkilerinde merkezi COX, LOX ve merkezi kardiyovasküler etkinliği bilinen PG'lerin (TXA<sub>2</sub>, PGE ve PGD, PGF<sub>2α</sub>) aracılığı belirlendi. Bu amaçla oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) tedavisinden 5 dakika önce seçici olmayan COX inhibitörü olan ibuprofen (250 ve 375 µg; s.y.v.), seçici olmayan LOX inhibitörü NDGA (250 µg; s.y.v.), TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü olan furegrelate (250 ve 375 µg; s.y.v.), PGE'nin (EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>) ve PGD'nin (DP<sub>1</sub>) reseptör antagonisti olan AH6809 (5 µg; s.y.v.) veya PGF<sub>2α</sub> reseptör FP antagonisti olan PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (50 µg; s.y.v.) ve kontrol amaçlı % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) veya % 30 DMSO (5 µl; s.y.v.) ön tedavisi ayrı ayrı uygulandı ve yine bir saat süre ile hayvanların kardiyovasküler parametreleri kaydedildi.

### **İlaçlar**

Çalışmada kullanılan oreksin ve ibuprofen (Sigma-Aldrich Co. Deisenhofen, Almanya), furegrelate, NDGA ve AH6809, PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD) ticari olarak satın alındı. Kullanılan ilaçlardan oreksin, ibuprofen, furegrelate ve PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine % 0,9 tuzlu su içerisinde; NDGA ve AH6809 % 30 DMSO içerisinde deneyin yapılacağı gün taze olarak hazırlandı. Bu nedenle kontrol amaçlı olarak deneylerde % 0,9 tuzlu su ve % 30 DMSO kullanıldı.

## İstatistiki Değerlendirme

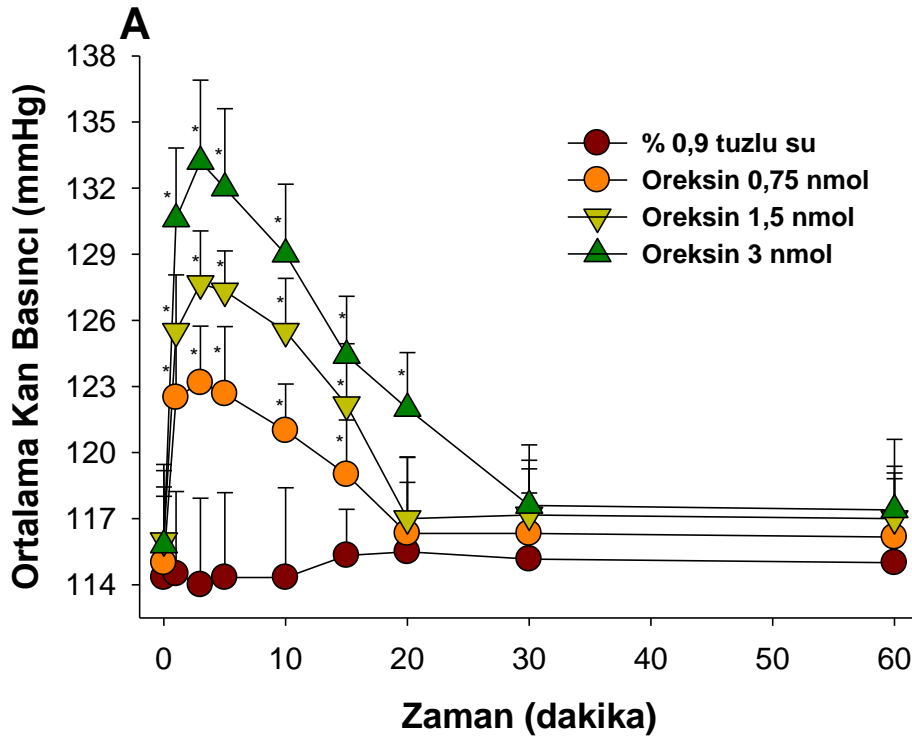
Çalışmadaki tüm sonuçlar 5-7 sıçanın “ortalama  $\pm$  standart hatası” olarak verildi ya da gösterildi. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA’yı takiben *Benferroni* ile yapıldı. p’nin 0,05 den küçük olduğu değerler istatistiki olarak anlamlı sayıldı.

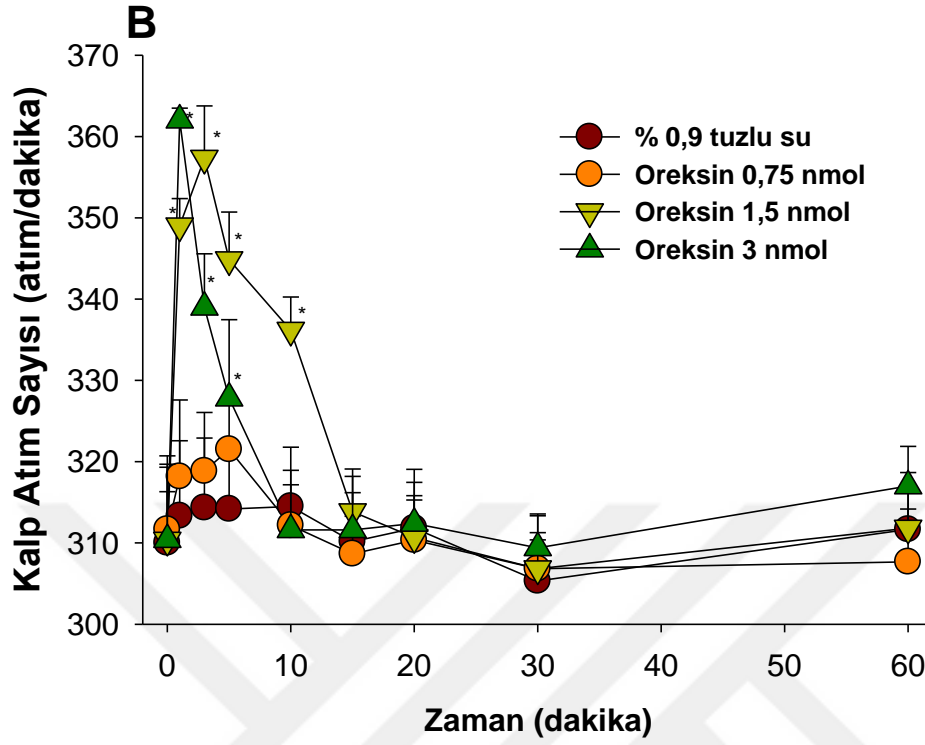


## BULGULAR

### Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Etkileri

Normotansif sıçanlara merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler parametreler üzerine etkisini göstermek için değişik dozlarda oreksin (0,75, 1,5, 3 nmol/5 $\mu$ l; s.y.v.) veya kontrol amaçlı % 0,9 tuzlu su (5 $\mu$ l; s.y.v.) hayvanlara enjekte edildi. İlaç veya tuzlu su enjekte edilmeden önce kardiyovasküler parametrelerin kaydı alındı. Oreksin ortalama kan basıncında (Şekil 12 A) istatistiksel olarak anlamlı doza ve zamana bağlı bir artışa neden oldu ( $p<0,05$ ). Oreksinin bu pressör etkisi ilk dakika içinde başladı ve doza bağlı olarak 5. dakikada en yüksek noktaya ulaştı (Şekil 12 A). Etki doza bağlı olarak yaklaşık 20-30 dakika süreyle devam etti (Şekil 12 A). Oreksin aynı zamanda kalp atım sayısında da (Şekil 12 B) istatistiksel olarak anlamlı doza ve zamana bağlı bir artışa neden oldu ( $p<0,05$ ). Oreksinin bu taşikardik etkisi ilk dakika içinde başladı ve doza bağlı olarak 5. dakikada en yüksek noktaya ulaştı (Şekil 12 B). Oreksinin taşikardik etkisi tüm dozlarda yaklaşık 10-15 dakika süreyle devam etti (Şekil 12 B).





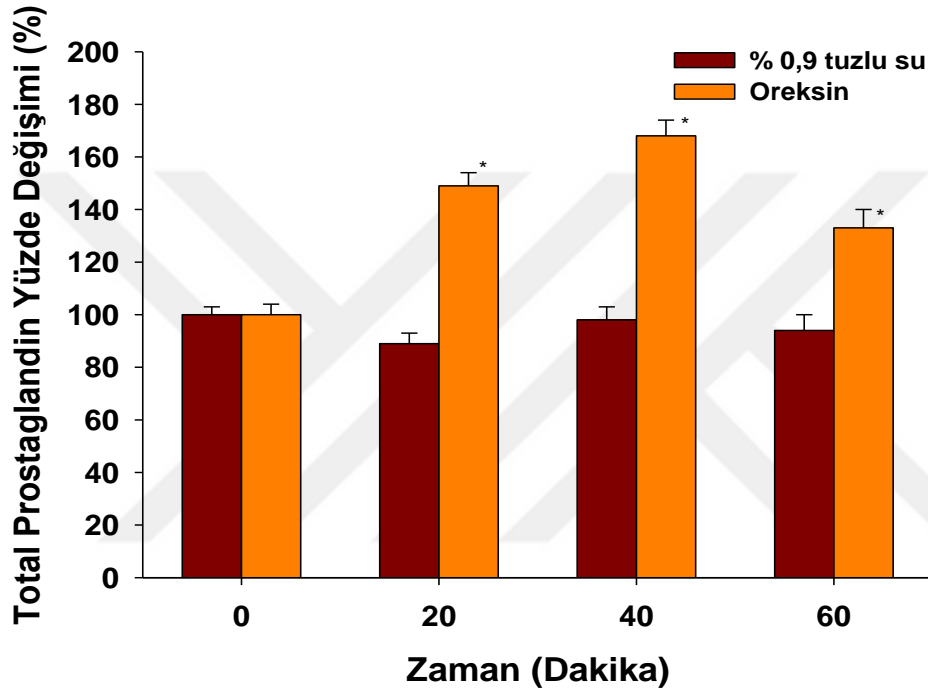
**Şekil-12: Merkezi olarak enjekte edilen oreksinin kardiyovasküler parametrelere etkisi: Doz - zaman ilişkisi.**

Stabilizasyon periyodunun sonunda sıçanların kontrol ortalama kan basıncı (A) ve kalp atım sayısı (B) değerleri alındıktan sonra 0,75, 1,5 ve 3 nmol dozlarında oreksinin veya 5 µl % 0,9 tuzlu su sıçanlara s.y.v. olarak uygulandı ve kardiyovasküler parametreler devam eden 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*,  $p < 0,05$ , % 0,9 tuzlu su grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

### **Merkezi Olarak Enjekte Edilen Oreksinin Posterior Hipotalamusta Ekstraselüler Total Prostaglandin Konsantrasyonuna Etkisi**

Mikrodiyaliz çalışması ile kardiyovasküler düzenleme için önemli olan, oreksinerjik ve prostaglandinerjik nöronların yoğun olarak bulunduğu PH bölgesinde, merkezi olarak uygulanan oreksinin ekstraselüler total PG konsantrasyonu üzerine etkisi araştırıldı. Mikrodiyaliz yöntemi ile PH'den toplanan diyalizatlardan Prostaglandin Screening Enzyme Immunoassay Kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD) kullanılarak ELISA yöntemi ile ekstraselüler total PG konsantrasyonu ölçüldü. Sıçanların

posterior hipotalamik bazal PG seviyesi mikrodiyaiz problemlerinin % 80'lik geri kazanım oranları da göz önüne alınarak  $477,6 \pm 43,7$  pg olarak ölçüldü. Oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) enjeksiyonu PH'de ekstraselüler total PG konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden oldu ( $p<0,05$ ) (Şekil 13). Merkezi olarak oreksin enjeksiyonundan 20 dakika sonra % 49, 40 dakika sonra % 68 ve 60 dakika sonra % 33 oranında PH ekstraselüler sıvı total PG seviyesinde artış görüldü (Şekil 13).

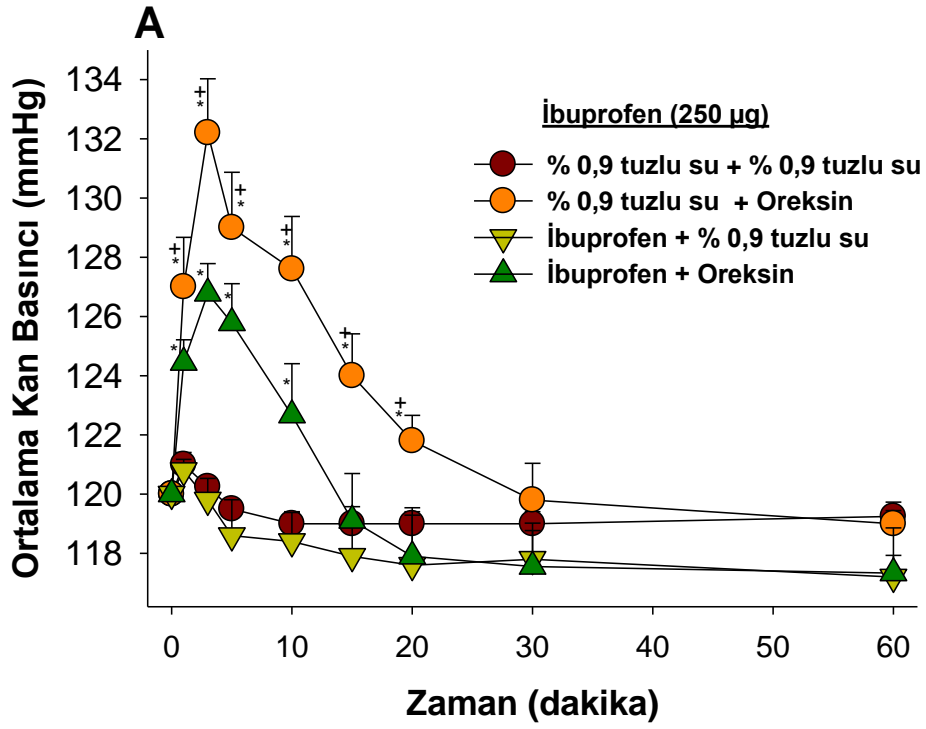


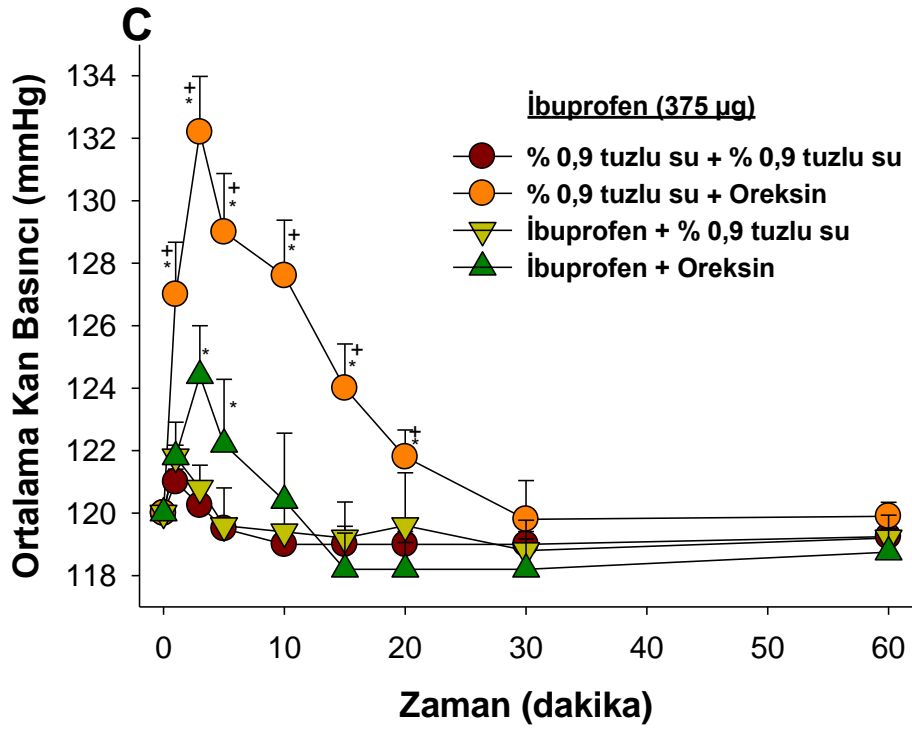
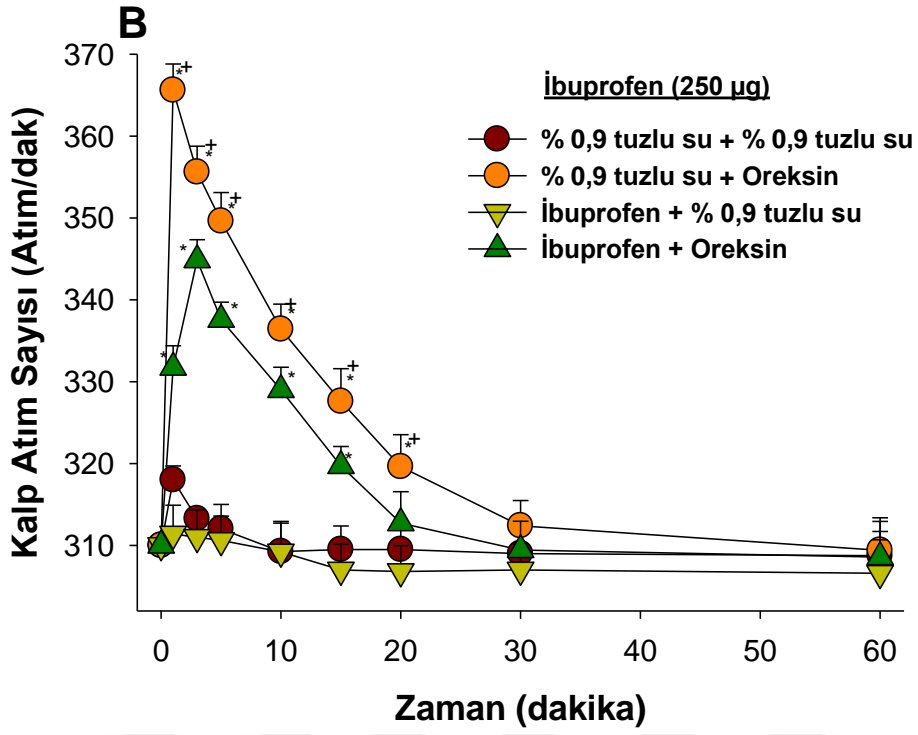
**Şekil-13: Merkezi olarak enjekte edilen oreksinin ekstraselüler total PG konsantrasyonuna etkisi.**

Sıçanlara oreksin (1,5 nmol) veya % 0,9 (5 µl) tuzlu su enjeksiyonu s.y.v. yol ile yapıldı. Enjeksiyondan önce ve sonra 20'şer dakika aralıklarla diyalizat örnekleri toplam 50 µl olacak şekilde toplandı. Toplanan örneklerden total PG konsantrasyonu Prostaglandin Screening Enzyme Immunoassay Kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD) kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü. Değerler 7 sıçanın ortalama  $\pm$  standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*,  $p<0,05$ , % 0,9 tuzlu su grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

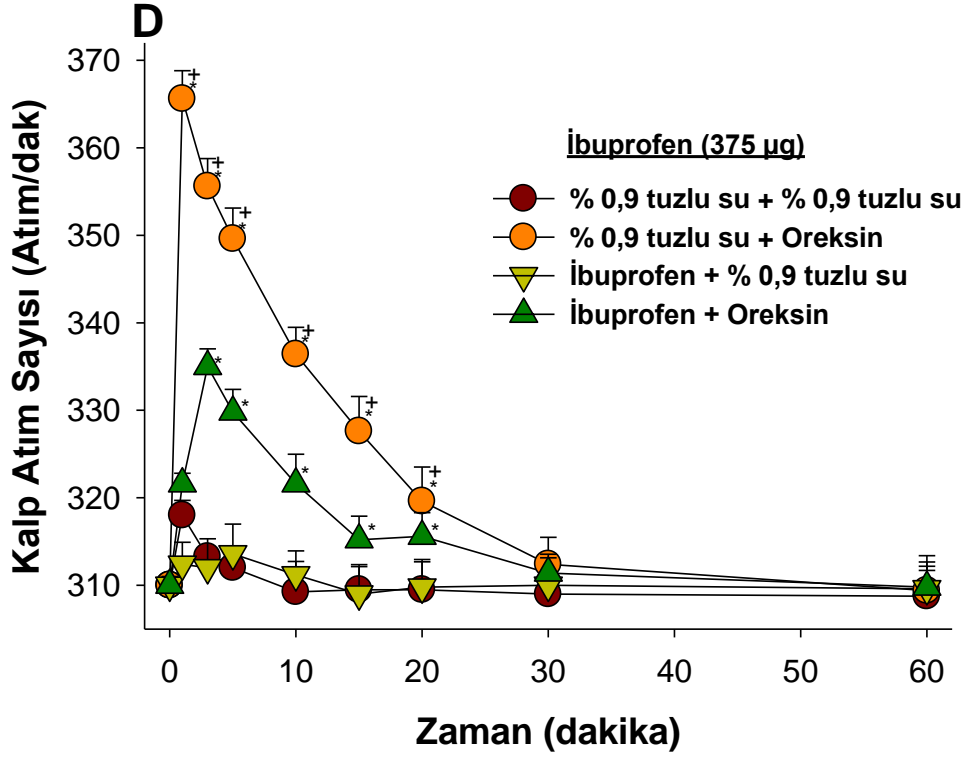
## Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Siklooksijenaz Yolağının Aracılığı

Merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerinde merkezi COX yolağının aracılığını araştırmak için normotansif sıçanlara oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 5 dakika önce farklı dozlarda seçici olmayan COX inhibitörü ibuprofen (250 ve 375 µg; s.y.v.) ön tedavisi uygulandı. İbuprofen ön tedavisi sıçanların bazal kardiyovasküler parametrelerinde bir değişikliği neden olmaksızın doza ve zamana bağlı olarak oreksinin yaratmış olduğu pressör (Şekil 14 A, C) ve taşikardik (Şekil 14 B, D) etkileri kısmen bloke etti ( $p<0,05$ ).







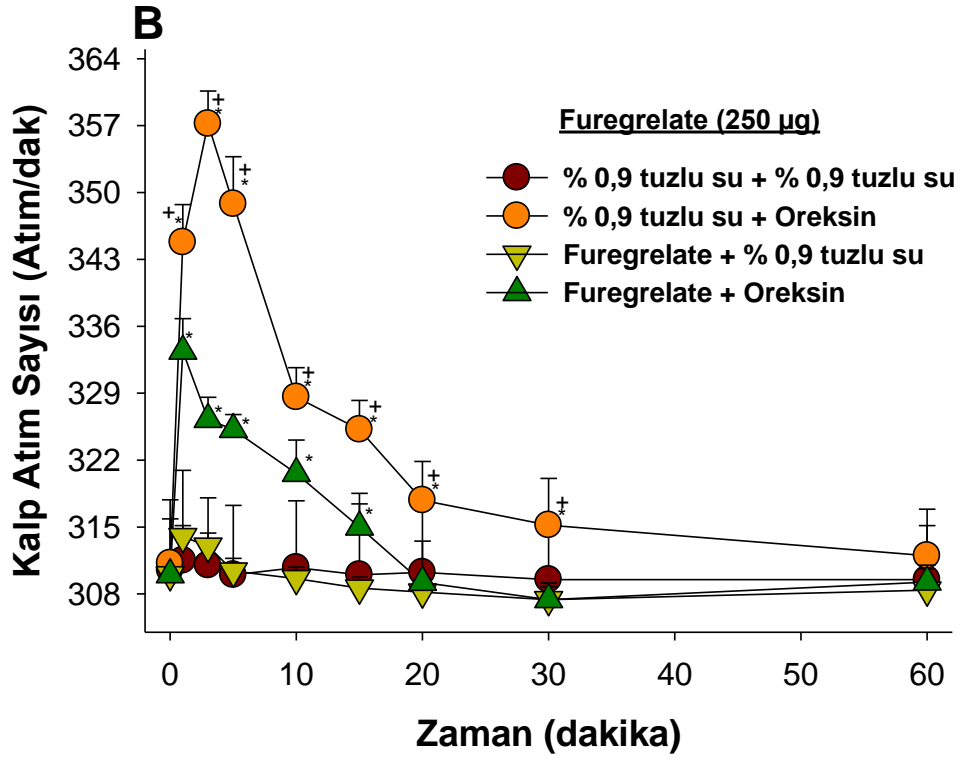
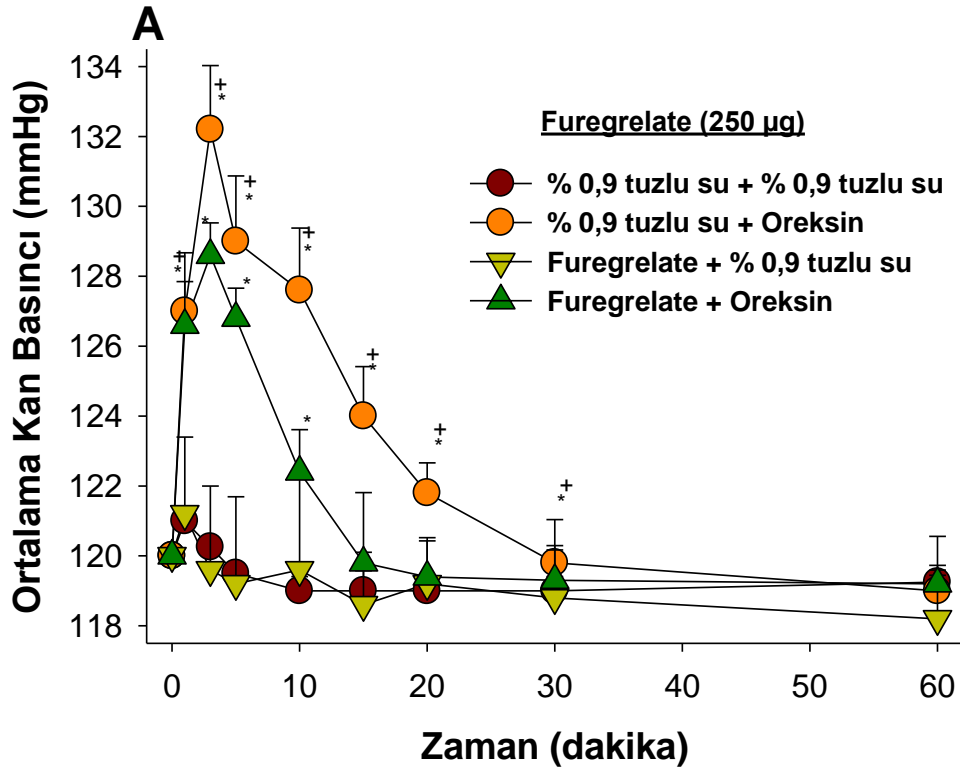


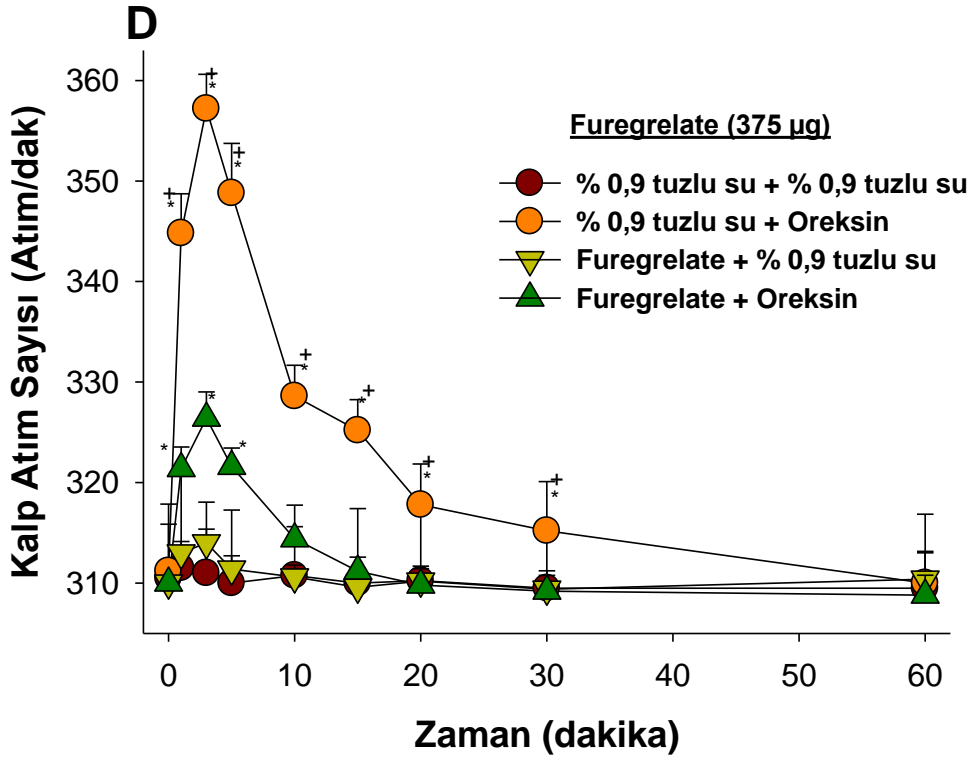
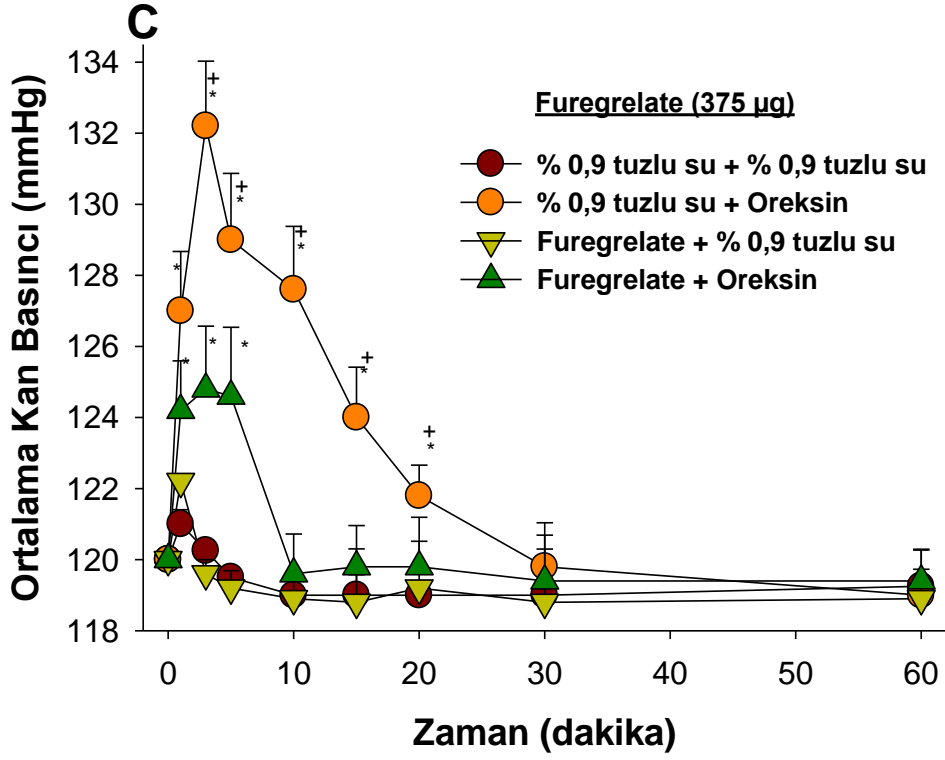
**Şekil-14: Değişik dozlardaki ibuprofen ön tedavisinin oreksinin oluşturmuş olduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı.**

Stabilizasyon periyodunun sonunda değişik dozlarda ibuprofen (250 ve 375 µg) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) sıçanların s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 5 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla oreksin (1,5 nmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. 250 µg (A, B) ve 375 µg (C, D) ibuprofen ön tedavisi yapılan sıçanların kardiyovasküler parametreleri oreksin veya % 0,9 tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*,  $p < 0,05$ , “% 0,9 tuzlu su + % 0,9 tuzlu su” ve “İbuprofen + % 0,9 tuzlu su” gruplarına göre anlamlı farkı; +,  $p < 0,05$ , “İbuprofen + Oreksin” grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

### **Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Tromboksan A<sub>2</sub>'nin Aracılığı**

Merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerinde merkezi TXA<sub>2</sub>'nin aracılığını araştırmak için normotansif sıçanlara oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 5 dakika önce farklı dozlarda TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate (250 ve 375 µg; s.y.v.) ön tedavisi uygulandı. Furegrelate ön tedavisi sıçanların bazal kardiyovasküler parametrelerinde bir değişikliğe neden olmaksızın doza ve zamana bağlı olarak oreksinin yaratmış olduğu pressör (Şekil 15 A, C) ve taşikardik (Şekil 15 B, D) etkileri kısmen bloke etti ( $p < 0,05$ ).



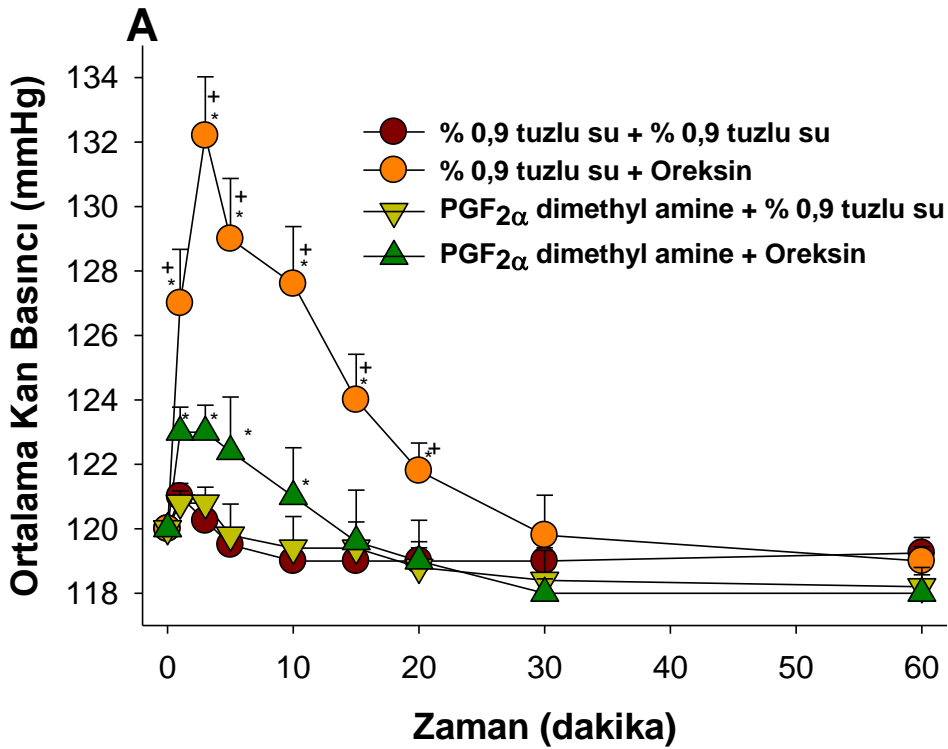


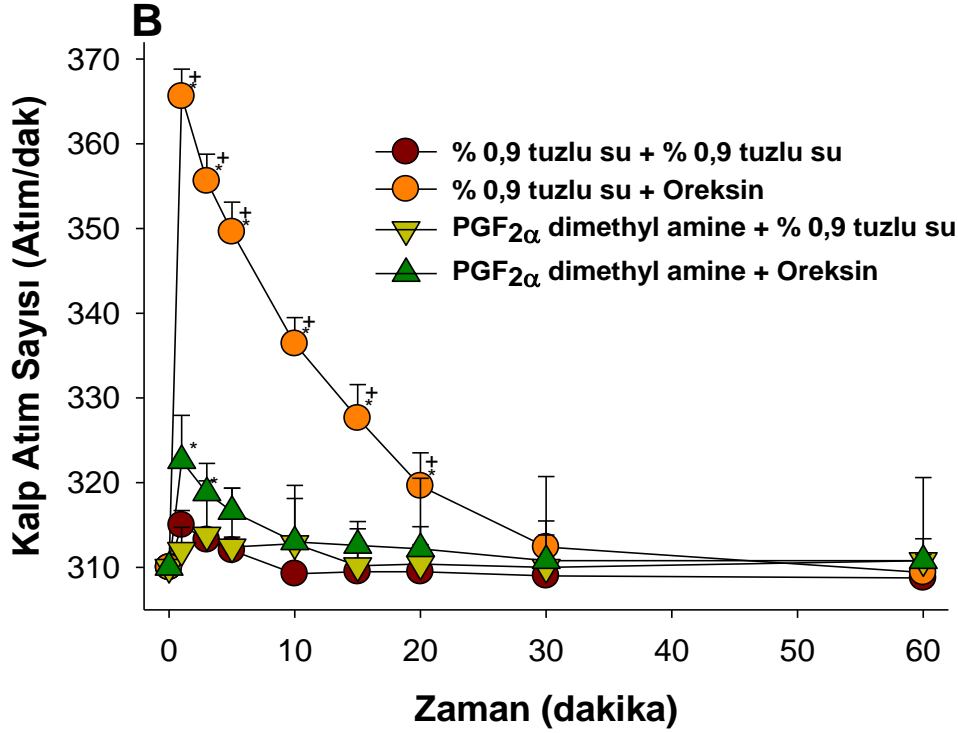
### Şekil-15: Değişik dozlardaki furegrelate ön tedavisinin oreksinin oluşturmuş olduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı.

Stabilizasyon periyodunun sonunda değişik dozlarda furegrelate (250 ve 375 µg) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) sıçanlara s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 5 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla oreksin (1,5 nmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. 250 µg (A, B) ve 375 µg (C, D) furegrelate ön tedavisi yapılan sıçanların kardiyovasküler parametreleri oreksin veya % 0,9 tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*, p<0,05, “% 0,9 tuzlu su + % 0,9 tuzlu su” ve “Furegrelate + % 0,9 tuzlu su” gruplarına göre anlamlı farkı; +, p<0,05, “Furegrelate + Oreksin” grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

### Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Prostaglandin F<sub>2α</sub>'nın Aracılığı

Merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerinde merkezi PGF<sub>2α</sub>'nın aracılığını araştırmak için normotansif sıçanlara oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 5 dakika önce PGF<sub>2α</sub> reseptör antagonisti PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (50 µg; s.y.v.) ön tedavisi uygulandı. PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine ön tedavisi sıçanların bazal kardiyovasküler parametrelerinde bir değişikliğe neden olmaksızın oreksinin yaratmış olduğu pressör ve taşikardik etkileri kısmen bloke etti (Şekil 16 A, B) (p<0,05).





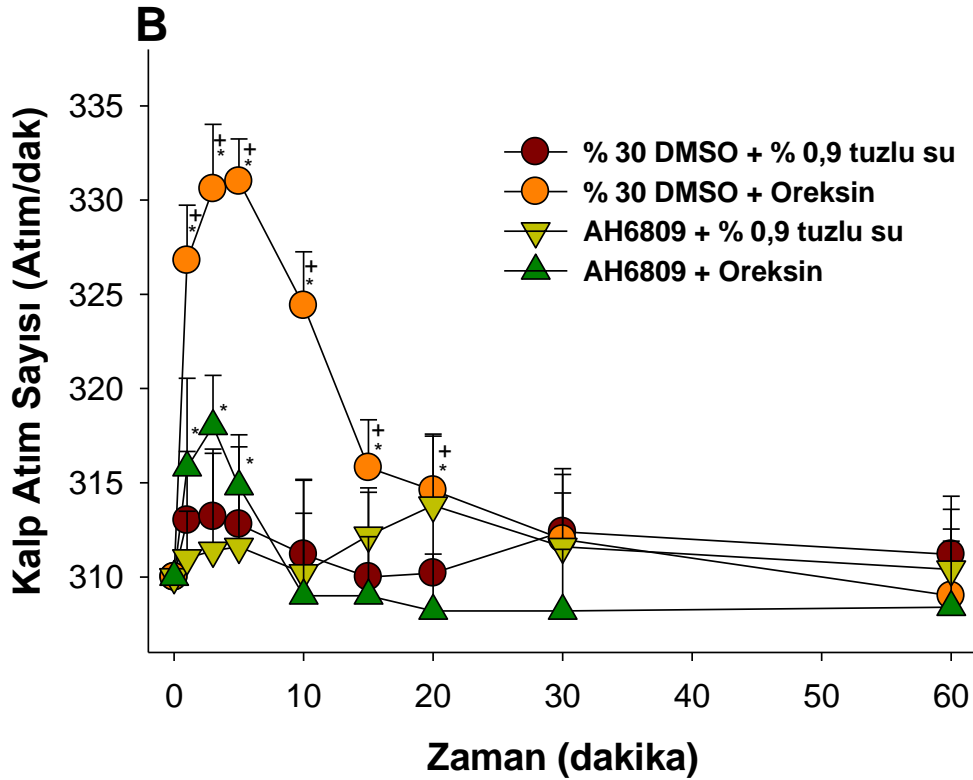
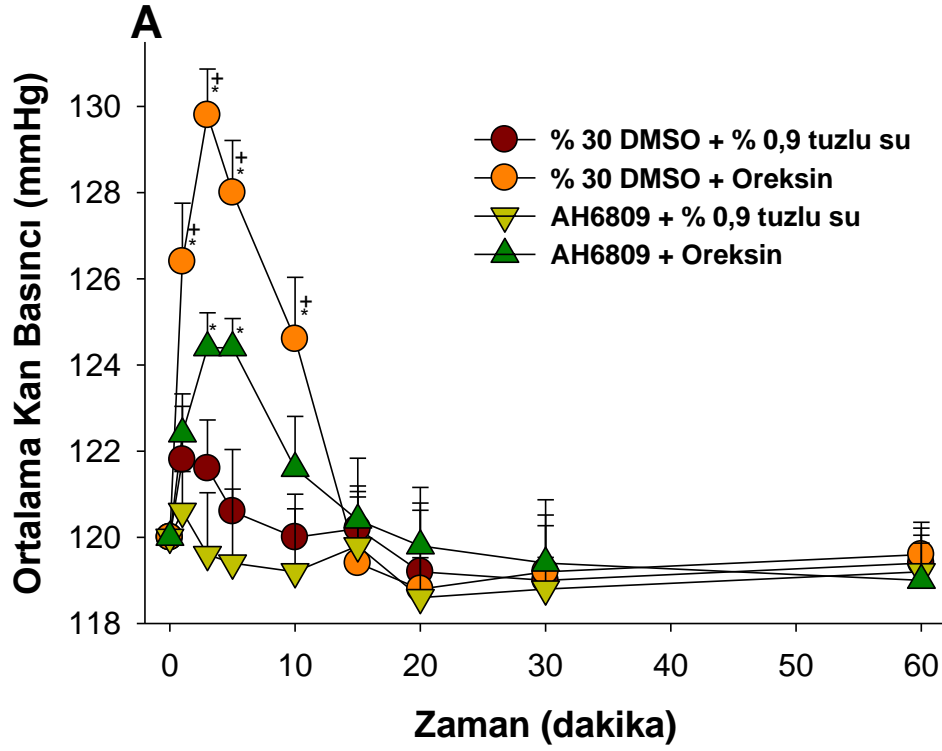
**Şekil-16: PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine ön tedavisinin oreksinin oluşturmuş olduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı.**

Stabilizasyon periyodunun sonunda PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine (50 µg; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) sıçanlara s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 5 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla oreksin (1,5 nmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. Sıçanların ortalama kan basıncı (A) ve kalp atım sayısı (B) parametreleri oreksin veya tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*, p<0,05, “% 0,9 tuzlu su + % 0,9 tuzlu su” ve “PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine + % 0,9 tuzlu su” gruplarına göre anlamlı farkı; +, p<0,05, “PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine + Oreksin” grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

### **Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Prostaglandin E ve Prostaglandin D'nin Aracılığı**

Merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerinde merkezi PGE ve D'nin aracılığını araştırmak için normotansif sıçanlara oreksin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 5 dakika önce PGE'nin (EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>) ve PGD'nin (DP<sub>1</sub>) reseptör antagonisti AH6809 (5 µg; s.y.v.) veya kontrol amaçlı % 30 DMSO ön tedavisi uygulandı. AH6809 ve % 30 DMSO ön tedavisi sıçanların bazal kardiyovasküler parametrelerinde bir değişikliğe neden olmadı. AH6809 ön tedavisi

oreksinin yaratmış olduğu pressör ve taşikardik etkileri kısmen bloke etti (Şekil 17 A, B) ( $p<0,05$ ).

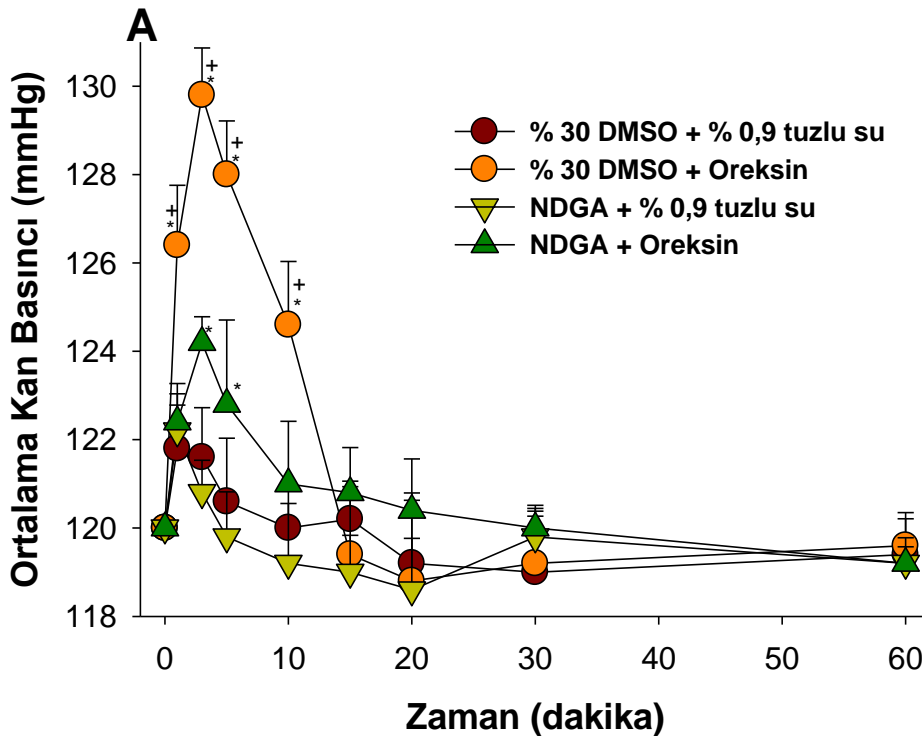


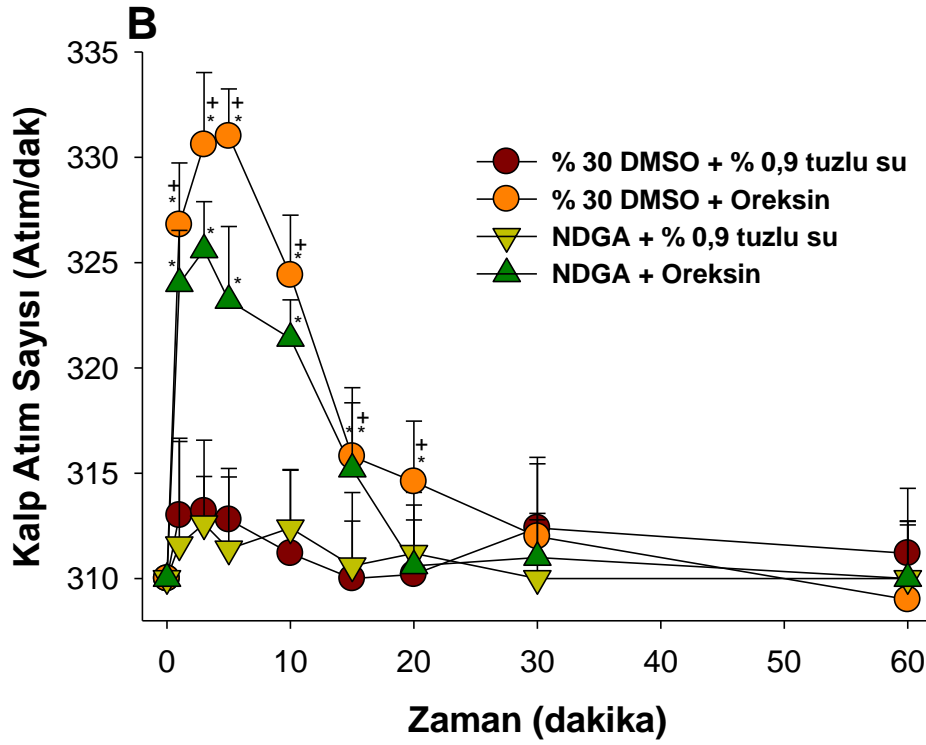
**Şekil-17: AH6809 ön tedavisinin oreksinin oluşturmuş olduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı.**

Stabilizasyon periyodunun sonunda AH6809 (5 µg; s.y.v.) veya % 30 DMSO sıçanlara s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 5 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla oreksinin (1,5 nmol) veya % 0,9 tuzlu su uygulandı. Sıçanların ortalama kan basıncı (A) ve kalp atım sayısı (B) parametreleri oreksinin veya tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*,  $p < 0,05$ , “% DMSO + % 0,9 tuzlu su” ve “AH6809 + % 0,9 tuzlu su” gruplarına göre anlamlı farkı; +,  $p < 0,05$ , “AH6809 + Oreksinin” grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

**Merkezi Olarak Uygulanan Oreksinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkilerinde Merkezi Lipooksijenaz Yolağının Aracılığı**

Merkezi olarak uygulanan oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerinde merkezi LOX yolağının aracılığını araştırmak için normotansif sıçanlara oreksinin (1,5 nmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 5 dakika önce seçici olmayan LOX inhibitörü NDGA (250 µg; s.y.v.) veya kontrol amaçlı % 30 DMSO (5 µl; s.y.v.) ön tedavisi uygulandı. NDGA ve % 30 DMSO ön tedavisi sıçanların bazal kardiyovasküler parametrelerinde bir değişikliğe neden olmadı. NDGA ön tedavisi oreksinin yaratmış olduğu pressör ve taşikardik etkileri kısmen bloke etti (Şekil 18 A, B) ( $p < 0,05$ ).





**Şekil-18: NDGA ön tedavisinin oreksinin oluşturmuş olduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı.**

Stabilizasyon periyodunun sonunda NDGA (250 µg; s.y.v.) veya % 30 DMSO (5 µl) sıçanlara s.y.v.yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 5 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla oreksin (1,5 nmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. Sıçanların ortalama kan basıncı (A) ve kalp atım sayısı (B) parametreleri oreksin veya % 0,9 tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 5 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. \*, p<0,05, “% DMSO + % 0,9 tuzlu su” ve “NDGA + % 0,9 tuzlu su” gruplarına göre anlamlı farkı; +, p<0,05, “NDGA + Oreksin” grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.



## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmanın sonuçları, oreksinin merkezi yolla enjeksiyonunun normotansif sıçanlarda doza ve zamana bağlı olarak ortalama arteriyel kan basıncını arttırıcı ve taşikardik bir kardiyovasküler yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Merkezi olarak uygulanan oreksinin PH'de ekstraselüler total PG seviyesinde zamana bağlı artışa da neden olmaktadır. Merkezi COX ve LOX yolları ve ayrıca COX metabolitleri olan TXA<sub>2</sub>, PGD, PGE ve PGF<sub>2α</sub> oreksinin oluşturduğu kardiyovasküler etkilere kısmen aracılık etmektedir.

Sıçanlara s.y.v. yolla enjekte edilen değişik dozlardaki oreksinin ortalama arteriyel kan basıncını ve kalp atım sayısını arttırıcı etkisi doza- ve zamana- bağlı olarak hızlı ama kısa süreli olarak gelişti. Etki ilk dakikalarda başladı ve enjeksiyondan sonra 3. - 5. dakikada en yüksek seviyesine ulaştı ve doza bağlı olarak 20 – 30 dakika sürdü. 0,75 nmol dozda oreksinin yaklaşık 7 mmHg, 1,5 nmol dozda oreksinin yaklaşık 10 mmHg ve 3 nmol dozda oreksinin yaklaşık 17 mmHg ortalama arteriyel kan basıncında artışa neden oldu. 0,75, 1,5 ve 3 nmol dozda oreksinin sıçanların kalp atım sayısında dakikada sırasıyla yaklaşık 10, 47 ve 53 atım/dak artış oluşturdu.

Oreksinler prepro-oreksinin adı verilen öncül bir prekürsör peptidten köken alan hipotalamik peptidlerdir (1). Bir nörotransmitter ve/veya nöromodülatör olarak oreksinler, besin alımının düzenlenmesi (2, 8), enerji homeostazisi (9), uyku-uyanıklık döngüsü (10, 11), nosisepsiyon (12), hafıza ve ödüllendirmenin kontrolü, reproduktif kontrol, adrenal fonksiyonlar (13), susama ve sıvı dengesi (14), solunumun kontrolü (15) gibi birçok hayati öneme sahip sistemin düzenlenmesinde önemli role sahiptirler. Oreksinin merkezi kardiyovasküler kontrolde rol aldığını gösteren birçok rapor bulunmaktadır (16, 17, 19, 102, 103). S.y.v.'ye oreksinin enjeksiyonunun arteriyel kan basıncını ve kalp atım sayısını arttırdığı (16) rapor edilmiştir. Yine s.y.v.'ye enjekte edilen oreksinin kardiyovasküler etkilerine paralel olarak renal sinir aktivitesini ve plazma adrenalin - noradrenalin seviyesini arttırıcı etkisi, merkezi uygulanan oreksinin sempatoadrenerjik sistemi aktive ettiği ve artan aktivitenin oreksinin oluşturduğu kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkisini oluşturmasına aracılık ettiği şeklinde yorumlanmıştır (17). Oreksinin intratekal olarak uygulamasının da ortalama arteriyel kan basıncında ve kalp atım sayısında arttırıcı etkiler oluşturması oreksinin sempatoadrenerjik sistemi aktive ettiğine dair delilleri doğrular niteliktedir (19). Merkezi kardiyovasküler kontrol açısından önemli beyin bölgeleri olan

RVLM ve NTS'ye oreksinin mikro enjeksiyonları da hem anestezi altında hem de uyanık sıçanlarda benzer kan basıncını arttırıcı ve taşikardik yanıtların oluşmasına neden olmaktadır (104, 105). Merkezi olarak uygulanan oreksinin hemorajik hipotansif sıçanlarda ortalama arteriyel kan basıncı ve kalp atım sayısını ve ayrıca hayati öneme sahip organlara giden kan akımını arttırarak hipotansiyonu geri döndürüp yaşam süresini uzattığı da rapor edilmiştir (18). Oreksinin hipotansiyonu geri döndürücü etkisine de sempatoadrenerjik sistem aktivasyonu aracılık etmektedir (18). S.y.v.'ye enjekte edilen oreksinin sıçanlarda vazopressin salınımını arttırdığı da rapor edilmiştir (76). Yine aynı çalışmada oreksinin ile indüklenen vazopressin artışının, oreksinin oluşturduğu kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkilere aracılık edebileceği şeklinde yorumlanmıştır (76). Yapılan başka bir çalışmada merkezi uygulanan oreksinin ile elde edilen arteriyel kan basıncı ve kalp atım sayısı artışlarının periferik olarak uygulanan anjiotensinerjik AT1 reseptör antagonistleri ile engellenmesi merkezi uygulanan oreksinin bu kardiyovasküler etkilerine renin-anjiotensin-aldosteron sisteminin de aracılık ettiğini düşündürmektedir (136). Oreksinin bu kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkilerine oreksinerjik OX1 başta olmak üzere oreksinerjik OX1 ve OX2 reseptörlerinin aracılık ettiği bilinmektedir (22). Bununla birlikte oreksinerjik sistemin merkezi kolinerjik (19) ve merkezi histaminerjik sistemlerle (23) etkileşim içinde olduğu da bilinmektedir. Çalışmadan elde edilen bulgular bu raporların sonuçlarına uygunluk göstermekte olup oreksinin kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkisi olduğunu doğrular niteliktedir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre merkezi olarak uygulanan oreksinin merkezi COX ve LOX yollarını aktive etmektedir. Çünkü merkezi olarak uygulanan oreksinin PH'de ekstraselüler total PG konsantrasyonunu zamana bağlı olarak arttırmaktadır. COX inhibitörü ibuprofen ön tedavisi ve LOX inhibitörü NGDA ön tedavisi s.y.v.'ye enjekte edilen oreksinin oluşturduğu kan basıncını arttırıcı ve taşikardik etkilerini de kısmen engellenmektedir. Ayrıca COX metabolitleri olan TXA<sub>2</sub>, PGD, PGE ve PGF<sub>2α</sub> oreksinin oluşturduğu kardiyovasküler etkilere kısmen aracılık etmektedir. Çünkü TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü olan furegrelate ön tedavisi; PGD ve PGE reseptör antagonisti olan AH6809 ön tedavisi ve PGF<sub>2α</sub> reseptör antagonisti olan PGF<sub>2α</sub> dimethyl amine ön tedavisi oreksinin oluşturduğu kardiyovasküler etkileri kısmen de olsa geri döndürmektedir.

PH kardiyovasküler sistem ve solunum sistemi gibi hayati öneme sahip sistemlerin kontrolünde rol alan beyinin önemli kontrol merkezlerinden birisidir. PH, bu düzenlemelerde aracılığı olan çok sayıda nörotransmitter ve/veya nöromodülatörü

barındırmaktadır (94). Prepro-oreksin mRNA'larını içeren oreksinerjik nöronlar yoğun bir şekilde PH'de bulunmaktadır (2). Aynı zamanda PH, AA ve metabolitleri açısından da oldukça zengin bir bölgedir. Hemorajik hipotansiyonlu sıçanların PH ekstraselüler sıvısında TXA<sub>2</sub> metaboliti olan TXB<sub>2</sub> seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (35). Yapılan diğer bir çalışmada bir kolin donörü olan CDP-kolinin s.y.v.'ye enjekte edilmesiyle PH ekstraselüler total PG seviyesinde artış meydana geldiği rapor edilmiştir (137). PH, hem kardiyovasküler sistemin kontrolünde önemli rollere sahip olması hemde oreksinerjik nöronlar ve AA metabolitleri açısından zengin oluşu nedeniyle çalışmada büyük bir öneme sahiptir.

COX ve LOX metabolitleri hücre membranından fosfolipazların etkisi ile serbest kalan bir polidoymamış yağ asiti olan AA'dan köken alırlar. Fosfolipaz etkisiyle serbest hale geçen hem AA'nın hem de AA'dan köken alan COX ve LOX metabolitlerinin MSS'de varlıkları gösterilmiş olup, MSS'de birçok sistemin kontrolünde nörotransmitter ve/veya nöromodülatör olarak rol almaktadırlar (24). Merkezi AA kaskadının oreksinin etkilerine benzer şekilde merkezi kardiyovasküler kontrolde de rol aldığını gösteren birçok rapor bulunmaktadır. Merkezi olarak uygulanan AA, hem normotansif (28, 31) hem de hipotansif sıçanlarda (29) merkezi PG sentezini arttırarak ortalama kan basıncını arttırıcı bir etki oluşturmaktadır. Çünkü COX inhibitörü indometazin ile yapılan ön tedavi AA'nın etkisini tamamen engellerken, TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile yapılan ön tedavi AA'nın oluşturduğu kardiyovasküler yanıtı kısmen bloke edebilmiştir. Merkezi olarak uygulanan FLA<sub>2</sub> aktivatörü olan melittinin de AA yolağını aktive ederek hem normotansif hem de hipotansif koşullarda pressör bir kardiyovasküler etki oluşturduğu ve bu etkinin de COX inhibitörü ile tamamen, TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü ile kısmen engellenebildiği rapor edilmiştir (25-29). Yine hem FLA<sub>2</sub> aktivatörü olan melittinin hem de AA'nın oluşturduğu pressör yanıtlarda oreksinin etki profiline benzer şekilde sempatoadrenerjik, vazopressinerjik ve renin-anjiyotensin sisteminin aracılık ettiği gösterilmiştir (25-29). Ayrıca merkezi AA metabolitleri de kardiyovasküler kontrolde görev almaktadırlar. S.y.v.'ye enjekte edilen TXA<sub>2</sub>'nin de oreksinin etkisine benzer şekilde, hem normotansif hem de hipotansif hayvanlarda pressör bir yanıt oluşturduğu ve hipotansiyonu geri döndürdüğü gösterilmiştir (31, 34-36). Merkezi olarak uygulanan PGE, PGD ve PGF<sub>2α</sub>'nın normotansif sıçanlarda oreksin gibi kan basıncını arttırıcı ve taşikardik bir yanıt oluşturduğu da rapor edilmiştir (138-141). Merkezi olarak uygulanan AA ve metabolitlerinin bu etkilerine kısmen de olsa hem merkezi kolinerjik sistem (26, 30) hem

de merkezi histaminerjik sistem aracılık etmektedir. Çünkü merkezi yolla AA ve metabolitlerinin uygulanması hem PH'de ekstraselüler asetilkolin / kolin ve histamin seviyelerinde artışa neden olmuş, hem de AA ve metabolitlerinin oluşturduğu pressör yanıtların merkezi nikotik ve merkezi histaminerjik reseptörler tarafından engellendiği bildirilmiştir (26, 30, 32, 33). Bu raporların sonuçları hem merkezi oreksinerjik sistemin hem de merkezi COX ve LOX metabolitlerinin kardiyovasküler kontrol açısından fonksiyonel benzerliklere sahip olduğunu bildirmektedir. Çalışmadan elde edilen bulgular, kardiyovasküler sistem kontrolü açısından bu fonksiyonel benzerlikleri iki sistemin etkileşimi yönüyle doğrulamaktadır. Çünkü oreksin uygulanması ile PH ekstraselüler total PG artışı, oreksinin oluşturduğu kardiyovasküler yanıtların zamansal eğrisi ile benzerlik göstermektedir. Yine çeşitli AA metaboliti yolak inhibitörleri veya reseptör antagonistleri ön tedavisi ile oreksinin kardiyovasküler etkisinin kısmen de olsa geri döndürülmesi oreksinin indüklediği PH'den total PG çıkışlarını destekler niteliktedir. Bununla birlikte kardiyovasküler sistem kontrolü açısından olmasa da oreksin ve AA metabolitleri arasında etkileşim olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. *İn vitro* olarak yapılan bir çalışmada, OX1 reseptör analogunun ovaryum, HEK-293 ve neuro-2A hücre kültürlerinde AA salınımını arttırdığı gösterilmiştir (142, 143). Yapılan diğer bir çalışmada ise s.y.v. yolla uygulanan oreksinin hipertermik etki oluşturduğu ve bu etkisinin seçici olmayan bir COX inhibitörü olan asetilsalisilatın periferik olarak uygulanması ile engellenebildiği gösterilmiştir (144).

Özetle bulgular, merkezi olarak uygulanan oreksinin ortalama arteriyel kan basıncını ve kalp atım sayısını arttırarak sıçanlarda pressör bir kardiyovasküler yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca s.y.v.'ye enjekte edilen oreksin kardiyovasküler düzenleme açısından önemli bir merkez olan PH'den total PG seviyesini de arttırmaktadır. Yine ilginç olarak çalışmanın sonucu, oreksinin oluşturduğu kan basıncında artış ve taşikardik yanıtlara merkezi COX-TXA<sub>2</sub> -PGE -PGD ve -PGF<sub>2α</sub> yolağının ve ayrıca LOX yolağının da kısmen aracılık ettiğini de göstermektedir. Sonuç olarak elde edilen bulgular, MSS'de oreksinerjik sistemin ve AA sinyal yolağının kardiyovasküler sistemin kontrolü açısından etkileşim içinde olduğunu göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. DE LECEA L, KILDUFF TS, PEYRON C, GAO X, FOYE PE, DANIELSON PE, FUKUHARA C, BATTENBERG EL, GAUTVIK VT, BARTLETT FS, FRANKEL WN, VAN DEN POL AN, BLOOM FE, GAUTVIK KM, SUTCLIFFE JG. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 95: 322-7, 1998.
2. TRIVEDI P, YU H, MACNEIL DJ, VAN DER PLOEG LH, GUAN XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Letters*, 438: 71-5, 1998.
3. KIRCHGESSNER AL AND LIU MT. Orexin synthesis and response in the gut. *Neuron*, 24: 941-51, 1999.
4. JASZBERENYI M, BUJDOSO E, PATAKI I, TELEGDY G. Effects of orexins on the hypothalamic-pituitary-adrenal system. *Journal of Neuroendocrinology*, 12: 1174-8, 2000.
5. RUSSELL SH, KIM MS, SMALL CJ, ABBOTT CR, MORGAN DG, TAHERI S. Central administration of orexin-A suppresses basal and domperidone stimulated plasma prolactin. *Journal of Neuroendocrinology*, 12: 1213-8, 2000.
6. HAGAN JJ, LESLIE RA, PATEL S, EVANS ML, WATTAM TA, HOLMES S. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96: 10911-6, 1999.
7. GARCIA MC, LOPEZ M, GUALILLO O, SEOANE LM, DIEGUEZ C, SENARIS RM. Hypothalamic levels of NPY, MCH, and preproorexin mRNA during pregnancy and lactation in the rat: Role of prolactin. *The FASEB Journal*, 17: 1392-400, 2003.
8. SMART D AND JERMAN JC. The physiology and pharmacology of the orexins. *Pharmacology & Therapeutics*, 94: 51-61, 2002.
9. CAI XJ, LIU XH, EVANS M, CLAPHAM JC, WILSON S, ARCH JR. Orexins and feeding: Special occasions or everyday occurrence. *Regulatory Peptides*, 104: 1-9, 2002.
10. NISHINO S. The Hypocretin/Orexin system in health and disease. *Biological Psychiatry*, 54: 87-95, 2003.

11. HERVIEU GJ, CLUDERAY JE, HARRISON DC, ROBERTS JC, LESLIE RA. Gene expression and protein distribution of the orexin-1 receptor in the rat brain and spinal cord. *Neuroscience*, 103: 777–97, 2001.
12. MOBARAKEH JI, TAKAHASKI K, SAKURADA S. Enhanced antinociception by intracerebroventricularly and intrathecally-administered orexin A and B (hypocretin-1 and -2) in mice. *Peptides*, 26: 767-777, 2005.
13. KURU M, UETA Y, SERINO R. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. *Neuroreport*, 11: 1977-1980, 2000.
14. KUNII K, YAMANAKA A, NAMBU T, MATSUZAKI I, GOTO K, SAKURAI T. Orexins/ hypocretins regulate drinking behaviour. *Brain Research*, 842: 256–61, 1999.
15. ZHANG W, FUKUDA Y, KUWAKI T. Respiratory and cardiovascular actions of orexin-A in mice. *Neuroscience Letter*, 385: 131-6, 2005.
16. SAMSON WK, GOSNELL B, CHANG JK, RESCHZ T, MURPHY C. Cardiovascular regulatory actions of the hypocretins in brain. *Brain Research*, 831: 248–253, 1999.
17. SHIRASAKA T, NAKAZATO M, MATSUKURA S, TAKASAKI M, KANNAN H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *American Journal of Physiology*, 277: 1780–1785, 1999.
18. JOCHEM J, ZWIRSKA-KORCZALA K, ZABIELSKI R, KATO I, KUWAHARA A. Cardiovascular effects of centrally acting orexin A in haemorrhage-shocked rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 11: 115-124, 2006.
19. ANTUNES VR, BRAILOIU GC, KWOK EH, SCRUGGS P, DUN NJ. Orexins/hypocretins excite rat sympathetic preganglionic neurons in vivo and in vitro. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281: 1801-1807, 2001.
20. SHIRASAKA T, KUNITAKE T, TAKASAKI M, KANNAN H. Neuronal effects of orexins: Relevant to sympathetic and cardiovascular functions. *Regulatory Peptides*, 104: 91–5, 2002.
21. MATSUMURA K, TSUCHIHASHI T, ABE I. Central orexin-A augments sympathoadrenal outflow in conscious rabbits. *Hypertension*, 37: 1382–1387, 2001.
22. HUANG SC, DAI YW, LEE YH, CHIOU LC, HWANG LL. Orexins depolarize rostral ventrolateral medulla neurons and increase arterial pressure and heart rate in

- rats mainly via orexin 2 receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 334: 522–529, 2010.
23. JOCHEM J. Orexin type 1 receptor antagonist SB 334867 inhibits the central histamine-induced resuscitating effect in rats subjected to haemorrhagic shock. *Inflammation Research*, 58: 36-37, 2009.
24. TASSONI D, KAUR G, WEISINGER RS, SINCLAIR AJ. The role of eicosanoids in the brain. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1: 220-8, 2008.
25. YALÇIN M, AK F, ERTÜRK M. The role of central thromboxane A2 in cardiovascular effects of a phospholipase A2 activator melittin administered intracerebroventricularly in normotensive conscious rats. *Neuropeptides*, 40: 207-212, 2006a.
26. YALÇIN M VE ERTÜRK M. The involvement of the central cholinergic system in the pressor and bradycardic effects of centrally administered melittin in normotensive conscious rats. *Neuropeptides*, 41: 103-110, 2007.
27. YALÇIN M VE SAVCI V. Cardiovascular effects of centrally injected melittin in hemorrhaged hypotensive rats: the investigation of peripheral mechanisms. *Neuropeptides*, 41: 465-475, 2007.
28. AYDIN C VE YALÇIN M. Peripheral mechanisms involved in the pressor and bradycardic effects of centrally administered arachidonic acid. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 78: 361-368, 2008.
29. YALÇIN M VE AYDIN C. Cardiovascular effects of centrally administered arachidonic acid in haemorrhage-induced hypotensive rats: investigation of a peripheral mechanism. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 36: 447-453, 2009.
30. YALÇIN M, AYDIN C, SAVCI V. Cardiovascular effect of peripheral injected melittin in normotensive conscious rats: mediation of the central cholinergic system. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81: 341-347, 2009.
31. YALÇIN M. Central mechanism underlying pressor and bradycardic effect of intracerebroventricularly injected arachidonic acid. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 89: 127-33, 2011.
32. ALTINBAŞ B, TOPUZ BB, YILMAZ MS, AYDIN C, SAVCI V, JOCHEM J, AYDIN S, YALÇIN M. The mediation of the central histaminergic system in the pressor effect of intracerebroventricularly injected melittin, a phospholipase A2

- activator, in normotensive rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 87: 153-158, 2012.
33. ALTINBAŞ B, TOPUZ BB, İLHAN T, YILMAZ MS, ERDOST H, YALÇIN M. Activation of the central histaminergic system mediates arachidonic-acid-induced cardiovascular effects. *Can J Physiol Pharmacol*, 92: 645-654, 2014.
34. YALÇIN M VE SAVCI V. Restoration of blood pressure by centrally injected U-46619, a thromboxane A2 analog, in haemorrhaged hypotensive rats: investigation of different brain areas. *Pharmacology*, 70: 177-187, 2004.
35. YALÇIN M, ÇAVUN S, YILMAZ MS, CENGİZ F, SAVCI V. Involvement of brain thromboxane A2 in hypotension induced by haemorrhage in rats. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 32: 960-967, 2005a.
36. YALÇIN M, ÇAVUN S, YILMAZ MS, SAVCI V. The involvement of central cholinergic system in the pressor effect of intracerebroventricularly injected U-46619, a thromboxane A2 analog, in conscious normotensive rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 372: 31-4, 2005b.
37. YALÇIN M, ÇAVUN S, YILMAZ MS, SAVCI V. Activation of the central cholinergic system mediates the reversal of hypotension by centrally administered U-46619, a thromboxane A2 analog, in hemorrhaged rats. *Brain Research*, 1118: 43-51, 2006b.
38. NÄSLUND E, EHRSTRÖM M, MA J, HELLSTRÖM PM, KIRCHGESSNER AL. Localization and effects of orexin on fasting motility in the rat duodenum. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology*, 282: 470-9, 2002.
39. SMART D, HAYNES AC, WILLIAMS G, ARCH JR. Orexins and the treatment of obesity. *European Journal of Pharmacology*, 440: 199-212, 2002.
40. CUTLER DJ, MORRIS R, SHERIDHAR V, WATTAM TA, HOLMES S, PATEL S. Differential distribution of orexin-A and orexin-B immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *Peptides*, 20:1455–70, 1999.
41. PEYRON C, TIGHE DK, VAN DEN POL AN, DE LECEA L, HELLER HC, SUTCLIFFE JG. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *The Journal of Neuroscience*, 18: 9996–10015, 1998.
42. DATE Y, UETA Y, YAMASHITA H, YAMAGUCHI H, MATSUKURA S, KANGAWA K. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with



- autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96: 748–753, 1999.
43. NAMBU T, SAKURAI T, MIZUKAMI K, HOSOYA Y, YANAGISAWA M, GOTO K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Research*, 827: 243–260, 1999.
  44. MARCUS JN, ASCHKENASI CJ, LEE CE, CHEMELLI RM, SAPER CB, YANAGISAWA M. Differential expression of orexin receptors1 and 2 in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 435: 6–25, 2001.
  45. PUSKAS N, PAPP RS, GALLATZ K, PALKOVITS M. Interactions between orexin-immunoreactive fibers and adrenaline or noradrenaline-expressing neurons of the lower brainstem in rats and mice. *Peptides*, 31: 589–1597, 2010.
  46. BAYER L, EGGERMANN E, SERAFIN M, GRIVEL J, MACHARD D, MUHLETHALER M. Opposite effects of noradrenaline and acetylcholine upon hypocretin/orexin versus melanin concentrating hormone neurons in rat hypothalamic slices. *Neuroscience*, 130: 807–811, 2005.
  47. LEINNINGER GM AND MYERS MG JR. LRb signals act within a distributed network of leptin-responsive neurones to mediate leptin action. *Acta Physiologica*, 192: 49–59, 2008.
  48. SCHONE C, VENNER A, KNOWLES D, KARNANI MM, BURDAKOV D. Dichotomous cellular properties of mouse orexin/hypocretin neurons. *Journal of Physiology*, 589: 2767–2779, 2011.
  49. SCHONE C, CAO ZF, APERGIS-SCHOUTE J, ADAMANTIDIS A, SAKURAI T, BURDAKOV D. Optogenetic probing of fast glutamatergic transmission from hypocretin/orexin to histamine neurons in situ. *Journal of Neuroscience*, 32: 12437–12443, 2012.
  50. BURDAKOV D, KARNANI MM, GONZALEZ A. Lateral hypothalamus as a sensor-regulator in respiratory and metabolic control. *Physiology & Behavior*, 121: 117–124, 2013.
  51. KARNANI MM, SZABO G, ERDELYI F, BURDAKOV D. Lateral hypothalamic GAD65 neurons are spontaneously firing and distinct from orexin and melanin-concentrating hormone neurons. *Journal of Physiology*, 591: 933–953, 2013.
  52. MURAKI Y, YAMANAKA A, TSUJINO N, KILDUFF TS, GOTO K, SAKURAI T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor. *Journal of Neuroscience*, 24: 7159–7166, 2004.

53. YAMANAKA A, MURAKI Y, ICHIKI K, TSUJINO N, KILDUFF TS, GOTO K. Orexin neurons are directly and indirectly regulated by catecholamines in a complex manner. *Journal of Neurophysiology*, 96: 284–298, 2006.
54. HALL JE, DA SILVA AA, DO CARMO JM, DUBINIION J, HAMZAS, MUNUSAMY S. Obesity-induced hypertension: role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins. *The Journal of Biological Chemistry*, 285: 17271–17276, 2010.
55. LEINNINGER GM. Lateral thinking about leptin: a review of leptin action via the lateral hypothalamus. *Physiology & Behavior*, 104: 572–581, 2011.
56. HASSANI OK, LEE MG, JONES BE. Melanin-concentrating hormone neurons discharge in a reciprocal manner to orexin neurons across the sleep-wake cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 106: 2418–2422, 2009.
57. DE LECEA L. A decade of hypocretins: past, present and future of the neurobiology of arousal. *Acta Physiologica*, 198: 203–208, 2010.
58. DE LECEA L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. *Progress in Brain Research*, 198: 15–24, 2012.
59. SAKURAI T, MIEDA M, TSUJINO N. The orexin system: roles in sleep/wake regulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1200: 149–161, 2010.
60. TSUJINO N AND SAKURAI T. Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacological Reviews*, 61: 162–176, 2009.
61. TESKE JA, BILLINGTON CJ, KOTZ CM. Hypocretin/orexin and energy expenditure. *Acta Physiologica*, 198: 303–312, 2010.
62. GIRAULT EM, YI CX, FLIERS E, KALSBECK A. Orexins, feeding, and energy balance. *Progress in Brain Research*, 198: 47–64, 2012.
63. NIXON JP, KOTZ CM, NOVAK CM, BILLINGTON CJ, TESKE JA. Neuropeptides controlling energy balance: orexins and neuromedins. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 209: 77–109, 2012.
64. SHAHID IZ, RAHMAN AA, PILOWSKY PM. Intrathecal orexin A increases sympathetic outflow and respiratory drive, enhances baroreflex sensitivity and blocks the somato-sympathetic reflex. *British Journal of Pharmacology*, 162: 961–973, 2011.

65. SHAHID IZ, RAHMAN AA, PILOWSKY PM. Orexin A in rat rostral ventrolateral medulla is pressor, sympatho-excitatory, increases barosensitivity and attenuates the somato-sympathetic reflex. *British Journal of Pharmacology*, 165: 2292–2303, 2012.
66. NATTIE E AND LI A. Respiration and autonomic regulation and orexin. *Progress in Brain Research*, 198: 25–46, 2012.
67. NAHON JL. The melanocortins and melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *Comptes Rendus Biologies*, 329: 623–638, 2006.
68. PEYRON C, SAPIN E, LEGER L, LUPPI PH, FORT P. Role of the melanin-concentrating hormone neuropeptide in sleep regulation. *Peptides*, 30: 2052–2059, 2009.
69. KONADHODE RR, PELLURU D, BLANCO-CENTURION C, ZAYACHKIVSKY A, LIU M, UHDE T. Optogenetic stimulation of MCH neurons increases sleep. *Journal of Neuroscience*, 33: 10257–10263, 2013.
70. MONTI JM, TORTEROLO P, LAGOS P. Melanin-concentrating hormone control of sleep-wake behavior. *Sleep Medicine Reviews*, 17: 293–298, 2013.
71. MESSINA MM AND OVERTON JM. Cardiovascular effects of melanin-concentrating hormone. *Regulatory Peptides*, 139: 23–30, 2007.
72. BROWN SN, CHITRAVANSHI VC, KAWABE K, SAPRU HN. Microinjections of melanin concentrating hormone into the nucleus tractus solitarius of the rat elicit depressor and bradycardic responses. *Neuroscience*, 150: 796–806, 2007.
73. LOUIS GW, LEINNINGER GM, RHODES CJ, MYERS MG JR. Direct innervation and modulation of orexin neurons by lateral hypothalamic LepRb neurons. *Journal of Neuroscience*, 30: 11278–11287, 2010.
74. SAKURAI T. Orexins and orexin receptors: Implication in feeding behavior. *Regulatory Peptides*, 85: 25–30, 1999.
75. IDA T, NAKAHARA K, MURAKAMI T. Possible involvement of orexin in the stress reaction in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications Journal*, 270: 318-323, 2000.
76. AL-BARAZANJI KA, WILSON S, BAKER J, JESSOP DS, HARBUZ MS. Central orexin-A activates hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stimulates hypothalamic releasing factor and arginine vasopressin neurones in conscious rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 13: 421-424, 2001.

77. BINGHAM S, DAVEY PT, BABBS AJ. Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties. *Pain*, 92: 81-90, 2001.
78. GUYTON AC AND HALL JE. Text book of medical physiology (Tıbbi Fizyoloji). Çeviren: ÇAVUŞOĞLU H. 10. Baskı, Nobel Yayınevi, İstanbul, sayfa 175-183, 2001.
79. CONTE MR. Gender differences in the neurohumoral control of the cardiovascular system. *Italian Heart Journal: Official Journal of the Italian Federation of Cardiology*, 4: 367-370, 2003.
80. GUYENET PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nature Reviews Neuroscience*, 7: 335–346, 2006.
81. FISHER JP AND ANDPATON JF. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 26: 463–475, 2011.
82. ZUBCEVIC J, WAKI H, RAIZADA MK, PATON JF. Autonomic-immune-vascular interaction: an emerging concept for neurogenic hypertension. *Hypertension*, 57: 1026–1033, 2011.
83. DAMPNEY RA, COLEMAN MJ, FONTES MA, HIROOKA Y, HORIUCHI J, LI YW, POLSON JW, POTTS PD, TAGAWA T. Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 29: 261-268, 2002.
84. OLUFSEN M, TRAN H, OTTESEN J. Modeling cerebral blood flow control during posture change from sitting to standing. *Cardiovascular Engineering*, 4: 47-58, 2004.
85. STORNETTA RL, SPIROVSKI D, MOREIRA TS, TAKAKURA AC, WEST GH, GWILT JM, PILOWSKY PM, GUYENET PG. Galanin is a selective marker of the retrotrapezoid nucleus in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 512: 373-383, 2009.
86. SVED AF AND ITO S. Pharmacological profile of the depressor response elicited by injection of SarThran into the rat rostral ventrolateral medulla. *FASEB Journal*, 13: 213, 1999.
87. LAWRENCE AJ AND JARROTT B. Neurochemical modulation of cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius. *Progress in Neurobiology*, 48: 21-53, 1996.

88. AVERILL DB AND DIZ DI. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: Pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Research Bulletin*, 51: 119-128, 2000.
89. ZANUTTO BS, VALENTINUZZI ME, SEGURA ET. Neural set point for the control of arterial pressure: role of the nucleus tractus solitarius. *BioMedical Engineering OnLine*, 9: 4, 2010.
90. ITO S AND SVED AF. Blockade of angiotensin receptors in rat rostral ventrolateral medulla removes excitatory vasomotor tone. *American Journal of Physiology*, 270: 1317-1323, 1996.
91. LIPSKI J, KANJHAN R, KRUSZEWSKA B, RONG W. Properties of presympathetic neurones in the rostral ventrolateral medulla in the rat: an intracellular study "in vivo". *Journal of Physiology*, 490: 729-44, 1996.
92. ZANUTTO BS, VALENTINUZZI ME, SEGURA ET. Neural set point for the control of arterial pressure: role of the nucleus tractus solitarius. *BioMedical Engineering OnLine*, 9: 4, 2010.
93. SPYER KM. Central nervous control of the cardiovascular system. *Autonomic Failure*. Oxford- New York- Tokyo: Oxford University Press Bannister R, Mathias C, 54-77, 1992.
94. SINGEWALD N AND PHILIPPU A. Involvement of biogenic amines and amino acids in the central regulation of cardiovascular homeostasis. *Trends in Pharmacological Sciences*, 17: 356-363, 1996.
95. DAMPNEY RA, POLSON JW, POTTS PD, HIROOKA Y, HORIUCHI J. Functional organization of brain pathways subserving the baroreceptor reflex: studies in conscious animals using immediate early gene expression. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23: 597-616, 2003.
96. DAMPNEY RA, HORIUCHI J, KILLINGER S, SHERIFF MJ, TAN PS, MCDOWALL LM. Long-term regulation of arterial blood pressure by hypothalamic nuclei: some critical questions. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 32: 419-25, 2005.
97. ROSS CA, RUGGIERO DA, PARK DH, JOH TH, SVED AF, FERNANDEZ-PARDAL J, SAAVEDRA JM, REIS DJ. Tonic vasomotor control by the rostral ventrolateral medulla: effect of electrical or chemical stimulation of the area containing C1 adrenaline neurons on arterial pressure, heart rate, and plasma catecholamines and vasopressin. *Journal of Neuroscience*, 4: 474-94, 1984.

98. SWANSON LW AND SAWCHENKO PE. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annual Review of Neuroscience*, 6: 269-324, 1983.
99. PYNER S. Neurochemistry of the paraventricular nucleus of the hypothalamus: implications for cardiovascular regulation. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 38: 197-208, 2009.
100. SUN MK AND GUYENET PG. Hypothalamic glutamatergic input to medullary sympathoexcitatory neurons in rats. *American Journal of Physiology*, 251: 798–810, 1986.
101. ALLEN GV AND ANDRECHETTO DF. Functional and anatomical organization of cardiovascular pressor and depressor sites in the lateral hypothalamic area: I. Descending projections. *Journal of Comparative Neurology*, 315: 313–332, 1992.
102. SHIRASAKA, T, MIYAHARA S, KUNITAKE T, JIN QH, KATO K, TAKASAKI, M. Orexin depolarizes rat hypothalamic paraventricular nucleus neurons. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 281: 1114–1118, 2001.
103. FOLLWELL MJ AND FERGUSON AV. Cellular mechanisms of orexin actions on paraventricular nucleus neurones in rat hypothalamus. *The Journal of Physiology*, 545: 855–867, 2002.
104. CHEN CT, HWANG LL, CHANG JK, DUN NJ. Pressor effects of orexins injected intracisternally and to rostral ventrolateral medulla of anesthetized rats. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278: 692-697, 2000.
105. MACHADO BH, BONAGAMBA LG, DUN SL, KWOK EH, DUN NJ. Pressor response to microinjection of orexin/hypocretin into rostral ventrolateral medulla of awake rats. *Regulatory Peptides*, 104: 75-81, 2002.
106. KUWAKI T, ZHANG W, NAKAMURA A, DENG BS. Emotional and state-dependent modification of cardiorespiratory function: role of orexinergic neurons. *Autonomic Neuroscience*, 142: 11–16, 2008.
107. FURLONG TM, VIANNA DM, LIU L, CARRIVE P. Hypocretin/ orexin contributes to the expression of some but not all forms of stress and arousal. *European Journal of Neuroscience*, 30: 1603–1614, 2009.
108. IIGAYA K, HORIUCHI J, MCDOWALL LM, LAM AC, SEDIQI Y, POLSON JW, ET AL. Blockade of orexin receptors with Almorexant reduces

- cardiorespiratory responses evoked from the hypothalamus but not baro-or chemoreceptor reflex responses. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 303: 1011–1022, 2012.
109. JOHNSON PL, MOLOSH A, FITZ SD, TRUITT WA, SHEKHAR A. Orexin, stress, and anxiety/panic states. *Progressive Brain Research*, 198: 133–161, 2012.
110. XIAO F, JIANG M, DU D, XIA C, WANG J, CAO Y, ET AL. Orexin A regulates cardiovascular responses in stress-induced hypertensive rats. *Neuropharmacology*, 67: 16-24, 2013.
111. JOHNSON PL, TRUITT W, FITZ SD, MINICK PE, DIETRICH A, SANGHANI S, ET AL. A key role for orexin in panic anxiety. *Nature Medicine*, 16: 111–115, 2010.
112. LI A AND NATTIE E. Antagonism of rat orexin receptors by almorexant attenuates central chemoreception in wakefulness in the active period of the diurnal cycle. *The Journal of Physiology*, 588: 2935–2944, 2010.
113. MOLLOY GY, RATTRAY M, WILLIAMS RJ. Genes encoding multiple forms of phospholipase A2 are expressed in rat brain. *Neuroscience Letters*, 258, 139-142, 1998.
114. RINALDO-MATTHIS A AND HAEGGSTRÖM JZ. Structures and mechanisms of enzymes in the leukotriene cascade. *Biochimie*, 92: 676-681, 2010.
115. SWAN CE AND BREYER RM. Prostaglandin E2 modulation of blood pressure homeostasis: studies in rodent models. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 96: 10-3, 2011.
116. SCHRÖR K AND RAUCH BH. Aspirin and lipid mediators in the cardiovascular system. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 1098-8823: 30005-8, 2015.
117. RAKHILA H, BOURCIER N, AKOUM A, POULIOT M. Abnormal Expression of Prostaglandins E2 and F2 $\alpha$  Receptors and Transporters in Patients with Endometriosis. *BioMed Research International*, 2015: 808146, 2015.
118. MAŁYSZ-CYMBORSKA I AND ANDRONOWSKA A. Ovarian stimulation with human chorionic gonadotropin and equine chorionic gonadotropin affects prostacyclin and its receptor expression in the porcine oviduct. *Domestic Animal Endocrinology*, 53: 17-25, 2015.
119. ATEUFACK G, DOMGNIM MOKAM EC, MBIANTCHA M, DONGMO FEUDJIO RB, DAVID N, KAMANYI A. Gastroprotective and ulcer healing

- effects of piptadeniastrum Africanum on experimentally induced gastric ulcers in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15: 214, 2015.
- 120.NIV Y AND BANIĆ M. Gastric barrier function and toxic damage. *Digestive Diseases*, 32: 235-42, 2014.
- 121.STENSON WF. The universe of arachidonic acid metabolites in inflammatory bowel disease: can we tell the good from the bad?. *Current Opinion in Gastroenterology*, 30: 347-51, 2014.
- 122.CLAAR D, HARTERT TV, PEEBLES RS JR. The role of prostaglandins in allergic lung inflammation and asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 9: 55-72, 2015.
- 123.KHAN M AND FRASER A. Cox-2 inhibitors and the risk of cardiovascular thrombotic events. *Irish Medical Journal*, 105: 119-21, 2012.
- 124.SCHRÖR K, BRETSCHEIDER E, FISCHER K, FISCHER JW, PAPE R, RAUCH BH, ROSENKRANZ AC, WEBER AA. Thrombin receptors in vascular smooth muscle cells - function and regulation by vasodilatory prostaglandins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 103: 884-90, 2010.
- 125.HAO CM AND BREYER MD. Physiological regulation of prostaglandins in the kidney. *Annual Review of Physiology*, 70: 357-77, 2008.
- 126.RIOS A, VARGAS-ROBLES H, GÁMEZ-MÉNDEZ AM, ESCALANTE B. Cyclooxygenase-2 and kidney failure. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 98: 86-90, 2012.
- 127.BUGAJSKI J. Role of prostaglandins in the stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by adrenergic and neurohormone systems. *Journal of physiology and pharmacology*, 47: 559-75, 1996.
- 128.ANDREASSON K. Emerging roles of PGE<sub>2</sub> receptors in models of neurological disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 91: 104-12, 2010.
- 129.PIOTROWSKA-TOMALA KK, BAH MM, JANKOWSKA K, LUKASIK K, WARMOWSKI P, GALVAO AM, SKARZYNSKI DJ. Lipopolysaccharides, cytokines, and nitric oxide affect secretion of prostaglandins and leukotrienes by bovine mammary gland during experimentally induced mastitis in vivo and in vitro. *Domestic Animal Endocrinology*, 52: 90-9, 2015.
- 130.VANE JR, BAKHLE YS, BOTTING RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38: 97-120, 1998.



131. GREENE ER, HUANG S, SERHAN CN, PANIGRAHY D. Regulation of inflammation in cancer by eicosanoids. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 96: 27-36, 2011.
132. KAYAALP O. Solunum ve Dolaşım Sistemleri, Eikozanoidler. *Kayaalp - Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 1-2, 2012.
133. AKHLAQ AF AND LLOYD AH. Brain phospholipase A2: perspective on the history. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 71, 161-169, 2004.
134. PAXİNOS G AND WATSON C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 5th Ed, 5th Edition, Elsevier Academic Press, San Diego, California, 2005.
135. YILMAZ MS, ALTINBAŞ B, GÜVENÇ G, ERKAN LG, AVŞAR Ö, SAVCI V, KÜÇÜKŞEN D, ARICAN İ, YALÇIN M. The role of centrally injected nesfatin-1 on cardiovascular regulation in normotensive and hypotensive rats. *Autonomic Neuroscience*, 193: 63-68, 2015.
136. LIN Y, MATSUMURA K, TSUCHIHASHI T, ABE I, IIDA M. Chronic central infusion of orexin-A increases arterial pressure in rats. *Brain Res Bull*, 57: 619-622, 2002.
137. TOPUZ BB, ALTINBAŞ B, İLHAN T, YILMAZ MS, ERDOST H, SAHA S, SAVCI V, YALÇIN M. Centrally administered CDP-choline induced cardiovascular responses are mediated by activation of the central phospholipase-prostaglandin signaling cascade. *Brain Res*, 1563: 61-71, 2014.
138. ARIUMI H, TAKANO Y, MASUMI A, TAKAHASHI S, HIRABARA Y, HONDA K, SAITO R, KAMIYA H. Roles of the central prostaglandin EP3 receptors in cardiovascular regulation in rats. *Neurosci. Lett*, 324: 61-64, 2002.
139. SIREN AL. Central cardiovascular and thermal effects of prostaglandin E2 in rats. *Acta Physiol. Scand*, 116: 229-234, 1982.
140. SIREN AL. Central cardiovascular and thermal effects of prostaglandin D2 in rats. *Prostaglandins Leukot. Med*, 8: 349-359, 1982.
141. SIREN AL. Differences in the central actions of arachidonic acid and prostaglandin F2 a between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Life Sci*, 30: 503-513, 1982.
142. TURUNEN PM, EKHOLM ME, SOMERHARJU P, KUKKONEN JP. Arachidonic acid release mediated by OX1 orexin receptors. *Br J Pharmacol*, 159: 212-221, 2010.

143. TURUNEN PM, JÄNTTI MH, KUKKONEN JP. OX1 orexin/hypocretin receptor signaling via arachidonic acid and endocannabinoid release. *Mol Pharmacol*, 82: 156–167, 2012.
144. MONDA M, VIGGIANO A, MONDOLA P, DE LUCA V. Inhibition of prostaglandin synthesis reduces hyperthermic reactions induced by hypocretin-1/orexin A. *Brain Res*, 909: 68-74, 2001.



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, tüm çalışmalarında benden desteğini ve yardımlarını eksik etmeyen, bana hayata farklı bakış açısıyla bakmayı öğreten değerli danışman hocam Prof. Dr. Murat YALÇIN başta olmak üzere, bilgi birikiminden ve tecrübelerinden sıkça faydalandığım, çalışmalarında beni sürekli destekleyen arkadaşım Araş. Gör. Burçin ALTINBAŞ'a, lisans eğitimimin ilk yılından itibaren iyi, kötü her anıma ortak, yüksek lisans eğitimim süresince tüm çalışmalarını beraber yürüttüğüm ev arkadaşım, arkadaştan öte kardeşim Leman Gizem ERKAN'a, lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince her zaman yanımda olan ve manevi desteğini sürekli olarak hissettiğim Mehmet BAYRAM'a, lisans ve yüksek lisans eğitimimi beraber tamamladığım arkadaşım Gözde YILMAZ AKÇA'ya, bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım ve destekçim olan Yard. Doç. Dr. Tuncay İLHAN'a, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını benden esirgemeyen canım arkadaşım Özge AVŞAR'a, başta anabilimdalı başkanımız Prof. Dr. Nurten GALİP olmak üzere Prof. Dr. Fahrünisa CENGİZ'e, Prof. Dr. Cenk AYDIN'a, Yard. Doç. Dr. Füsun AK SONAT'a, tez deneylerimin bir kısmında emeği geçen hocam Yard. Doç. Dr. Duygu UDUM KÜÇÜKŞEN'e, tez deneylerimi yürütebilmem için bana Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilimdalı'ndaki laboratuvarını açan Doç. Dr. Sertaç YILMAZ'a, projelerinde çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, vizyonumu genişleten sevgili hocam Prof. Dr. Barbaros ORAL'a, teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca her türlü manevi ve maddi olarak yanımda olan, bu günlere gelmemde çok büyük emekleri olan sevgili annem ve babam Funda – Nazmi GÜVENÇ'e, teyzem ve eniştem Ömür – Cevdet BİLEN'e, kuzenlerim Ceyda – Cenk YILMAZ ve Özlem – Hakkı BİLEN'e sonsuz teşekkürler...

## ÖZGEÇMİŞ

13.06.1990 tarihinde İzmir’de doğdum. İlkokulu Zafer İlköğretim Okulu ve ortaokulu Fevzi Çakmak İlköğretim Okulu’nda okudum. Lise eğitimimi Konak Anadolu Lisesi’nde tamamlayıp 2008 yılında mezun oldum. Yine 2008 yılında Uludağ Üniversitesi Fen–Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nü kazandım. Lisans eğitimimi 2013 yılında tamamladıktan sonra aynı yıl içerisinde Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD’de yüksek lisans eğitimime başladım. Yüksek lisans eğitimimin ilk yılında İngiltere, Oxford University’de 3 ay süresiyle staj gördüm. 2016 Ocak ayında yüksek lisanstan mezun oldum.