

T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLarda PİNEALEKTOMİ VE MELATONİN
UYGULAMASININ SERUM MELATONİN, NESFATİN-1 VE
GHRELİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Saadet SÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman:

Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI

KONYA-2017

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLarda PİNEALEKTOMİ VE MELATONİN
UYGULAMASININ SERUM MELATONİN, NESFATİN-1 VE
GHRELİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Saadet SÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman:

Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 15202028 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2017

ONAY SAYFASI

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Saadet SÖNMEZ tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından
Fizyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile
kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı (Danışman): Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI
Selçuk Üniversitesi



İmza

Üye: Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ
Selçuk Üniversitesi



İmza

Üye: Yrd. Doç. Dr. Füsun SUNAR
Karatay Üniversitesi



İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili
maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü
Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul
edilmiştir.

Prof. Dr. Ender ERDOĞAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Sıçanlarda Pinealektomi ve Melatonin Uygulamasının Serum Melatonin, Nesfatin-1 ve Ghrelin Düzeylerine Etkisi” başlıklı tezimin planlanması, araştırılmasında ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren danışmanım sayın Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI’ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ’ a ve Yüksek Lisans eğitimim esnasında yetişmemeye katkı sağlayan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Nilsel OKUDAN ve Doç.Dr. Muaz BELVİRANLI’ya, hormon analizlerinde yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Esma MENEVŞE’ye, istatistik analizlerimin yapılmasında desteğini gördüğüm Selçuk Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Süleyman PATLAR’a, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı asistanları Ömer Ünal, Dr. Derviş DAŞDELEN, Kemal YÜCE ve Dr. Tuğba SEZER’ e ve tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ÖZET	x
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Melatonin	1
1.1.1. Melatoninin Vücut Ağırlığını Düzenlemesi	2
1.1.2. Melatonin ve Hiperglisemi, Dislipidemi ve Postprandiyal Dismetabolizmasının Düzenlenmesi	5
1.1.3. Melatonin ve Oksidatif Stres Regülasyonu	7
1.1.4. Melatonin ve Kan Basıncı Kontrolü	10
1.2.1. Nesfatin-1'in Salgı Alanları	12
1.2.2. Nesfatin-1 ve Beslenmenin Regülasyonu	13
1.2.3. Nesfatin-1 ve Sinir Sistemi	14
1.2.4. Nesfatin-1 ve Stres	15
1.2.5. Nesfatin-1 ve Endokrin Sistem	16
1.2.6. Nesfatin-1 ve Diyabet	17
1.2.7. Nesfatin-1 ve Bağışıklık Sistemi	18
1.2.8. Nesfatin-1 ve Kardiyovasküler Sistem	18
1.2.9. Nesfatin-1 ve L-Tipi Kalsiyum (Ca^{+2}) Kanalları	19
1.2.10. Nesfatin-1'in Başlıca Klinik Uygulamaları	20
1.3. Ghrelin	22
1.3.1. Ghrelinin Yapısı	23
1.3.2. Klasik Büyüme Hormonu Sekretagog Rezeptörü (GHSR)	24
1.3.3. Ghrelin Rezeptör Agonistleri	25
1.3.4. Ghrelin Rezeptör Antagonistleri	25
1.3.5. Ghrelin Rezeptörü Ters Agonistleri	26
1.3.6. Ghrelin O-Asetiltransferaz (GOAT)	26
1.3.7. Obestatin	27
1.3.8. Ghrelin'in Dağılımı, Regülasyonu ve Fizyolojisi	27
1.3.9. Ghrelin ve Beslenmenin Düzenlenmesi	29
1.3.10. Farmakoterapik Olarak Ghrelin Uygulaması	32
2. GEREÇ ve YÖNTEM	35
2.1.Deneysel Uygulamalar	36
2.1.1.Melatonin Uygulaması	36
2.1.2.Pinealektomi	36
2.1.3.Kan alma İşlemleri	36

2.2. Biyokimyasal İşlemler	36
2.2.1. Melatonin Analizi	36
2.2.2. Ghrelin Analizi	38
2.2.3. Nesfatin-1 Analizi	40
2.3. İstatistik	41
3. BULGULAR	43
3.1. Çalışma Gruplarının Serum Melatonin Düzeylerinin Karşılaştırılması	43
3.2. Çalışma Gruplarının Serum Ghrelin Düzeylerinin Karşılaştırılması	43
3.3. Çalışma Gruplarının Serum Nesfatin-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması	43
4. TARTIŞMA	45
4.1. Melatonin Bulgularının Tartışılması	45
4.2. Ghrelin Bulgularının Tartışılması	45
4.3. Nesfatin-1 Bulgularının Tartışılması	47
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
6. KAYNAKLAR	50
7.EKLER	64
8.ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

AgRP: Agouti'ye bağlı protein

AN: Aneroksiya nervoza

ARC: Kavisli çekirdek

BAT: Kahverengi yağ dokusu

db /db fare: Leptin gen defekti olan fareler

D-Lys: Ghrelin reseptör antagonisti

eNOS: Endotel nitrik oksit sentaz

fa/fa: Zucker diyabetik faty sıçan (Tip-2 diyabetli sıçan)

fMRI: Manyetik rezonans görüntüleme

GABA: Gama aminobütirik asit

GH: Ghrelinin büyümeye hormonu

GOAT: Ghrelin-O-açılı transferaz

GPCR: G-protein bağlı reseptör

GSH: Katalaz ya da glutatyon redüktaz

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-6: İnterlökin-6

icv: İntraserebroventriküler

KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

LHA: Lateral hipotalamik alan

MC3R: Melanokortin reseptörü 3

MC4: Melanokortin reseptörü

MC4R: Melanokortin reseptörü 4

MCFA: Orta zincirli yağlı asitler

MCT: Orta zincirli triaçilgiserol

MTLRP: Motilinle ilgili peptid

MTR1: Membran reseptörü 1

MTR2: Membran reseptörü 2

NAc: Nükleus akumbens

NEU-P11: Bir melatonin agonisti

NPY: Nöropeptit-Y

NTS: Nukleus traktus solitarius

NUCB1: Çekirdek bağlama 1

NUCB2: Çekirdek bağlama 2

ob/ob: Reseptör direnci

OSAS: Obstruktif uykı apne sendromu

PC3/1 ve PC2: Özel prohormon dönüştürücü enzimler

PCOS: Polikistik over sendromlu

POMC: Proopiomelakortinin geni

pPVH: Parvosellüler bölgedeki bazı nöronlar

PVN: Paraventriküler çekirdekler

RNS: Reaktif nitrojen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

SON: Supraoptik çekirdek

T1DM: Tip 1 diyabetes mellitus

T2DM: Tip 2 diabetes mellitus

T3: Triiodotironin

TNF- α : Tüberküler nekrosiz faktör alfa

VTA: Ventral segmental alan

YIL-78: Ghrelin antagonisti

ZDF: Zücker diyabetik yağlı sincan

α -MSH: α melanosit uyarıcı hormon

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Pinealektomi ve Melatonin Uygulamasının Serum Melatonin, Nesfatin-1 ve Ghrelin Düzeylerine Etkisi

Saadet SÖNMEZ

Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA–2017

Pineal bez ile beslenmenin düzenlenmesinde önemli rol oynayan ghrelin ve nesfatin-1 hormonları arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar yok denecek kadar azdır. Az sayıdaki hayvan çalışması ise sonuçları çelişkili olmakla beraber pineal bez ile ghrelin ve nesfatin-1 arasında bir ilişkinin var olabileceği dikkat çekmektedir. Bu çalışmanın amacı da pinealektomi ve melatonin uygulaması yapılmış sıçanlarda ghrelin ve nesfatin-1 hormonlarının nasıl etkilendiğinin araştırılmasıdır.

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen Wistar cinsi erişkin erkek sıçanlar üzerinde aynı merkezde gerçekleştirildi. Toplam 36 adet sıçan kullanılan araştırmada gruplar şu şekilde oluşturuldu: Grup 1, Kontrol grubu, Grup 2, Pinealektomi uygulanan grup, Grup 3, Pinealektomi+Melatonin grub, Grup 4, Melatonin uygulanan grup. Dört haftalık uygulamaları takiben dekapite edilen hayvanlardan alınan kan örneklerinde; sıçan kitleri kullanılarak ELISA yöntemiyle serumda melatonin (pg/ml), Nesfatin-1 (ng/ml) ve ghrelin (pg/ml) tayinleri gerçekleştirildi.

Çalışmamızda en düşük serum melatonin seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2'de, en yüksek serum melatonin seviyeleri ise melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi ($P<0.01$). Grupların ghrelin düzeyleri mukayese edildiğinde; en düşük serum ghrelin düzeyleri grup 1 (kontrol) ve grup 4 (melatonin uygulanan grup) de, en yüksek serum ghrelin seviyeleri Px grubunda (grup 2) elde edildi ($P<0.01$). Yine gerçekleştirdiğimiz çalışmada, en düşük serum Nesfatin-1 seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2'de elde, en yüksek serum Nesfatin-1 seviyeleri melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi ($P<0.01$).

Çalışmamızın bulguları bir bütün olarak değerlendirildiğinde pineal bez ve onun ürünü olan melatoninin, beslenme davranışlarında kritik roller üstlenen ghrelin ve nesfatin-1 hormonlarının kan düzeyleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Melatonin uygulaması ghrelin düzeyleri üzerinde baskılıayıcı, nesfatin-1 düzeyleri üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir.

Anahtar Sözcükler: Ghrelin; nesfatin-1; pineal bez; sığan

SUMMARY
REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

**The Effect of Pinealectomy and Melatonin Supplementation on Serum
Melatonin, Nesfatin-1 and Ghrelin Levels in Rats**

Saadet SÖNMEZ

Department of Physiology (Medicine)

MASTER THESIS / KONYA-2017

There is barely any study examining the relationship between the pineal gland and ghrelin and nesfatin-1 hormones, which are significantly involved in the regulation of diet. A few animal studies, although they have contradictory results, point out that there may be a relation between the pineal gland, and ghrelin and nesfatin-1. The present study aims to explore how ghrelin and nesfatin-1 hormones are affected in pinealectomized and melatonin-supplemented rats.

The study was conducted at the Experimental Medicine Research and Application Center of Seljuk University and registered Wistar male rats supplied by the center. A total of 36 rats included in the study were grouped as follows: Group 1, Control group; Group 2, Pinealectomized group; Group 3, Pinealectomized and melatonin-supplemented group; Group 4, Melatonin-supplemented group. Blood samples collected from the animals which were decapitated at the end of the 4-week procedures were analyzed by rat kits to determine melatonin (pg/ml), Nesfatin-1 (ng/ml) and ghrelin (pg/ml) levels according to ELISA method.

The lowest serum melatonin levels were found in the pinealectomized group 2, and the highest in the melatonin-supplemented group (group 4) ($p<0,01$). A comparison of serum ghrelin levels between groups revealed that group 1 (control) and group 4 (melatonin supplementation) had the lowest, while Px group (group 2) had the highest levels ($p<0,01$). As for nesfatin-1 levels, the lowest serum nesfatin-1 levels were established in the pinealectomized group 2, and the highest levels were found in the melatonin-supplemented group (group 4) ($p<0,01$).

An overall evaluation of study results suggests that the pineal gland and its product, melatonin, may have a substantial effect on the blood levels of ghrelin and nesfatin-1 hormones,

which play critical roles in dietary behaviors. Melatonin supplementation exercises an inhibitory effect on ghrelin levels and a stimulatory effect on nesfatin-1 levels.

Key words: Ghrelin; nesfatin-1; pinea gland; rat

1. GİRİŞ

1.1. Melatonin

Melatonin, memelilerde başlıca pineal (epifiz) bezde, aynı zamanda retina, siliyer vücut, beyin, kristalin, hava epitelii, trombosit, kemik iliği, kalın bağırsak, plasenta, lenfositler, testisler, yumurtalıklar ve deri gibi birçok diğer organlarda nokturnal olarak sentezlenen bir nörohormondur (Bubenik 2002).

Melatonin, enerji denge kontrolü de dahil olmak üzere birçok biyolojik fonksiyonla ilişkilidir (Agil ve ark 2002, Tan ve ark 2011). Bu indolamin ve onun metabolitleri ayrıca etkili radikal temizleyici olarak hareket ederler ve transkripsiyon faktörlerinin bloke edilmesi yoluyla antioksidan ve antienflamatuar ajanlar olarak davranışları (Higashi 2002, Salti ve ark 2006, Gocgeldi ve ark 2008, Othman ve ark 2008, Peynot ve Ducrocq 2008, Reiter ve ark 2008, Hardeland ve ark 2009, Ho ve ark 2009, Korkmaz 2009, Reiter ve ark 2009, Figueroa-Quevedo ve Agil 2012, Agil ve ark 2013, Galano ve ark 2013, Jangra ve ark 2013, Mauriz ve ark 2013).

Çok sayıdaki rapor melatoninin fizyolojik fonksiyonlarının çeşitliliğine dikkat çeker. Bu fizyolojik fonksiyonlar içerisinde; melatoninun sirkadiyen ritmin düzenlenmesindeki kritik rolü, antioksidan aktivitenin uyarılması ve oksidan stresin önlenmesi, bağışıklık cevaplarının düzenlenmesi, üreme sistemindeki rolü, yüksek kan basıncının azaltılması ile metabolik sendromun tedavisindeki etkileri sayılabilir (Rodriguez ve ark 2004, De Filippis ve ark 2008, Samantary ve ark 2008, Jung ve ark 2010, Huang ve ark 2013).

Melatonin, kan-beyin bariyeri veya hücre membranı gibi morfofizyolojik bariyerler tarafından engellenmez. Fonksiyonlarına reseptörlerin aracılık etmesinin yanı sıra, onlardan bağımsız da hareket edebilen ilginç bir moleküldür. Özel olarak, melatoninun mevsimsel üreme, uyku modülasyonu, kemik büyümesi ve osteoporoz etkilerini kontrol eden iki membran reseptörü (MTR1 ve MTR2) vardır (Reiter 1991, Rodriguez ve ark 2004, Hardeland ve ark 2009, Korkmaz ve ark 2009a, Reiter ve ark 2010, Figueroa-Quevedo ve Agil 2012, Agil ve ark 2013). Ayrıca, histonların asetil-bağlanması ve/veya DNA enzimlerinin metil bağlanması yoluyla epigenetik değişikliklerin düzenleyicileri olarak önemli bir role sahip oldukları

görülse de, fizyolojik önemi az anlaşılan başka nükleer reseptörlere de sahiptir (Tang ve Ho 2007, Sharma ve ark 2008, Korkmaz ve ark 2009a, 2009b).

Melatonin apoptozu önleyebilir ve oksidatif stresi azaltabilir (Reiter ve ark 2005, Carpentieri ve ark 2014, Agil ve ark 2013, Jangra ve ark 2013). Kök hücreler, nöroproteksiyona katılan MTR1 spesifik reseptör ve/veya MTR2 yi eksprese edebilir (Niles ve ark 2004, Sharma ve ark 2007). Bununla ilişkili olarak, pineal bez tarafından salgılanan melatoninin beyin içi verilmesi, serebrovasküler hastalıklı sıçanlardaki davranış bozukluklarını hafiflettiği ve bu hastalığa olası bir terapötik yaklaşım sağladığı rapor edilmiştir (Sharma ve ark 2007). Aynı çalışmada eksojen melatonin tedavisi ayrıca beyin iskemisinde glia hücrelerinin sağkalımını iyileştirmiştir (Sharma ve ark 2007). Bu ve benzeri bulgular, kök hücrelerin nöroproteksiyonu, çoğalması ve farklılaşmasında melatoninin rolünü araştırmaya olanak sağlar (Sharma ve ark 2007). Bu yeni bulgular Parkinson hastalığına karşı nöroprotektif stratejilerde melatoninin kullanımına işaret eder (Sharma ve ark 2007). Ayrıca Tamura ve ark (2014) melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının gece melatonin düzeylerinde yaşa bağlı azalmayı ve oksidatif stresi önleyebileceğini göstermişlerdir.

Melatonin, bazı sebzelerin doğal bir bileşenidir (örneğin; yonca, badem, siyah ve beyaz hardal, kavun yaprakları, zerdeçal yumrusu, kereviz, keten, rezene, çemen, kiraz, haşhaş, vs.) ve bir dizi bitkisel kökenli gıda maddelerinde saf veya diğer bileşiklere kombinasyon halinde tespit edilebilir melatonin konsantrasyonu mevcuttur (Korkmaz ve ark 2011, Zohar ve ark 2011, Gonzalez- Flores ve ark 2012, Tan ve ark 2012, Garcia- Moreno ve ark 2013). Mısır, pirinç, buğday ve yulafın yanı sıra kahve, çay, bira ve şarap gibi içeceklerde bileşiklerle artırılmış melatonin konsantrasyonu gösterilmiştir (Tan ve ark 2012).

1.1.1. Melatoninin Vücut Ağırlığını Düzenlemesi

Obezite ve Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), hayvan modelleri üzerine yapılan bir çalışma, melatonin uygulamasının kas içindeki serbest yağ asidi oksidasyonunu artırdığını ve böylece kilo kaybını sağlayan, insülin duyarlığını ve glukoz toleransını iyileştiren hepatik glikoz üretimini azalttığını bildirmiştir (Agil ve ark 2012). Ayrıca erkek Wistar sıçanlara melatonin uygulamasının (25 Mg ml⁻¹ içme

suyunda), tam gelişmiş fruktoz-indüklü metabolik sendromu olanlarda önemli bir kilo kaybına yol açtığı da ortaya konmuştur (Cardinali ve ark 2013).

Günlük melatonin uygulamasının, orta yaştaki erkek sincanlarda karın yağ ve plazma leptin düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir (Rasmussen ve ark 1999, Agil ve ark 2012). Yine melatonin uygulaması yüksek yağlı bir diyetle induklenen obez genç sincanlarda vücut ağırlığının düzenlenmesini de etkilemiş ve insülin duyarlılığında azalmaya karşı önleyici bir etki göstermiştir (Prunet-Marcassus ve ark 2003, Agil ve ark 2012). Melatoninin, fiziksel aktivitede veya hatta bazal metabolik hızdaki bir artışa ya da özellikle kahverengi yağ dokusunda (BAT) enerji tüketiminde artışa atfedilen, gıda alımını etkilemeden vücut ağırlığı artışını azalttığı bildirilmiştir (Wolden-Hanson ve ark 2000, Prunet-Marcassus ve ark 2003, Raskin ve ark 2007, Agil ve ark 2011). Bununla birlikte, sincanlarda melatoninin lokomotor aktivite üzerindeki etkileri hakkında bulgular tutarsızdır ve henüz kanıtlanmamıştır (Raskin ve ark 2007).

Kemirgenler üzerine yapılan diğer çalışmalar melatoninin BAT aktivitesini ve kültlesini artttığını bildirmiştir (Tan ve ark 2011). Bu etkilerin altında yatan mekanizmalar aydınlatılamamıştır ancak çeşitli olası açıklamalar önerilmiştir (Tan ve ark 2011). Melatoninin vücuttaki adipoz doku kültlesini (A); MTR1 ve MTR2 membran reseptörleri vasıtasıyla; (B) noradrenalin turnover üzerine merkezi etkiye; (C) adiposit farklılaşmasından ve mitokondriyal biyojenezden sorumlu büyümeye faktörlerinin düzenlenmesini sağlayan kinaz C'nin doğrudan harekete geçirilmesiyle; (D) kahverengi adipoz hücrelerdeki nükleer reseptörler vasıtasıyla; (E) triiodotironin seviyelerini arttıran eşlenmemiş protein-1'in mitokondriyal aktivasyonu veya tirozin 5'-deiodinaz tip 2 aktivasyonuyla etkilediği öne sürülmüştür (Korkmaz ve ark 2009a, Reiter ve ark 2009, Jou ve ark 2010, Paradies ve ark 2010).

İlginc olarak bir çalışmada, kronik oral melatonin uygulamasının obezite ile ilişkili tip 2 diyabet modellerinden biri olan Zucker diyabetik yağlı (ZDF) sincanlarda ve onların kontrollerinde yağsız zayıf litermatlarında inguinal beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesine neden olduğu bildirilmiştir (Jimenez-Aranda ve ark 2013). Melatoninin, yağsız zayıf litermatlarında sincanlarında inguinal alan ekstraktlarında triiodotironin seviyelerini arttıran eşlenmemiş protein-1 ve termojenik

proteinleri artırdığı da tespit edilmiştir. Böylece, kronik oral melatonin tedavisi, ZDF sıçanlarda beyaz adipoz dokuya BAT benzeri bir işlev kazandırmıştır (Jimenez-Aranda 2013).

Orta yaşlı erkek sıçanlarda yapılan gözlemler, yaşla ilişkili endojen melatonin salınımında azalmanın, enerjinin düzenlenmesini değiştirebileceğini ve yalda istenmeyen metabolik sonuçlar ile birlikte ve vücut ağırlığında bir artış yarattığını göstermiştir (Wolden-Hanson ve ark 2000). Buna karşın, yeterli gece melatonin takviyesi, karın içi yağ, insülin direnci ve davranışta yaşlanmayla ilgili değişikliklere karşı profilaktik önlem olabilir (Rasmussen ve ark 1999, Viogradova ve Anisimov 2013). Bir melatonin agonisti olan NEU-P11 uygulanması, yüksek yağ / yüksek sukroz diyetli sıçanlarda kilo alımını baskılayarak insülin duyarlığını iyileştirmiştir (She ve ark 2009).

Hücresel transkripsiyonun en az %10'unun sirkadiyen bir biçimde değiştiği bilinmektedir. Moleküler çalışmalar, glukoz homeostazı, lipid sentezi, ve adipogenez kontrolü de dahil olmak üzere, saat genleri ve metabolizma regülasyonu arasındaki doğrudan bağlanmayı ortaya koymustur (Shimba ve ark 2005). Pinealektominin, izole pankreatik adacıklar tarafından insülin salınımında günlük bir azalma ve glukoz intoleransı ürettiği ortaya konmuştur (Shimba ve ark 2005). Bu bağlamda, melatoninin leptin ekspresyonunu artırdığı ve insülin varlığında sıçan adipositlerinden salındığını ve insülinin leptin ekspresyonu üzerindeki etkisini artırdığı gösterilmiştir (Shimba ve ark 2005).

Enerji Harcaması Düzenlemesinde Melatonin ve POMC Türevi Peptidlerin Rolü

Proopiomelanokortinin (POMC) türevli melanokortin peptidleri, çeşitli beyin bölgelerinde, özellikle hipotalamusta üretilir ve POMC sistemi olan ve olmayan fare çalışmalarında enerji homeostaziyla ilişkilidir (Yaswen ve ark 1999, Coll ve ark 2004, Millington 2007). Bu sistem, endojen agonistleri ve antagonistleri, melanokortin reseptörleri ve aksesuar reseptör proteinlerini içerir ve leptin, insülin, kalın bağırsak hormonları ve sitokinler gibi diğer faktörler yoluyla enerji homeostazının düzenlenmesinde aracılık eder (Mountjoy 2010). POMC sisteminden türetilmiş tüm peptitlerin olası rolleriyle ilgili bilgiler eksiktir, ancak bu peptitler

eksojen olarak verildiğinde ve beyindeki doğrudan etkileri gözlemlendiğinde kemirgenlerdeki gibi, gıda alımının önlenmesi [adrenokortikotropin hormon “ACTH”, α , β ve γ - melanosit uyarıcı hormon “ α -MSH”, β -MSH ve γ -MSH”], ile ilişkili olduğu kesindir.

POMC sistemi ile obezite ve T2DM'nin düzenlenmesinin altında yatan mekanizmalar ayrıca, memelilerin açlık kontrolünde ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde kritik öneme sahip olan melanokortin 3 ve 4 reseptörlerini (sırasıyla MC3R ve MC4R) içerir (Noguerias ve ark 2007). MC4R'ye bağlı olarak daha yüksek bir bazal metabolik hızın insanlarda obeziteye karşı daha yüksek bir koruma ile uyumlu olduğu gözlelmektedir (Mountjoy 2010). Obez hayvanlar ve insanlarda agouti proteininin etkisi MC4R inhibisyonuyla ilişkilendirilmektedir. Böylece MC4R, hücre içi Ca^{+2} yi artırarak, c-Fos ekspresyonunu aktive ederek ve oksitosin salınımıyla gıda alımını düzenler. Enerji harcamaları ile bağlantılı olarak, kilo artışı, POMC-baskılanmış farelerde, aynı miktarda gıdayı alan normal vahşi farelere göre daha fazladır. Bu da geçmişte daha az enerji harcanmasına bağlanır (SteMarie ve ark 2000). Merkezi MC4R sinyal blokajının iskelet kaslarında ve BAT'da insülin direncini teşvik ettiği fakat (glikoz alımı ve lipogenezin uyarıldığı) beyaz yağ dokusunda etmediği bulunmuştur (Mountjoy 2010).

Son çalışmalar, obez ve diyabetik Zucker sıçanlarında melatonin kapasitesinin, leptin, adiponektin, insülin ve glukoz düzeylerini pozitif olarak düzenlemek için global enerji metabolizmasını iyileştirdiğini göstermektedir (Agil ve ark 2012).

1.1.2. Melatonin ve Hiperglisemi, Dislipidemi ve Postprandiyal Dismetabolizmasının Düzenlenmesi

Melatonin, iki özel reseptörün aktivasyonu yoluyla çevreye olan etkisini uygular: MTR1 ve MTR2. Her iki izoform da Langerhans adacıklarında ifade edilir ve β hücrelerinden insülin sekresyonunu ve α hücrelerinden glukagon salgılanmasını modüle eder. Receptor sinyalleşmesinin desenkronizasyonu T2DM'nin oluşumuna yol açabilir ve genom çapında ilişkilendirme çalışmaları MTR2 aktivasyonunu melatonin bozukluğu için bir risk faktörü olarak tanımlamıştır. Melatonin aynı zamanda adacıkların kan şekeri düzenleyici fonksiyonu üzerinde gündüz etkisine

sahiptir. Diyabetik sığan modelleri üzerine yapılan bir çalışma, melatonin artışı ile insülin düzeylerinin azaldığı ve melatonin ile insülin arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Peschke ve ark 2013).

Melatoninin glikoz metabolizması üzerindeki etkileri yine de tartışmalıdır. Birkaç yazar, melatoninin pankreatik adacıklar üzerindeki etkisinden ötürü insülin ve melatonin arasında yakın bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Peschke 2008, Agil ve ark 2012). Çeşitli çalışmalar, melatoninin farelerde ve sığanlarda glukoz ile indüklenen insülin salınımını azalttığını göstermiştir (Atkins ve ark 1973, Peschke ve ark 2008). Bununla ilişkili olarak, sığanlar üzerinde yapılan çalışmalar, melatonin sentezinde nocturnal artışın artmış insülin ve leptin seviyeleri ile azaldığını ve melatoninin yaşıla ilişkili insülin direncindeki artışı önleyebileceğini ortaya koymuştur (Rasmussen ve ark 2001). T2DM hayvan modelinde melatonin salınımında belirgin bir azalma gözlenmiştir (Goto-kakizaki sığanları), (Peschke 2006). Benzer bulgu T2DM'li insanlarda da bildirilmiştir (Frese ve ark 2009). Diyabetik sığanlar üzerinde yapılan araştırmalar, melatoninin sirkadiyan ritim üzerindeki etkileri yoluyla insülin sekresyonunu değiştirdiğini ve sonuç olarak kan glikoz düzeylerinde azalmaya neden olduğunu ortaya koymuştur (Gorcharova ve ark 2005, Peschke ve ark 2006, Peschke ve ark 2007, Agil ve ark 2012). Yakın zamanda, ZDF sığanlara melatoninin verilmesinin, plazma krom ve vanadyum seviyelerini düşürdüğü (Navorro-Alarcon ve ark 2014) ve bunun glikoz ve insülin metabolizmasını iyileştiren mekanizmalardan biri olabileceği sonucuna varılmıştır (Agil ve ark 2012).

Melatoninde bir azalma T2DM oluşumu ile ilişkilendirilmiştir ve melatonin için β hücrelerinin pankreatik reseptörlerinin insülin sekresyonu üzerinde farklı etkilere sahip üç paralel sinyal yoluna bağlılığı önerilmiştir: (A) Insülin sekresyonunun inhibisyonuna yol açan siklik adenosin monofosfat yolu; (B) Siklik guanozin monofosfat yolunu ve dolayısıyla insülin sekresyonunu inhibe eden MTNR2 yolu; (C) kalsiyumu harekete geçirerek insülini artıran inositol trifosfat yolu (Peschke 2008).

Dislipidemi bakımından, melatonin uygulaması T2DM nin bir ZDF sığan modelinde lipid profilini belirgin derecede iyileştirmiştir ve bu hastalıktaki karakteristik bulgu olan hipertrigliseridemiyi önemli ölçüde azaltmıştır (Sparks ve

ark 1998, Agil ve ark 2011). Benzer bir sonuç obezite indükleyici bir diyette Sprague-Dawley sincanlarda da elde edilmiştir (Agil ve ark 2011). Melatonin, deri altı birikimi etkilemeksizin viseral yağı baskılar (Rasmussen ve ark 1999, Wolden-Hanson ve ark 2000), ayrıca protein lipaz aktivitesini artırmaya insülin duyarlığını iyileştirir ve viseral adipoz dokuda lipolitik aktiviteyi azaltıcı etki ortaya çıkarır (Agil ve ark 2012, Biçer ve ark 2012). Melatonin ile ilişkili diğer etkiler, LDL kolesterolün kan düzeylerinde bir azalmayı ve oksidasyondan korunmayı içerir, bu da indolaminin aterogenezisin önlenmesindeki rolünü destekler (Hoyos ve ark 2000, Sener ve ark 2004, Korkmaz ve ark 2009c, Sener ve ark 2009). Bu etkinin altında yatan mekanizmalar, kolesterol emiliminin engellenmesi, LDL-C reseptör aktivitesinin artırılması, kolesterol sentezinin inhibisyonu ve safra salgısı içine kolesterol atılımını içerir (Mullerwieland ve ark 1994, Chan ve Tang 1995, Bongiomno ve ark 2005). Klinik ortamda, obez ve diyabetik hastalarda terapötik amaç, LDL-C ve triglicerid düzeylerini düşürmek ve HDL-C düzeylerini artırmaktır. Melatoninun dislipidemili diyabetik hastalarda hipolipidemik etkiye sahip olduğu (Hussain ve ark 2004, Ismail ve ark 2004, Al-Mahbashi ve ark 2006) ve peri-ve post-menopozal kadınlarda total kolesterol konsantrasyonlarını değiştirmeden plazma HDL-C düzeylerini artırdığı bildirilmiştir (Al-Mahbashi ve ark 2006). Robeva ve ark (2008) metabolik sendromlu hastalarda yüksek bir melatonin: insülin oranının LDL-kolesterol ile T-kolesterol arasında negatif bir korelasyona sahip olduğunu, aksine HDL kolesterol ile pozitif korelasyon gösterdiğini rapor etmiştir.

Klinik diyabet özelliklerinin gelişmesinden sonra yararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiş olsa da, T2DM başlangıcının önlenmesinde ve ertelenmesinde pineal melatoninun rolü tam olarak aydınlatılamamıştır (Kadhim ve ark 2006, Agil ve ark 2012). Bu bilgilerden yola çıkarak, diyabet ve melatonin ilişkisinin aydınlatılmasında daha ileri çalışmalarla ihtiyaç olduğu söylenebilir. Özellikle klinik olarak belirgin T2DM başlangıcı öncesi, genç hayvanlar veya insanlar (bebekler veya ergenler) kullanarak, bu hastalığa karşı önleyici yaklaşımları konu alan çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

1.1.3. Melatonin ve Oksidatif Stres Regülasyonu

Genel olarak melatonin, hidroksil (OH), peroksil (LOO) ve / veya nitrik oksit (NO) radikal temizleme veya süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz

(GSH-Px), katalaz ya da glutatyon redüktaz (GSH) gibi antioksidan enzimlerin uyarılması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla oksidatif stresi azaltır (Reiter ve ark 1997, Navarro-Alarcon ve ark 2013, Salido ve ark 2013, Oksay ve ark 2014). Yaşlanma süreçlerini açıklamak için önerilen bir teori, reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini ve türevlerini etken maddeler olarak gösterir (Hardeland 2011). Yaşlanma sürecinde lipid peroksidasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, Dimitrev ve Titov (2010), iki karşıt eğilimi tarif etmiştir: melatoninin anti-radikal etkisine atfedilebilen yaşlanma karşıtı bir etki ve toksik aldehitlerin etkisine dayanan yaşlanma önleyici bir etki. Temel araştırmalardan elde edilen bulgular, melatonin uygulamasının bazı hastalıkların ilerlemesini düzeltmek ve bazı yaşlanma bulgularını engellemek için faydalı olabileceğini ve bu gözlemlerin klinik önemini geliştirmek için daha fazla araştırmanın yapılması gerektiğini göstermektedir (Baltaci ve ark 2003, Baltaci ve ark 2005). Bu nedenle, melatoninin yenidoğanlarda oksidatif stres biyobelirteçlerini zayıflatmadı oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Uysal ve ark 2005, Reiter ve ark 2009).

Birçok çalışma, melatoninin bir serbest radikal temizleyici gibi davranışını bildirmiştir (Longoni ve ark 1998, Baltaci ve ark 2005, Baltaci ve ark 2012, Biçer ve ark 2012). Birincil insan kas hücreleri üzerine *in vitro* bir çalışmada, oksidatif stres, insülin sinyalini ve dolayısıyla glikoz alımını şiddetle azaltırken, melatonin desteği doku hasarını azaltarak ortaya çıkan bozuklukları önlemiştir (Sharma ve ark 2015). Konar ve ark (2007) sıçanlarda yüksek bir kadmiyum dozunun neden olduğu oksidatif hasara karşı insülin koruyucu etki bildiren melatonin ve diğer antioksidanlar (E, C vitaminleri ve Se) ile bir destek çalışması gerçekleştirmiştir. Venkataraman ve ark (2010), melatonin desteği, poliklorlu bifeniller gibi nörotoksik maddeler tarafından üretilen artmış oksidatif stres ile ilişkili sinir hasarını önemli ölçüde tersine çevirdiğini bulmuştur. Spesifik olarak melatonin takviyesi, toplam SOD, Zn /Cu'ya bağımlı SOD (sitoplazmik Zn / Cu-SOD), Mn bağımlı SOD (mitokondriyal Mn-SOD) ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdı ve sözü edilen nörotoksik maddelere maruz kalan erişkin sıçanların beyin bölgelerindeki (serebral korteks, cerebellum ve hipokampus) bu enzimlerin mRNA'sını da artırmıştır (Venkataraman ve ark 2010). Melatonin takviyesinin, GSH-Px aktivitesinin artırılmasından önceki bir adım olarak ZDF ve ZL sıçanlarında plazma Se düzeylerini artırdığı rapor edildi (Rodriguez ve ark

2008). Melatoninin, özellikle eritrosit GSH-Px düzeylerinde kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin bir düşüşle beraber (Dilek ve ark 2010), overektomize sıçanlar ve ZDF sıçanlarının plazma ve eritrosit örneklerinde oksidatif stresi önlediği rapor edilmiştir (Agil ve ark 2012). Benzer şekilde Chang ve ark (2008), melatoninin SOD oksidatif reaktivitesini koruduğunu ve bu nedenle de periferik sinirlerde oksidatif hasarı tedavi etmek için potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceğini önermiştir.

Rodriguez ve ark (2008), melatoninin yaşlı dişi farelerde lipid peroksidasyonunu azaltıp, GSH-Px ve GSH enzim aktivitelerini artırarak yaşam süresinin uzatabileceğini önermişlerdir. Aynı çalışmada, melatonin tedavisi ile karşı etkileşime giren farelerde oksidasyona karşı artmış bir mitokondriyal savunmasızlığı dikkat çekilmiştir. Araştırcılar, melatoninin mitokondriyal solunum zincirini ve ATP üretimini farklı deneysel koşullar altında iyileştirerek ve oksijen tüketimini konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak azaltarak, ADP aşırılığının artmasıyla O₂ akışını inhibe ederek ve membran elektrokimyasal potansiyelini azaltarak ve böylece O₂ ve H₂O₂ üretimini inhibe ederek, oksidatif stresin regüle edebileceğini ileri sürmüştür (Rodriguez ve ark 2008). Aynı zamanda, melatonin oksidatif fosforilasyon ve ATP sentezinin etkinliğini korumakta ve solunum komplekslerinin (esas olarak kompleksler I, II ve III) aktivitesini artırmaktadır. Bu etkiler, melatonin varlığına bağlı olabilir ve melatonin ve triiodotironin önce belirtildiği gibi mitokondriyal homeostazın fizyolojik düzenlenmesinde ortaklaşa katıldığı hipotezini destekler (Rodriguez ve ark 2008).

Anti-kanser maddeleri tarafından üretilen oksidatif stres ile ilgili olarak bir sıçan çalışmasında, melatonin önemli ölçüde serbest radikal ürünlerini azaltarak ve karaciğerde antioksidan enzimlerin (GSH-Px, katalaz, GSH ve glutatyon S transferaz "GST") aktivitesini artırarak karaciğer hasarını önlediği rapor edilmiştir (Subramanian ve ark 2007). Othman ve ark (2008) kemoterapötik ajan adriamisin ile melatoninin birlikte verildiğinde, yalnız adriamisin ile tedavi edilen sıçanlarla karşılaşıldığında, katalaz ve GSH-Px aktivitelerini normalize ettiği ve tiyobarbitürük asit reaktif maddelerin ve protein karbonil seviyelerini düşürdüğünü bildirmiştir. Benzer şekilde Schaefer ve Hardeland (2009) bir melatonin metaboliti

olan asetil-5-metoksikiynuraminin, güçlü bir singlet oksijen tutucu antioksidan etkisini bildirmiştir.

1.1.4. Melatonin ve Kan Basıncı Kontrolü

Sistemik kan basıncı değişkendir ve insanlarda uykusu sırasında (%10-20) azalma olduğu bilinmektedir. Kan basıncı, uyandıktan sonra gün ortasına kadar yükselir ve daha sonra kademeli olarak gün boyunca azalır. Bununla birlikte, kan basıncında da nokturnal düşüş hipertansif hastaların, %30-35 inde oluşmaz (Higashi ve ark 2002, Scheer ve ark 2004). Bu koroner arter hastalık, obezite ve insülin direnciyle ilişkilidir sonuç olarak kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi arttırmır (Korkmaz ve ark 2009a, Reiter ve ark 2009). Melatonin desteği sıçan, tavşan ve insanlarda hipertansiyonu iyileştirmiştir (Higashi ve ark 2002, Scheer ve ark 2004, Korkmaz ve ark 2009a, Reiter ve ark 2009). NO eksikliği olan hipertansif obez dişi tavşnlarda, melatonin desteği yüksek kan basıncını normal sınırlara indirmiştir (Hussein ve ark 2007). Melatonin uygulaması ile hipertansif kadınların kan basıncını da azaltmıştır (Nava ve ark 2003). Melatoninin günde 2.5 mg'lık dozu esansiyel hipertansiyonlu erkeklerde kan basıncını normalleştiriken, nokturnal melatonin takviyesi ile tip 1 diyabetes mellituslu (T1DM) kadınlarda da diyastolik kan basıncı üzerinde olumlu bir etki göstermiştir (Scheer ve ark 2004). Bu nedenlerden dolayı indolamin bir antihipertansif ilaç olarak ileri sürülmüştür. Melatonin desteği aynı zamanda gece kan basıncı azalmayanlarda daha büyük bir etkiye sahiptir. 6 hafta boyunca melatonin uygulaması (10mg kg^{-1}) kendiliğinden hipertansif sıçanlarda, böbrek transkripsiyon faktörlerinin azalması ve kan basıncı azalmasıyla ilişkili olarak oksidatif stres ve interstisyel böbrek dokusunun inflamasyonunda azalma oluşturdu (Girouard ve ark 2004). Melatoninin, hayvanlarda norepinefrin konsantrasyonu ve kalp $\beta 1/\beta 2$ reseptör oranını geri kazandırdığı ve mezenterik arter maksimum gevşemesini iyileştirdiği rapor edilmiştir (Girouard ve ark 2004). Ancak, başka bir araştırma grubu, yalnızca orta yaşı erkek ZDF sıçanlarında (günde 10 mg) melatonin takviyesinin sistolik kan basıncını ($p=0,056$) azaltabileceğini rapor etmiştir (Navarro-Alarcón ve ark 2014).

Sürekli ışığa maruz kalan sıçanlarda melatonin eksikliğine bağlı olarak hipertansiyon geliştiği bilinmektedir (Navarro-Alarcón ve ark 2014). Bir çalışmada, sıçanlar melatonin (10 mg kg^{-1} , 24 saat için) ve kaptopril ile takviye edilmiştir (100

mg kg⁻¹ H24 için) ve sürekli ışığa maruz bırakılmıştır; Yazarlar melatoninin desteğinin sürekli ışık kaynaklı hipertansiyonda periferik vasküler direnci azaltabileceği sonucuna varmışlardır (Repová-Bednárová ve ark 2013).

1.2. Nesfatin-1

Nesfatin-1 hormon olarak ilk defa Oh-I ve Shimizu tarafından 2006 yılında tanımlandı. Aynı çalışmada, nesfatin-1'in, leptin salgılanmayan obez farelerde bile, beslenme üzerinde baskılıayıcı etkiye sahip olduğu gösterildi. Bu bulgu, leptin yolağından bağımsız olarak çalışan nesfatin-1'in iştah azaltıcı etkinliğini göstermektedir (Oh-I ve Shimizu 2006). Böylece, nesfatin-1'in leptin gen mutasyonu olan obez bireylerdeki tedavisi, beslenmenin düzenlenmesi nesfatin-1 ilişkisi konusunda artan bir ilgiye yol açtı (Xu ve ark 2003).

Hipotalamus, beslenme davranışının düzenlenmesi ve onunla ilişkili moleküllerin salgılanmasından sorumlu alanları içerir. Nesfatin-1 hipotalamus ve beyin sapından salgılanır ve salınımı açlık sırasında azalır (Oh-I ve Shimizu 2006). Nesfatin-1'in bu özelliği, nesfatin-1'in enerji homeostazının düzenlenmesinde yer aldığına işaret eder (Cowley ve Grove 2006).

İmmünohistokimyasal çalışmalar, nesfatin-1, esterleşmemiş yağ asidi/çekirdek bağlama 2 (NUCB2) öncüsünün, hipofiz bezi, hipotalamus, beyin sapı, ön beyin ve orta beyin çekirdeği, merkezi amigdaloid çekirdek, ventrolateral medulla ve cerebellum gibi birçok yerde lokalize olduğunu göstermiştir (Oh-I ve Shimizu 2006). Buna ek olarak, nesfatin-1, siçanlarda omurilikte torakolumbar sempatik ve sakral parasempatik preganglionik nöronlarda bulunur (Foo ve ark 2008, Stengel ve Tache 2010). Nesfatin-1'in merkezi sinir sistemine ek olarak periferik dokularda bulunduğu da gösterilmiştir (Pan ve ark 2007). Spesifik olarak periferik yağ dokusu, gastrik mukoza, pankreasın beta hücreleri ve testis dokusunda bulunduğu rapor edilmiştir (Stengel ve Tache 2010). Nesfatin-1 sekresyon sonrasında kan beyin bariyerini her iki yönde de geçebilir. Nesfatin-1, intravenöz enjeksiyondan sonra 20 dakika boyunca kan içinde dengelenir (Pan ve ark 2007, Garcia-Galiano ve ark 2010a, Stengel ve Tache 2010).

Çekirdek bağlama 1 (NUCB1), fare genomunda NUCB2 ile % 60 dizi benzerliği paylaşır. NUCB1 fonksiyonu hakkında çok az şey bilinmektedir. Son

zamanlarda doku, hücre ve subselüler seviyelerdeki dağılımı, fonksiyonunu daha iyi anlamamızı sağlayacak bilgiler ortaya kondu (Oh-I ve Shimizu 2006). NUCB1, endokrin hücrelerde yaygın dağılıma sahiptir ve subselüler dağılımı golgi aparatı ile birlikte bulunmuştur. Bu sonuçlar bu molekülün hormon sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynayabileceğinin bir işaretti olarak kabul edilebilir (Oh-I ve Shimizu 2006).

Nesfatin-1, kalsiyum ve DNA bağlayıcı protein NUCB2'den türetilen 82 amino asit (aa) uzunluğunda bir polipeptittir. İnsanlar ve diğer memeli türleri arasında % 85'den fazla bir homolojiye sahiptir ve hatta alt organizmalarla benzerlik gösterir (Gonzalez ve ark 2009). NUCB2 plazma zarında ve nöroplazmada bulunur. NUCB2, posttranslasyonel değişiklikler için birçok parçaya sahiptir. PC3/1 ve PC2 gibi özel prohormon dönüştürücü enzimler NUCB2'yi nesfatin-1, nesfatin-2 ve nesfatin-3 oluşturmak üzere dönüştürürler (sırasıyla: 1-82 aa, 85-163 aa ve 166-396 aa, sırasıyla) (Garcia-Galiano ve ark 2010a, Palasz ve ark 2012). Nesfatin-2 ve 3'nin biyolojik etkinliği hakkında henüz kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Nesfatin-1 üç bölümden oluşur; N-terminali (N23), orta kısmı (M30) ve C-terminali (C29). Orta kısmı nesfatin-1'in aktif bir parçası olarak tanımlanmaktadır. Nesfatin-1'in fizyolojik etkileri, özellikle de anoreksik bir etki için anahtar rolü vardır (Yamada ve ark 2010, Palasz ve ark 2012, Aydın 2013).

İnsan NUCB2 geni 55 kb uzunluğundadır ve 14 ekson ve 13 intron bölgesi vardır. Transkripsiyonun başlatma bölgesi, çeviri bölgesinin başlamasından 246 bp önce gerçekleşir. NUCB2 geni, 5889 bp uzunluğunda, nörondan türetilen hücre dizisinde aktif promoter bölgesine sahiptir. Nesfatin-1, NUCB2 geninin ekson-3 ve 5'i arasında kodlanmıştır (Oh-I ve Shimizu 2006, Yamada ve ark 2010).

1.2.1. Nesfatin-1'in Salgı Alanları

Nesfatin-1 ve öncüsü, hipotalamik olan beyin sapı çekirdeği, supraoptik çukur (SON), lateral ve hipotalamik olan pivot bezi, kavisli (ARC) ve paraventriküler çukur (PVN) gibi merkezi sinir sisteminin birçok farklı bölümünde yer alır. Ayrıca, nesfatin-1'in ön beyin ve orta beyinde, merkezi amigdaloid çukurda, ventrolateral medulla, serebellumda ve ayrıca sıçanlarda torakolumbar sempatik ve sakral parasempatik spinal kord preganglionik

çekirdeklerinde yer aldığı gösterilmiştir (Stengel ve Tache 2010, Goebel-Stengel ve Wang 2013).

Birçok çalışma, nesfatin-1'in, yağ dokusu, gastrik mukoza, endokrin pankreas beta hücreleri ve testis gibi merkezi sinir sistemi dışında periferik dokular tarafından da salındığını göstermiştir. Mide oksintik mukozasında ifade seviyesi, beyinden 20 kat daha yüksek bulunmuştur (Oh-I ve Shimizu 2006, Price ve ark 2007, Gonzalez ve ark 2009, Stengel 2009, Garcia- Galiona 2010, Stengel ve Tache 2010, Goebel ve Stengel ve Wang 2013).

1.2.2. Nesfatin-1 ve Beslenmenin Regülasyonu

Şimdiye kadar, nesfatin-1 yoluyla gıda alımı inhibisyon mekanizması henüz netleşmedi. Beynin farklı yerlerinde nesfatin-1 enjeksiyonunu açıklamak için muhtemel mekanizmalar kullanılmıştır (Cowley ve Grove 2006, Garcia-Galiano ve ark 2010). Nesfatin-1, leptin-reseptör-mutant sıçanlarda besin alımını beynin bir enjeksiyonu ile engelleyebilir (Oh-I ve Shimizu 2006, Stengel ve Tache 2010). Bu nedenle, nesfatin-1'in, leptin yolağından bağımsız olarak, melatonin sistemi aktivasyonu yoluyla gıda alımını engelleyebileceğinin kabul edilmektedir. Bu, nesfatin-1 ile gıda alımı inhibisyon mekanizması için ilk açıklama sunmaktadır (Cowley ve Grove 2006, Garcia-Galiano ve ark 2010a, Stengel ve Tache 2013).

Bu mekanizmanın açıklanması için bir diğer olasılık, nesfatin-1 tarafından oreksigenik bir maddenin doğrudan inhibisyonudur. *In vitro* çalışmalar, nesfatin-1'in, nöropeptit-Y (NPY) sekresyonundan sorumlu olan ARC çekirdeğinde hiperpolarizasyona neden olduğunu göstermiştir. Bu, nesfatin-1'in gıda alımı inhibisyon mekanizması için ikinci açıklama olarak kabul edilmektedir (Cowley ve Grove 2006, Garcia-Galiano ve ark 2010a, Stengel ve Tache 2010). Sıçanlarda intraserebroventriküler (icv) nesfatin-1 enjeksiyonu, karanlıkta gıda alımını doza bağımlı olarak inhibe eder. Aynı zamanda, periferal nesfatin-1 enjeksiyonu gıda alımını engelleyebilir (Cowley ve Grove 2006, Stengel ve Tache 2013). Nesfatin-1'in bloke edilmesi gıda alımını arttırır (Cowley ve Grove 2006). Nesfatin-1'in farklı fizyolojik parametreler üzerindeki eylemlerinin mekanizmalarındaki boşlukları açıklamak için çalışmalar devam etmektedir. Son zamanlarda NPY ve α-MSH, α-MSH ile aktive edilmiş ve sırasıyla induklanmış ve bloke edilmiş sitosolik kalsiyum iyonu yoluyla NPY tarafından inhibe edilen PVN nesfatin-1 / NUCB2 nöronları

üzerinde tartışmalı bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Sedbazar ve ark 2014). Son zamanlarda yapılan bir başka araştırmada, nesfatin-1 / NUCB2 protein seviyelerinin dehidrasyon ile arttığı öne sürülmektedir. Bu yükselme, plazma sodyum konsantrasyonu ve plazma ozmolaritesi ile pozitif korelasyon gösterir (Yoshimura ve ark 2014).

Son zamanlarda nesfatin-1'in mide distansiyonuna duyarlı nöronların aktivitesini ve mide hareketliliğini amigdala'nın merkezi çekirdeğinde melanokortin yolu üzerinden düzenlediği gösterilmiştir (Wang ve ark 2014). Dahası, nesfatin-1, PVN ve lateral hipotalamik alan (LHA) üzerindeki etkisiyle gastrik hareketliliği düzenlemek için bir inhibitör nörotransmitter olarak tanımlanmaktadır (Guo ve ark 2015).

1.2.3. Nesfatin-1 ve Sinir Sistemi

NUCB2'yi ifade eden nöronlar beynin birçok bölgesinde bulunur (Yamada ve ark 2010). Parvosellüler bölgedeki bazı nöronlar (pPVH) bir NUCB2 melanokortin reseptörü eksprese eder ve α -MSH ve agouti'ye bağlı protein (AgRP) liflerinden sinyal alırlar. α -MSH, nesfatin-1'in ekspresyonunu ve salınmasını arttırmır. Bir çalışmada, pPVH'deki NUCB2 nöronlarının nesfatin-1 salımıyla anoreksiyaya neden olduğu rapor edilmiş, ancak bahsedilen çalışmada nesfatin-1'in bu olaydaki etki mekanizması açıklanamamıştır (Cowley ve Grove 2006, Garcia-Galiano ve ark 2010a).

Nesfatin-1'in merkezi salınımı, metabolik aktivitelerdeki değişikliklere bağlıdır. 24 saatlik açlık süresinden sonra, nesfatin-1'in transkripsiyonu ve translasyonu PVH ve SON'da azaltılır. 24 saatlik aç bırakma sonrasında tekrar beslenmenin bir sonucu olarak, nesfatin-1 üretimi ve salgısı SON'da aktive edilir. α -MSH ve serotonin 5-HT reseptör antagonisti gibi anoreksik ajanların periferal enjeksiyonu, kemirgenlerde hipotalamustan salgılanan nesfatin-1 miktarını arttırmır. Oreojenik bir ghrel dozunun çevresel olarak uygulanması, nesfatin-1 salgılayan nöronların ARC çekirdeği aktivitesinde bir artışa neden olur. Dahası, bir tokluk peptidi olan kolesistokininin periferik enjeksiyonu, pPVN ve NTS'de yer alan nesfatin-1 salgılayan nöronların aktivitesinde bir artışa neden olur. Bu bulgular, nesfatin-1'in tokluk sinyallerine giren beslenme peptidlerini etkilediğini göstermektedir (Ramanjaneya ve Chen 2010). Açılığın leptin ve ghrelinin aracılık

ettiği periferik metabolik sinyallerden etkilendiğine inanılmaktadır. Ghrelin, POMC nöronlarının aktivitesini düşürür ve AgRP nöronlarının ARC çekirdeği üzerindeki etkisini arttırmır (Oh-I ve Shimizu 2006). Açığın melanokortin yolakları yoluyla pPVH nöronlarının NUCB2 aktivitesini azalttığını önerilmiştir (Cowley ve Grove 2006, Garcia-Galiano ve ark 2010a, Yamada ve ark 2010).

Bir çalışmada, sıçanlarda nesfatin-1'in bir icv enjeksiyonunun hem böbreklerin sempatik etkinliğini artttığı hem de kan basıncında bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, nesfatin-1'in bu etkiyi belirli bir noktaya kadar doza bağlı bir şekilde gerçekleştirdiği bulunmuştur. Aynı çalışmada nesfatin-1 ile melanokortin yolu arasındaki ilişki ve sempatik sistemin etkinleştirilmesi incelenmiştir. Bu amaçla melanokortin 3/4 reseptör antagonisti SHU9119 kullanılmıştır. Bu uygulama neticesinde nesfatin-1'in kan basıncını yükselten ve sempatik sinir sistemini aktive eden etkileri ortadan kaldırılmıştır. Bu nedenle, nesfatin-1'in merkezi melanokortin sistemi yoluyla böbrekte sempatik sinir sistemi aktivasyonunu gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Tanida 2011).

1.2.4. Nesfatin-1 ve Stres

Stres koşulları altında nesfatin-1'in stres tepkilerinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Stres anoreksiyaya neden olur. Muhtemelen, nesfatin-1, NUCB2 salgılayan nöronları pPVH'de aktive ederek bu etkiyi gösterir. Sonuç olarak; su dengesinin sağlanmasından sorumlu olan, magnoselüler nöronlar ve bu nöronların arka pituiter uzantıları olduğu bilinmektedir. Muhtemelen, bu alandaki NUCB2 nöronlarının düzenleyici fonksiyonları su dengesinden dolaylı olarak etkilenmektedir. Şaşırtıcı bir şekilde mPVH, SON, ARH, lateral hipotalamus/zona interca ve NTS'deki NUCB2 nöronları açlık veya melanokortinden etkilenmez. Bu nedenle, görevleri halen belirsizdir (Garcia-Galiano ve ark 2010a, Stengel ve Tache 2010, Yamada ve ark 2010).

Nesfatin-1'in merkezi seviyesi akut stresle artırılabilir; Nesfatin-1'in kan plazma seviyesi akut stresten etkilenmez (Goebel ve ark 2009, Yoshida ve ark 2010). Son zamanlarda, kronik stresin nesfatin-1'in plazma seviyesini artırabilecegi gösterilmiştir (Yoshida ve ark 2010).

Çeşitli çalışmalar, nesfatin-1'in kaygı ve beslenme davranışları üzerinde düzenleyici bir etki yaptığına işaret eder. Nesfatin-1'in merkezi uygulamasının kaygı davranışlarını artırdığı gösterilmiştir (Merali ve Cayer 2008). Bir başka çalışmada, depresif durumlarda beslenme davranışlarında değişikliğe bağlı olarak serum nesfatin-1 düzeyleri arasındaki fark araştırılmıştır. Nesfatin-1 düzeyleri depresyonlu hastalarda kontrollerden daha yüksek bulunmuştur (Ari ve Ozturk 2011). Bu çalışmalar, nesfatin-1'in anksiyete davranışlarında beslenme davranışlarına etkisinin yanı sıra aracı bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

1.2.5. Nesfatin-1 ve Endokrin Sistem

Beslenme davranışını etkileyen birçok madde, nöroendokrin düzenleyici, otonom kontrol, iç organ fonksiyonları, uyku, duyu durum ve ağrı, beyindeki nesfatin-1 ile ilişkili alanlarda da salgılanır. Dolayısıyla nesfatin-1'in organizmanın diğer fonksiyonlarıyla da ilişkili olduğu söylenebilir. Beslenme yanında, endokrin dokulardaki nesfatin-1'in varlığı hormon salınımında da rol oynayabileceğini düşündürür. Midedeki varlığı ise besin alımının düzenlenmesinde ilave bir rol oynayabileceğini gösterir. Dahası, pankreastaki varlığı nesfatin-1'in insülin ve glukagon aracılı glikoz metabolizmasında da muhtemel bir rolüne işaret edebilir. Periferik dokulardaki nesfatin-1'in varlığı, enerji homeostazı ve nöroendokrin ile ilgili işlevlerde ve ayrıca hipotalamustaki anoreksik sinyalin düzenlenmesinde ayrılmaz bir düzenleyici rolü olduğu fikrini güçlendirir (Garcia-Galiano ve ark 2010a, Yamada ve ark 2010).

Ayrıca, nesfatin-1'in plazmada varlığı, bir hormon görevine sahip olduğunun kanıtıdır (Sedbazar ve ark 2014).

Ergenlik döneminde dişi sincanlarda NUCB2 ekspresyonu artar ve buna paralel olarak luteinleştirici hormon (LH) artışı gözlenir. Yetişkin sincanlarda nesfatin-1 enjeksiyonu, LH seviyesinde bir fark oluşturmaz. Bu sonuçlar nesfatin-1'in ergenliğe geçişte bir role sahip olduğunu düşündürür (Garcia-Galiano ve ark 2010b).

Nesfatin-1'in endokrin sisteme olası rolüne göre, nesfatin-1'in serum seviyelerinin azalması veya artması bir hastalık markeri olarak işlev görebileceğini akla getirir. Bu noktadan hareketle, polikistik over sendromlu (PCOS) hastalarda

serum nesfatin-1 seviyeleri tayin edildi (Deniz ve ark 2012, Ademoğlu ve ark 2014). Ancak bu çalışmalarдан birinde düşük nesfatin-1 konsantrasyonunun polikistik over sendromu (PCOS) gelişiminde rol oynayabileceği ve diğerinde ise tam tersi PCOS'ta daha yüksek nesfatin-1 düzeyinin rol oynayabileceği sonucuna varıldı (Deniz ve ark 2012, Ademoğlu ve ark 2014). Bu fark çalışma dizaynı, hastalar ya da deneysel durumla ilişkili olabilir (Ademoğlu ve ark 2014). Bu farklılıkların genetik varyasyonlara bağlanabileceği ve genetik analizle doğrulanacağı söylenebilir. Bu nedenle de nesfatin-1 geni için polimorfik odağın belirlenmesi, nesfatin-1'in çeşitli hastalıkların gelişimindeki rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir.

1.2.6. Nesfatin-1 ve Diyabet

Bir araştırma nesfatin-1'in anti-hiperglisemik etkisini göstermiştir. Hiperglisemik db/db farelerinde (leptin gen defekti olan fareler), nesfatin-1'in intravenöz uygulanması, kan şekeri seviyesini önemli derecede azaltmıştır. Elde edilen sonuçlar, nesfatin-1'in anti-hiperglisemik etkisinin çevresel olduğunu; zaman, doz ve insüline bağımlı olabileceğini gösterir. Zaten Nesfatin-1'in bu etkisinin insüline bağımlı olduğu bildirildi, çünkü streptozotosin aracılı diyabet modelinde Nesfatin-1 kan glikoz seviyesini düşürmedi (Su ve Zhang 2010). Kan glikoz seviyesinin düşürülmesi için insülin tamamlayıcıdır (Su ve Zhang 2010). Bununla birlikte, nesfatin-1'in kan glikoz seviyesinin düşürülmesi üzerindeki hücre içi mekanizması hala bilinmemektedir. Bu araştırmada, nesfatin-1'in db/db farelerine icv uygulanması sonucunda gıda alımı engellendi, ancak yüksek kan glikoz seviyesi etkilenmedi, bu nedenle bu çalışma nesfatin-1'in anti-hiperglisemik etkisini kanıtladı. Nesfatin-1'in anoreksik ve antihiperglisemik etkileri sırasıyla beslenme ve glikoz metabolizması üzerindeki etkilerle ilişkilidir. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in vücutun metabolik kontrol mekanizmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Metabolik bozukluklarda, özellikle de tip 2 diyabet ve obezite tedavisinde, nesfatin-1'in potansiyel bir terapötik madde olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle nesfatin-1, bu alandaki çalışmaların hedefidir (Su ve Zhang 2010). Diğer çalışmalarдан biri, nesfatin-1'in serbest asit kullanımını stimüle ederek T2DM'de bir rol şekli oynadığını önermiştir (Dong ve ark 2013). Başka bir çalışmada, nesfatin-1, beta hücrelerinde glukagon salınımı için yeni uyarıcı bir madde olarak tarif edilmiştir. Buna ek olarak araştırmacılar, tip 2 diyabette pankreas adacıklarında nesfatin-1'in ekspresyon seviyesinin azaldığını göstermişlerdir ki bu,

hiperglukagonemiyi aşmak için telafi edici bir mekanizma oluşturabilir (Riva ve ark 2011). Bununla birlikte, nesfatin-1'in glikoz ve enerji mekanizması üzerindeki kesin fizyolojik ve fizyopatolojik etkileri halen bilinmemektedir.

1.2.7. Nesfatin-1 ve Bağılıklık Sistemi

Bir araştırma, subaraknoid kanama modelinde, nesfatin-1'in sıçanlarda anti-apoptotik ve antiinflamatuar bir özellik taşıdığını göstermiştir. Deney amaçlı bir subaraknoid kanama geliştirilen sıçanlarda, antioksidan enzim düzeyleri azalırken beyin TNF- α , interlökin-1 β (IL-1 β) ve interlökin-6 (IL-6) seviyeleri yükselmiştir. Plasebo alan gruba kıyasla, nesfatin-1 uygulanan grupta nörolojik bozukluklarda ve oksidatif beyin hasarında daha anlamlı düzelleme vardı. Ayrıca, bazal arterin morfolojik değişikliklerine göre, nesfatin-1 uygulanan grupta düzelleme olmuştur. Nafarkomatoid kanamaya bağlı plazma proinflamatuar sitokinindeki artış, nesfatin 1 uygulanan grupta bastırılmıştır. Bu sonuçlar, nesfatin-1'in oksidatif mekanizmalardan kaynaklanan beyin hasarının önlenmesinde pozitif etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Ozsavcı ve Erşahin 2011).

İlginc olarak son zamanlarda, nesfatin-1'in azalmış serum seviyesinin, anti-inflamatuar aksiyonu ile sonuçlanan obstruktif uyku apne sendromu (OSAS) ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Shen ve ark 2015). Öte yandan, amfizem tipi kronik obstrüktif akciğer (KOAH) hastalarını inceleyen bir çalışmada, NUCB2 / nesfatin-1'in KOAH'ta sistemik inflamasyon ile ilişkili yeni bir faktör olabileceği ileri sürülmüştür (Leivo-Korpela 2014). Nesfatin-1' in iltihaplanma veya anti-inflamatuar fonksiyonu için önemli bir rol oynadığı önerilebilir. Bu nedenle, iltihaplanma süreçleri için nesfatin-1'in anlaşılması daha fazla bilgiyi gerektirir.

1.2.8. Nesfatin-1 ve Kardiyovasküler Sistem

Beyin nesfatin-1 sinyalizasyonu stres koşulları altında kardiyovasküler tepkinin düzenlenmesinde rol oynar; Örneğin, nesfatin-1'in intra-cerebro-spinal enjeksiyonu arteriyel kan basıncını yükseltir (Yosten ve Samson 2009). Melanokortin ve oksitosin reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalarda, nesfatin-1'in beslenme ve artmış kan basıncı üzerindeki etkileri ortadan kaldırılmıştır. PVN'de, oksitosin ile birlikte lokalize olan nesfatin-1, depolarizasyon vasıtıyla oksitosin salınımını uyarır. Nesfatin-1'in oksitosin vasıtıyla melanokortin yolağını

aktive ettiği de bilinmektedir. Bu nedenle, hipertansif etkisinin merkezi oksitosin veya melanokortin yolakları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, nesfatin-1'in bu iki sistemi aynı anda mı, belirli bir düzende mi, yoksa bu ilişkinin diğer bileşenleri üzerinde etkileyip etkilemediğine dair ayrıntılı bilgi bulunmamaktadır (Yosten ve Samson 2009, Garcia-Galiano 2010a, Ramanjenaya ve Chen 2010).

Intravenöz nesfatin-1 uygulamasının, NO üretiminin inhibisyonu yoluyla vazokonstriksiyona yol açarak yüksek kan basıncına neden olduğu gösterilmiştir (Yamawaki ve ark 2012). Son çalışmalardan birinde, kronik periferik nesfatin-1'in, kronik restraint stresli sıçanlarda endotel nitrik oksit sentazın plazma düzeyini özellikle düşürdüğü gösterilmiştir (Ayada ve ark 2015a). Bu sonuçlara göre, kan basıncı üzerindeki kronik periferik nesfatin-1 etkisi endotel oksit sentaz ve NO ile ilişkili olabilir ve vazokonstriksiyon yoluyla da kan basıncını yükseltebilir.

1.2.9. Nesfatin-1 ve L-Tipi Kalsiyum (Ca^{+2}) Kanalları

Sıçanlarda hipotalamik sinir hücresi kültürü ile yapılan bir çalışma, nesfatin-1'in farmakolojik özelliklerinin G proteinine bağlı reseptörlere benzediğini göstermiştir. Nesfatin-1'in intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunu artırdığını gösteren bu çalışmada, kalsiyum kanal alt birimlerinde spesifik inhibitörlerin kullanılması, nesfatin-1 tarafından aktive edilen kanalların L, P ve Q tipi kalsiyum kanalları olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, nesfatin-1'in hipotalamus ve beyin sapi nöronlarında eksprese edildiğini ve bu peptidin hipotalamik sinir hücresi kültürü çalışmalarında G proteini ile birleşmiş reseptörlerle etkileşim sonucu kalsiyumun hücresel olarak alımını stimüle ettiğini önermektedir (Brailoiu ve ark 2007).

Başka bir çalışma, nesfatin-1'in pankreas beta hücrelerinde L-tipi Ca^{+2} kanallarını aktive ederek insülin sekresyonunu artırdığını ortaya koymuştur. Kalsiyumdaki hücre içi artış, protein kinaz A ve fosfolipaz A₂'den bağımsız olarak meydana gelir. Bununla birlikte, bu etki ve voltaja bağlı Ca^{+2} kanalları arasındaki ilişki henüz bilinmemektedir. Hücre içi Ca^{+2} seviyesinin artışı, glikoza bağlıdır. Yemek sonrası plazma glikoz düzeyindeki artış ile nesfatin-1, pankreastaki beta hücrelerinde glikoz tarafından uyarılan intraselüler Ca^{+2} seviyesini yükseltir ve bunun sonucu olarak insülin salınımı artar (Nakata ve Manaka 2011).

Bir başka çalışmada, kronik periferik nesfatin-1 uygulamasının, özellikle kronik stres koşullarında kalp L-tipi Ca^{+2} kanalları $\alpha 1c$ alt birim proteininin ekspresyon düzeyini artırabilecegi rapor edilmiştir (Ayada ve ark 2015b). Eğer böyleyse nesfatin-1'in kalbe olan bu etkisinin kardiyomiyositlerin ciddi hasarına yol açabilecegi sonuç olarak söylenebilir.

1.2.10. Nesfatin-1'in Başlıca Klinik Uygulamaları

Çoğu obez insanda leptin direncinin varlığı bilinmektedir (Myers ve ark 2008). İntraperitoneal nesfatin-1 uygulamasının, leptine dirençli hayvan modellerinde gıda alımını önemli ölçüde engelleyebilecegi gösterilmiştir. Ayrıca obez olmayan farelerde kronik periferik nesfatin-1 uygulamasıyla vücut ağırlığında belirgin bir azalma görülmüştür (Shimizu ve Oh-I 2009). Beslenmeyi baskılamaya katkıda bulunan leptinden bağımsız sinyal sistemi merkezi ve çevresel nesfatin-1 uygulamasıyla indüklenir (Oh-I ve Shimizu 2006, Shimizu ve ark 2007). Nesfatin-1 ve benzerleri leptine dirençli obez insanlarda anti-obezite ilaçlarının olası adayları arasında yer alır. Dolayısıyla, nesfatin-1 obezite ile ilgili bozuklukların tedavisinde potansiyel bir hedef olabilir. Ayrıca, deri altı ve burun içi yollar, deney farelerinin ve sıçan modellerinin kanıtlarına dayalı olarak nesfatin-1'in uygulanması için önerilen yoldur (Shimizu ve ark 2009). Bununla birlikte, bu ön klinik öncesi verilerin daha fazla onaylanmasına ihtiyaç vardır.

Pankreas beta hücrelerinde nesfatin-1 uygulaması sonucu L-tipi Ca^{+2} kanallarının aktivasyonu ile artmış insülin sekresyonu, diabetes mellitus tedavisinde nesfatin-1'in kullanımı için umut vaad eder (Aydın ve ark 2009).

NUCB2 / nesfatin-1'in ergenlik başlangıcını yönlendirmede merkezi bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Hipotalamik NUCB2 ekspresyonundaki artış, pubertal geçiş boyunca bulunurken, mRNA düzeylerinin LHA, PVN, SON'da saptanabilir yükselmeleriyle birlikte toplam protein içerisinde üç kat artış gözlenmiştir (Garcia-Galiano ve ark 2010b). Bu sonuçlar NUCB2 / nesfatin-1'in kadın ergenlik kontrolünde yer aldığı desteklemektedir.

Aydın ve ark (2009) yaptığı bir çalışmada, epilepsi teşhisi konmuş olan hastalarda, nesfatin-1'in tükrük ve serum düzeyleri, yakın zamanda epilepsi tanısı alan hastalarda kontrollerden 160 kat daha fazla bulunmuştur ve anti epileptik

tedaviden sonra, 10 kat artış olmuştur. Bu artış epileptik hastalarda nesfatin-1'in salya ve serum düzeylerinde gözlenmiştir. Bu nedenle yüksek nesfatin-1 düzeylerinin epilepsi patofizyolojisine katkıda bulunabileceği ve nesfatin-1'in hem epilepsi tanısında, hem de antiepileptik tedaviye yanıtın izlenmesinde aday bir biyobelirteç olabileceği ileri sürülmüştür (Aydın ve ark 2011). Sonuç olarak, nesfatin-1, epilepside bir biyobelirteç olarak umut vericidir. Bunun yanında, nesfatin-1'in, epileptik aktiviteye neden olduğu ve bilinmeyen bir mekanizma ile bağımsız olarak glutamat ve/veya gama aminobütirik asit (GABA) yoluyla penisiline bağlı epileptik aktiviteyi artttığı gösterilmiştir (Erken ve ark 2015).

Olumlu klinik etkilerinin yanı sıra, çalışmalar nesfatin-1'in olumsuz klinik etkilerini de bildirmiştir. Örneğin; otonom sinir sistemi aktivitesini uyarmak için nesfatin-1'in yeni bir eylemi tanımlanmıştır (Yosten ve Samson 2009). Nesfatin-1'in icv enjeksiyonunun böbrek sempatik sinir aktivitesini uyardığını ve merkezi melanokortin sistemi yoluyla kan basıncını önemli ölçüde artttığını göstermiştir (Tanida ve Mori 2011). Yosten ve ark (2009) yaptığı bir çalışmada, nesfatin-1'in icv uygulamasından sonra ortalama arter basıncında belirgin artışlar gözlemlendi ve nesfatin-1'in sempatik sinir aktivitesini stimüle etmek ve ortalama arter basıncını artttmak için merkezi melanokortin sistemi ile etkileşime girebileceği öne sürüldü (Yosten ve Samson 2009). Literatürde görüldüğü gibi intraserebral olarak nesfatin-1 uygulaması hipertansiyonu indüklemektedir ve bu da merkezi kardiyovasküler kontroldeki rolünü göstermektedir (Angelone ve ark 2013). Bugün, hipertansiyonun kardiyovasküler hastalıkların en önemli risk faktörlerinden biri olduğu bilinmektedir (Vaněckova ve ark 2014). Bu açıdan, nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki artırıcı etkisi, özellikle kardiyovasküler hastalıkları olan hastalar için olumsuz bir faktördür.

Bir doyma peptidi rolü dışında, nesfatin-1, anksiyete ile ilgili cevapların arabuluculuğunda yer alabilir. Yakın tarihli bir çalışmada, nesfatin-1'in merkezi uygulamasını takiben, kaygı davranışında bir artış görülmüştür. Ne var ki, nesfatin-1 ile anksiyete gibi stresle ilişkili davranışlar arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Yoshida ve Maejima 2010).

Son zamanlarda nesfatin-1, T2DM hastalarında (Liu ve ark 2014) ve yaşılanmada (Li ve ark 2014), enerji dengesi ve glikoz metabolizmasındaki önemli rolü nedeniyle tiroid fonksiyonu için bir düzenleyici faktör olarak tanımlanmıştır.

Mevcut bilgilerin kısıtlılıkları ve daha fazla incelenmesi gereken konular

Hipotalamik peptid nesfatin-1'in anoreksijenik etkisi belirlenmiş olsa da, hipotalamik nesfatin-1'in anoreksijenik eyleminde yer alan nesfatin-1, kortikotropin salıcı faktör, oksitosin ve melanokortin yolakları arasında yakın zamanda kurulan çapraz-ilişki, daha da açıklığa kavuşturulmalıdır. Ek olarak, nesfatin-1'in biyolojik fonksiyonların düzenlenmesine ve diğer nöropeptidlerle etkileşimine katılımı hala araştırılmaktadır (Stengel ve Tache 2010).

Buna rağmen nesfatin-1'in biyolojik etkileri ve dokulardaki endojen NUCB2 / nesfatin-1'in ekspresyonu üzerine yoğunlaşan çalışmaların sayısının artmasına rağmen, bu etkilere aracılık eden reseptörler hakkında bilgi sınırlıdır. Bu nedenle, NUCB2/nesfatin-1 sinyalizasyon sistemini anlamak için temel bileşenler ile beyindeki ve çevredeki olayların düzenlenmesindeki moleküller mekanizmaların açıklanması gereklidir (Stengel ve Tache 2010).

Dolaşan nesfatin-1'in kan-beyin bariyerini geçebileceğinin ve leptinden bağımsız bir şekilde beslenme davranışının merkezi düzenlemesine dahil olabileceği bilinmemektedir. Bununla birlikte, dolaşımındaki nesfatin-1'in genel dolaşımındaki kaynağı hala bilinmemektedir (Pan ve ark 2007, Price ve ark 2007). Stengel ve ark (2009) yaptığı bir araştırmada, nesfatin-1'in tek bir icv enjeksiyonunun, 24 saatlik kümülatif gıda alımını modüle etmemekle birlikte sıçanlarda vücut ağırlığını azalttığını gösterilmiştir. Bu bulgu, nesfatin-1'in enerji harcamasını artırmak için merkezi bir eyleme sahip olduğunu gösterirse de, eylem mekanizması daha fazla incelenmeye ihtiyaç duyuyor (Stengel ve ark 2009).

1.3. Ghrelin

Obezite, TD2M, hiperlipidemi, hipertansiyon ve ateroskleroza yol açması nedeniyle dünyada en ciddi toplum sağlığı problemidir. Bu nedenle besin alımının ve enerji dengesinin düzenlenmesindeki moleküller mekanizmaların açıklanması kritik önemdedir. Bu moleküller olayların düzenlenmesinde rol oynayan bazı maddeler obezitenin önlenmesine odaklanan tedaviler için yeni bilgilere ulaşmamızı sağlayabilir. Sıçan mide ekstraktlarından elde edilen 28 amino asitlik bir peptid olarak 1999 yılında keşfedilen ghrelin, böyle bir maddenin adaylarından biridir (Kojima ve ark 1999). Ghrelinin karakteristik yapısı, orta zincirli yağ asidi yan zincirinin Ser3'e sahip olmasıdır ve bu yapı ghrelin

fonksiyonu için gereklidir. Ghrelin reseptör agonistleri, büyümeye hormonu salgılatıcılar önceden sentezlendiğinden ghrelinin bazı fizyolojik reaksiyonları kolayca tahmin edilmiştir (Bowers ve ark 1980, Bowers ve ark 1984, Cheng ve ark 1993, Patchett ve ark 1995). Sonuç olarak, ghrelin araştırması kısa sürede hızla gelişmiş ve ghrelinin büyümeye hormonu (GH) salınımı ve iştahın uyarılması ve yağ birikimi gibi çeşitli fonksiyonları ortaya çıkmıştır. Bu yüzden, ghrelin sekresyonunun anormalliliği çeşitli metabolik bozukluklara neden olduğundan ghrelin sekresyonunun mekanizmalarını anlamak gereklidir (Kojima ve ark 1999, Tschop ve ark 2000, Nakazato ve ark 2001).

Son zamanlarda, ghrelinin açılı modifikasyonunu katalize eden enzim keşfedilmiş ve ghrelin-O-açılı transferaz (GOAT) olarak adlandırılmıştır. GOAT'ın keşfi, ghrelinin biyosentezi ve sekresyon mekanizmalarını anlamamızı sağlar, çünkü GOAT dinamikleri ghrelinin aktivitesini tayin eder (Yang ve ark 2008). Açılı-modifikasyon (GOAT) enzimi tarafından peptid hormonunun (ghrelin) salınım regülasyonu, memelilerdeki tek sistem olduğundan GOAT'ın yeni bir ilaç tasarım hedefi haline gelebileceği söylenebilir. Böylece, ghrelinin sekresyon mekanizmaları, fizyolojik fonksiyonu, yapısı, ghrelin reseptörü (büyümeye hormonu salgı uyarıcı reseptörü; GHS-R ve GOAT) son zamanlarda netleşmeye başlamıştır. Daha sonra, ghrelinlarındaki temel bilgilere dayanarak, obezitenin gelişmesinde ve/veya korunmasında ghrelinin rolünü açıklığa kavuşturmanız gerekmektedir.

1.3.1. Ghrelinin Yapısı

İnsan ghrelin geni 3p25-26 kromozomunda lokalizedir ve hem insan hem de fare ghrelin genleri 5 ekzondan oluşur (Smith ve ark 1997, Tanaka ve ark 2001, Kanamoto ve ark 2004). Fonksiyonel ghrelin peptidi ekzon 1 ve 2'de kodlanır. Yirmisekiz amino asit rezidüsünden oluşan ve Ser3'ü oluşturmak için n-oktanoillenen olgun ghrelin peptidinin bu özelliği, peptid hormonları arasında olağan bir durum değildir (Kojima ve ark 1999). Bu modifikasyon, memelilerde ilk bilinen durumdur ve GH salınımının ve iştahın uyarılması ve yağ birikimi gibi ghrelinin aktivitesi için gereklidir (Kojima ve ark 1999, Tschop ve ark 2000, Nakazato ve ark 2001). Ghrelin birçok türde tanımlanmıştır ve ghrelinin amino asit sekansları insan, rat, fare, rhesus maymun, moğol kemirgeni, inek, domuz, keçi, koyun ve köpek dahil olmak üzere memeliler arasında iyi korunmuştur. Özellikle, NH₂-terminalindeki 10

amino asit aynıdır ve bu NH₂-terminal bölgesinin ghrelin aktivitesi için önemli olduğunu gösterir (Kaiya ve ark 2001, Tanaka ve ark 2001, Tomasetto ve ark 2001, Kaiya ve ark 2002, Kaiya ve ark 2003a, 2003b, 2003c, Angeloni ve ark 2004, Ida ve ark 2010).

Ghrelinin açıllanmemiş formu olan, des-açıl ghrelin hem midede hem de kanda önemli seviyelerde mevcuttur (Hosoda ve ark 2000). Ancak des-açıl ghrelin, sıçanlarda hem GHS-R'yi bağlayamaz hem de GH-salinim aktivitesi sergileyemez (Kojima ve Kangawa 2005). Genom veri tabanı, GHS-R'ye benzeyen başka bir G-protein bağlı reseptör (GPCR) içermeden dolayı des-açıl ghrelinin GPCR'in bağımsız mekanizmaları gibi davranışları muhtemeldir.

1.3.2. Klasik Büyüme Hormonu Sekretagog Reseptörü (GHSR)

İnsan ghrelin reseptör geni, q26-27 pozisyonunda kromozom 3'te tanımlanmıştır (Howard ve ark 1996). Ghrelin reseptörü, GHS-R, yedi transmembran domainine (7TM) sahip tipik bir GPCR'dir; İki ayrı mRNA olarak eksprese edilir (Smith ve ark 1997). İlk, GHS-R tip 1α, ghrelin reseptörü rolü ile uyumlu bağlanma ve fonksiyonel özelliklere sahip 7TM GPCR'yi kodlar. Diğer GHS-R mRNA, tip 1β, alternatif bağlama ile üretilir. GHS-R geni iki ekzondan oluşur; ilk ekzon TM1-TM5 kodlar ve ikinci ekzon TM6-TM7'yi kodlar. Tip 1β, yalnızca ilk ekzondan türetilir ve yedi olarak tahmin edilen TM domainlerinin sadece beşini kodlar. Tip 1β reseptörü bu nedenle tip 1α reseptörünün COOH-terminali kesilmiş halidir ve fizyolojik olarak inaktiftir.

GPCR'ler arasında ghrelin reseptörü, motilin reseptörüne en benzer olanıdır. 28 amino asit peptid ghrelin ve 19 amino asit motilininin aynı sıraya getirilmesi, bunların sekiz özdeş amino asidi paylaştığını göstermektedir (Feighner ve ark 1999, Smith ve ark 2001). Ghrelin keşfinden sonra, motilinle ilgili peptid (MTLRP) tanımlanmıştır; MTLRP'nin amino asit dizisi, ghrelinkiyle aynıdır (Tomasetto ve ark 2000). Ghrelin reseptörü, memeli, kuş ve balıkların çoğunu içeren incelenen tüm omurgalı türler arasında iyi korunmuştur. Bu sıkı koruma, ghrelinin ve reseptörünün önemli fizyolojik fonksiyonlara hizmet ettiğini düşündürmektedir.

1.3.3. Ghrelin Rezeptör Agonistleri

Çeşitli ghrelin agonistleri çeşitli endikasyonlar için geliştirilme aşamasındadır. Örneğin, bir son aşama 2 α agonisti, randomize, çift-kör, 28 günlük ghrelin rezeptörü TZP-102 çalışması diyabetik gastroparez semptomlarında azalma göstermiştir (Ejskjaer ve ark 2013). Ghrelin rezeptörü agonistlerinin diğer hedefleri kanser, kaşeksi, ameliyat sonrası ileus ve opioid-indüklü bağırsak fonksiyon bozukluğunu kapsar (Depoorter 2009). Ghrelin analogları BIM-28125 ve BIM-28131 uygulamasının etkilerini araştırmak amacıyla konjestif kalp yetmezliği olan bir sığan modeli kullanılan çalışmada; placebo ile tedavi edilen sığanlar hiç yağ kazanmazken (ama sadece yağsız kütle), aktif bileşikler yağ ve yağsız kütle kazanımını indüklemiştir (Palus ve ark 2011). Yeni bir çalışmada Lenk ve ark (2013) da konjestif kalp yetmezliği bulunan sığan modelinde, aynı analogların sığanların iskelet kaslarında önemli ölçüde miyostatin ekspresyonunu artırdığını göstermiştir. Sağlıklı gönüllü insan çalışmásında, oral ghrelin agonisti ve GH sekretagog RC-1291, doz sınırlayıcı yan etkiler olmadan vücut ağırlığında doz ile ilişkili artışlar elde edilmesi sonucunda, aynı araştırmacılar bunun RC-1291 kanserle ilişkili kaşeksi ve anoreksiya için etkili bir tedavi olabileceğini öne sürmüşlerdir (Garcia ve Palvino 2007).

1.3.4. Ghrelin Rezeptör Antagonistleri

Çeşitli farmakolojik ajanlar ghrelin etkilerini ortadan kaldırmak için araştırılmaktadır. Ghrelin rezeptör antagonistleri bu maddelere bir örnektir. Beck ve ark (2004), ghrelin rezeptör antagonisti (D-Lys)-GHRP-6'nın fa/fa obez Zucker sığanlara uygulanmasını kapsayan çalışmalarında; bahsedilen antagonistin sığanlarda gıda alımını azalttığını tespit etmişlerdir (Beck ve ark 2004). Dahası, bu antagonist, ob/ob farelerde enerji alımını, gastrik boşalma hızını ve vücut kilo alımını da azaltmıştır (Asakawa ve ark 2003).

Esler ve ark (2007), aynı zamanda ghrelin antagonisti YIL-781'in, sadece diyetle uyarılan obeziteye sahip bir fare modelinde yağ kütlesini azaltmasının yanı sıra, aynı zamanda glikoz ile uyarılan insülin salınımını artırarak direk olarak glikoz homeostazını iyileştirdiğini göstermişlerdir. Piperidin-ikameli kinazolinon türevleri, optimize edilmiş piperazin-bisamit analogları ve karbohidrazid türevleri dahil olmak üzere çeşitli bileşikler ghrelin rezeptör antagonistleri olarak tanımlanmıştır (Solomou ve Korbonits 2014). GHSR1 α antagonistlerinin bu sınıfı, tip 2 diyabet ve metabolik

sendromda olduğu gibi obezite tedavisinde farmakolojik ajanlar haline gelebilir. Bununla birlikte, obezite açısından daha fazla uzun süreli dönemler, insan ve hayvan çalışmalarında ghrelin antagonistlerinin yararlı etkilerini araştırmak için gereklidir.

1.3.5. Ghrelin Rezeptörü Ters Agonistleri

Ghrelin reseptör GHSR1 α yüksek yapısal aktivitesine sahiptir (Delporte 2012). Bu ters ghrelin reseptörü agonistlerinin, bu yapısal aktiviteyi azaltarak şişmanlığın tedavisinde yararlı olabileceği öne sürülmüştür (Solomou ve Korbonits 2014). Dahası, plazma ghrelin düzeyleri düşük olduğunda reseptörün yapısal etkinliği yemekler arasında yüksek olabilir hipotezi ortaya atılmıştır; Bu nedenle, bu ghrelin reseptörü antagonistleri, akut ögün öncesi ghrelin sinyalini engellemek için kullanılabilir ise de, ters ghrelin agonistlerinin yüksek yapısal aktiviteyi engelleyeceği önerilmiştir (Solomou ve Korbonits 2014). Bileşik [D-ARG1 D-Phe5, D-Trp7,9, Leu11] P maddesi, düşük seviyede-tesirli antagonisti, olarak belirlense de ghrelin reseptörü üzerine yüksek güçlü tam ters agonist olarak tanımlanmıştır (Holst ve ark 2006). Obezite tedavisinde ghrelin reseptörü ters agonistlerinin faydalı etkisini araştırmak için uzun süreli hayvan ve insan çalışmaları gereklidir.

1.3.6. Ghrelin O-Asetiltransferaz (GOAT)

Açılı ghrelinin yan zinciri, orta zincirli yağlı asitlerinden (MCFA'lar) oluşur ve yeni keşfedilen GOAT enzimi tarafından post-translasyonel olarak ghreline bağlanır (Yang ve ark 2008). Ghrelin açılı modifikasyonunu katalize etmek için, GOAT'ın optimum sıcaklığı 37-50 °C'dir ve optimum pH aralığı pH 7-8'dir (Ohgusu ve ark 2009). Modifiye olmuş MCFA'ların seviyesini değiştirmeden açılı modifiye ghrelin üretimini spesifik olarak arttırır (Nishi ve ark 2005). Fareler ya MCFA'ları yada MCT'leri aldığında, yeni doğan ghrelin moleküllerine bağlanan açılı grubu, alınmış MCFA'ların ya da MCT'lerinkine karşılık gelir (Nishi ve ark 2005). Dahası, doğal olmayan bir ghrelin formu olan n-heptanoil (C7:0) ghrelin, n-heptanoik asit veya gliseril triheptanoat alımını takiben farelerin midelerinde üretilebilir (Nishi ve ark 2005). Bu nedenle, alınan yağ asitlerinin doğrudan ghrelinin açılı modifikasyonu için kullanıldığı açıklıktır.

1.3.7. Obestatin

Zhang ve ark (2005)ları beyin ventrikülleri içine veya periferik olarak enjekte edildiğinde farelerde gıda alımını inhibe etme yeteneği için obestatin denilen bir biyoinformatik teknik kullanılarak ghrelin peptid öncülünden türetilen 23 amino asit peptidi tanımlamıştır. Ayrıca, yazarlar, obestatinin periferik enjeksiyonunun ghrelinin in vivo beslenmeye yönelik uyarıcı etkilere karşı olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla, obestatinin bu keşfi bağırsak peptid alanına heyecan verici yeni anlayışlar katabilecektir (Gourcerol ve ark 2006, Holst ve ark 2007, Yamamoto ve ark 2007).

1.3.8. Ghrelin'in Dağılımı, Regülasyonu ve Fizyolojisi

Ghrelin salgılayan organın ana kaynağı midedir. Ghrelin, yetişkin oksintik bezlerde endokrin hücre popülasyonunun yaklaşık %20'sini oluşturan X/A benzeri hücrelerde bulunur (Date ve ark 2000). Ghrelin-immüno-reaktif hücreler duodenum, jejunum, ileum ve kolonda da bulunur. Bağırsakta ghrelin konsantrasyonu duodenumdan kolona giderek azalır. Hipotalamus ve pankreas aynı zamanda ghrelin üreten organlardır ve ghrelin mRNA'sı diğer dokularda da eksprese edilir (Date ve ark 2002, Sato ve ark 2005).

Ghrelin yalnızca periferal dokulardan alınan açlık sinyalidir. Ghrelin'in intravenöz ve subkutan enjeksiyonu gıda alımını artırır. Benzer şekilde periferik olarak enjekte edilen ghrelin, hipotalamik nöronları ve besin alımını uyarır (Hewson ve Dickson 2000, Tschop ve ark 2000, Nakazato ve ark 2001). Periferal ghrelinin kan beyin bariyerini geçme oranının çok düşük olduğu gösterildiğinden, periferik ghrelin dolaylı bir yol izleyerek uygun hipotalamik bölgeyi aktive etmelidir. GHS-R, sıçan nodoz ganglionunda vagal afferent nöronlar üzerinde lokalize olur. Daha sonra mideden ghrelin sinyalleri vagus siniri vasıtıyla beyne iletılır (Date ve ark 2002). Buna ek olarak, vagotomi ghrelinin yiyecek alımını uyarma yeteneğini engeller (Date ve ark 2002). Spesifik bir afferent nörotoksin olan kapsaisin, duyusal denervasyona neden olması için vagus sinir terminallerine uygulandığında da benzer bir etki gözlemlenir. Yine, orgazmatik vagotomi veya atropin tedavisi ile açılığa bağlı plazma ghrelin yükselmesi tamamen ortadan kaldırılmıştır. Dahası, subdiyafragmatik vagotomi veya atropin tedavisi ile açılığa bağlı plazma ghrelin yükselmesi tamamen ortadan kaldırılmıştır (Williams ve ark 2003). Periferal ghrelin sinyalinin bir

kısmı vagus siniri vasıtasyyla NTS'den hipotalamusun kavisli çekirdeğine ulaşır (Date ve ark 2006). Daha sonra ghrelin öncelikle midede açlık ve açlığa tepki olarak üretilir, kanda dolaşır ve periferik bir sinyal olarak görev yapar ve beslenmeyi teşvik etmek için merkezi sinir sisteminin kavisli çekirdeğini (vagus siniri aracılığıyla) bilgilendirir. İntraserebroventriküler ghrelin enjeksiyonu da kümülatif yiyecek alımını artırır ve vücut ağırlığında artışa sebep olan enerji tüketimini azaltır. İmmünohistokimyasal analizler, ghrelin içeren nöronların iştahın düzenlenmesinde rol alan hipotalamusta ARC de bulunduğunu göstermektedir (Kojima ve ark 1999). Bu lokalizasyon, gıda alımı kontrolünde hipotalamik ghrelinin rolü olduğunu düşündürmektedir. ARC'de, bu ghrelin içeren nöronlar, oreksigenik peptitlerin salınmasını uyarmak için NPY ve agouti ilişkili protein (AgRP) eksprese eden nöronların üzerine ve anoreksijenik peptidin salınmasını bastırmak için proopiomelanokortin nöronlar üzerine efferent fiberler gönderirler (Cowley ve ark 2003). ARC aynı zamanda yağ dokularında üretilen bir iştah baskılayıcı hormon olan leptinin bir hedefidir (Flier 2004). NPY ve AgRP'nin iştah uyarıcı etkileri doğrudan leptin tarafından engellenir. Ghrelinin oreksijenik etkisinin en azından bir kısmı, bu kuvvetli iştah uyarıcılarını kodlayan genlerin aşırı regülasyonu ile sağlanır.

Ghrelinin bazı deneylerde insülin sekresyonunu inhibe ettiği ve diğerlerinde insülin salınımını uyardığı gösterilmiştir (Adeghate ve Ponery 2002, Date ve ark 2002, Lee ve ark 2002, Reimer ve ark 2003). Hem plazma ghrelin hem de insülin seviyeleri kan şekeri seviyesinden etkilenir. Yüksek glikozda ghrelin salımını baskılar ve insülin salımını uyarır (Date ve ark 2002). Ghrelinin, kültürlenmiş adacık (islet) hücrelerinden bağımsız olarak insülin salımına neden olabilecek yüksek seviyelerde glukoz (8,3 mM) varlığında insülin salımını uyardığı rapor edilmiştir (Date ve ark 2002). Buna karşılık, ghrelin, bazal glikoz seviyesi (2,8 mM) bağlamında insülin salımını üzerinde hiçbir etkiye sahip değildir. İnsanlarda ghrelin hiperglisemiye neden olur ve insülin sekresyonunu azaltır (Broglio ve ark 2001). Ghrelin fonksiyonunun antagonizması, farelerde yüksek yağılı diyetle obezitede artan insülin ihtiyacını karşılamak için insülin salımını artırabilir (Dezaki ve ark 2006). Böylece, pankreatik adacıklardan orjinlenen ghrelin, glikozla uyarılan insülin salımının fizyolojik bir düzenleyicisidir.

Fonksiyonuna uygun olarak GOAT mRNA, temel ghrelin salgılayan doku

olan mideyle sınırlıdır. Açlık ve tokluk, GOAT aktivitesini ghrelin seviyeleri olarak düzenleyebilir (Cummings ve ark 2001). Diyet lipidleri, GOAT'ın aktivasyonu için ve dolayısıyla yabani tip farelerde ghrelin asilasyonunda kritik öneme sahiptir. Yani %10 orta zincirli trigliserid içeren bir diyetle verilen GOAT yoksunu fareleri, yabani tip farelere kıyasla daha düşük yağ kitlesi ile açıklanabilen daha düşük vücut ağırlığı sergilemiştir (Kirchner ve ark 2009). Buna ek olarak, GOAT transgenik farelerin sadece orta zincirli bir trigliserid takviyesi ile beslenmesi, büyük miktarda açılı ghrelin üretmiştir (Kirchner ve ark 2009).

1.3.9. Ghrelin ve Beslenmenin Düzenlenmesi

Mevcut kanıtlar ghrelinin, sağlıklı bireylerde iştahın ve enerji dengesi düzenlenmesinde olduğu kadar, obezite ve yeme bozukluklarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ghrelin etkileri, ödül temelli yeme kontrolünü içeren non-homeostatik olduğu kadar, (hipotalamus üzerinde esas olarak etkili hormonların kontrolü altında) homeostatik de olabilir. Patolojik durumlarda, obezlerde olduğu gibi ghrelin normalden daha düşük olabilir veya Prader Willi sendromu, anoreksiya nervosa, bulimia nervosa ve kaşeksi belirli türleri için rapor edildiği gibi, normalden daha yüksek olabilir.

Gelecekte, bir klinik hedef olarak ghrelin kullanımı umut verici görünüyor. Bu ghrelin nötralizasyonunda olduğu gibi (örneğin; aşilar ve spiegelmers) farmakoterapilerin (örneğin, ghrelin uygulaması, ghrelin agonistleri / antagonistleri / ters agonistler, GOAT inhibitörleri gibi) kullanımını içerebilir. İleri çalışmalar ve büyük klinik çalışmalar, ghrelinin gelecekte klinik pratikte oynayabileceği rolü tamamen belirlemek için gereklidir.

Ghrelin'in ilk tanınmış etkisi, ön hipofiz bezinin somatotrop hücrelerinden GH salınınının uyarılmasıydı. Ayrıca, merkezi olarak veya vagal afferentler vasıtasyyla görev alarak, ghrelin, oreksigenik peptidler NPY ve agouti ile ilgili peptidi salgılayan hipotalamik arkuat nöronları aktive edebilir ve α-MSH salgılayan anoreksijenik nöronları inhibe edebilir. Arkuat nöronlar, ghrelinin oreksijenik etkilerine katkıda bulunabilen lateral hipotalamustaki oreksinin yanı sıra paraventriküler, lateral hipotalamik ve diğer çekirdeklerde yansır (Ogiso ve ark 2011). Ghrelin, hipotalamik yolaklar üzerinde hareket ederek oreksigenik etkileri indükleyebilen ilk bilinen periferik hormondur. Dahası, sadece beyine enjekte

edildiğinde aktif olan en oreksigenik peptidlerin aksine periferal uygulamayla bile aktiftir. Ghrelin, bu hormonlara kıyasla zıt etkiler uyguladığı için, insülin ve leptinin periferal karşılığı olarak düşünülür. Sağlıklı gönüllüler üzerine yapılan bir çalışma ghrelin'in glikozla uyarılan insülin sekresyonunu azaltarak, glikoz toleransının bozulmasına yol açtığını ortaya koymuştur (Tong ve ark 2010). Ayrıca, CODING çalışmasının sonuçları, dolaşımındaki yüksek ghrelinin, genel popülasyonda daha düşük insülin direnciyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Amini ve ark 2012). Ek olarak, Tong ve ark (2010), ekzojen olarak infüze edilen ghrelinin fizyolojik konsantrasyonlarının sağlıklı insanlarda insülin duyarlığını etkilemeden insülin salınımını azalttığını göstermişlerdir ki, bu da ghrelin antagonizmasının β -hücre fonksiyonunu iyileştirebileceğini göstermektedir.

Tschop ve ark (2000), periferik günlük ghrelinin, farelerde ve sincanlarda yağ tüketimini azaltarak kilo alımına neden olduğunu göstermiştir; bu, ghrelinin yağ dokusunda ve vücut ağırlığında bir artışa neden olduğuna bir delildir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, ghrelin'in yağ oksidasyondaki hız sınırlayıcı basamağı, karnitin palmitoil transferaz-1alfa, ekspresyonunu azaltırken, yağ depolama enzimlerinin mRNA ekspresyonunu arttırdığı bulguları da elde edilmiştir (Theander-Carrillo ve ark 2006). Bu sonuçlar ghrelinin yağ tüketiminden karbohidratlara bir metabolik geçiş oluşturduğunu, buna karşın enerji harcamasının etkilenmediğini de düşündürmektedir .

Ghrelinin insanlarda besin tüketimi için bir başlatıcı sinyal olarak görev yaptığı önerilmiştir. 24 saatlik periyot boyunca tekrarlanan plazma örneklerinde, plazma ghrelin düzeylerinde belirgin bir preprandiyal yükselme ve postprandiyal düşüş elde edilmiştir; bu durum; ghrelinin, yemek başlatmada fizyolojik bir etkiye sahip olabileceğini gösterir (Cummings ve ark 2001).

Daha yakın zamanlarda, glukagon ve ghrelin arasında önemli bir etkileşim gösterildi. Glukagonun doyuma neden olduğu mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır ve hipotalamo-pitüiter seviyede toplam ghrelinde glukagonun indüklediği azalmanın bu etkiden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Arafat ve ark 2013).

GHSR1 α , ventral segmental alan (VTA) ve nükleus akumbens (NAc) içeren mezolimbik sistemin çeşitli düğümlerinde ifade edilir. Dopaminerjik VTA nöronlarının % 50'den fazlası GHSR1 α 'yı birlikte eksprese eder ve dopaminerjik nöronların aktivitesini düzenleyen GABA erjik VTA nöronal alt popülasyonlarında bulunur (Abizaid ve ark 2006). Ghrelinin afferent ödül sinyallerinin güçlendirilmesine yol açan, VTA'dan NAc'ye dopaminerjik iletimi artıratılabileceği öne sürülmüştür. Sıçan modelini kullanan yakın tarihli bir araştırmada, ghrelin VTA enjeksiyonlarının, sukrozla indüklenen ilerleyici oran operant koşullandırması ve yem alımıyla ölçülen gıda motivasyonu/ödül davranışında belirgin bir artış oluşturduğu ortaya konmuştur. Dahası, hem bir D1 benzeri hem de D2 reseptör antagonisti ile NAc'ye önceden muamele, ghrelinin ödül etkisini tamamen bloke ederek yeme alışkanlığını bozmadan bırakmıştır (Skibicka ve ark 2013). Bu sonuçlar, VTA'nın NAc dopaminerjik projeksiyonlarına, NAc takı D1 benzeri ve D2 reseptörleri, gıda ödül davranışını kontrol eden ghrelin cevap veren devrelerin temel öğeleridir.

Homeostatik beslenmenin öncelikle hipotalamusta etkili olan dolaşımındaki hormonların kontrolü altında olduğu düşünülmektedir. Ghrelin'in besin alımını teşvik edici mekanizmaları sadece homeostatik değil, aynı zamanda bazı gıdaların ödüllendirici etkilerinin artmasını da içermektedir, böylece zevkli gıdayı "hedonik beslenme" elde etmek için fazladan çaba sarf edilmektedir (Perelló ve Zigman 2012). Hedonik beslenme, beslenme ve kalorik yoksunlukta ortaya çıkar ve "homeostatik olmayan" olarak tanımlanabilir. Ghrelin uygulamasını takiben fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI), gıda küplerinin teşvik değerini kodlayan, amigdala, orbitofrontal korteks, anterior insula ve striatum gibi beynin bölgelerinde gıda resimlerine nöral tepki göstermiştir (Malik ve ark 2008). Ghrelinin, amigdala ve orbitofrontal korteks yanıtı üzerindeki etkileri kendine özgü açlık derecelendirmeleri ile korele edilmiştir (Malik ve ark 2008). Bu çalışmanın sonuçları, ghrelin gibi metabolik sinyallere gıda ile ilgili ipuçlarına verilen hedonik ve teşvik edici yanıtları artırarak gıda tüketimini lehte gösterebileceğini düşündürmektedir.

Birkaç çalışma ghrelinin gıdanın tercihini tanımlamadaki rolünü araştırılmıştır. Ghrelin, besin tercihini, kalorili içeriğe sahip olup olmadığına bakılmaksızın, yağıda zengin diyetler veya tatlı yiyeceklerle kaydırır. Ghrelin, vahşi

tipli farelerde % 0,3 sakarin solusyonu tercihini arttırmak, GHSR1 eksik farelerde bir etkisi olmadığı ve bu da ghrelin reseptör yolağının bu fenomene aracılık etmek için gerekli olduğunu göstermiştir (Disse ve ark 2010). Yağlı ve tatlı gıdalar için tercihin artırılmasına ek olarak ghrelin ayrıca ödül temelli daha karmaşık yeme davranışlarına da aracılık eder. Bazı çalışmalar, hayvanların keyif verici bir diyet bulmak için şartlandırıldıkları ortamda harcadıkları zaman miktarını, düzenli yemek ya da yiyecek tüketmeyen farklı bir ortamda harcanan zamana kıyaslayan, koşullu yer tercih testini kullanmıştır. Kullanılan diğer bir yöntem, operant koşullandırmadır, örneğin; yüksek ödüllendirici gıdalar için operant koşullu presleme. Çalışmalar hem koşullu yer tercih testi hem de operant koşullandırma yöntemini kullanarak, ghrelin, ad lib beslenen farelere uygulandığında yüksek yağlı bir diyetin ödüllendirici değerini artırdığını göstermiştir. Aksine, D-Lys ve ghrelin reseptörü-null fare ile tedavi edilen vahşi tipli fareler normalde kalori kısıtlaması altında yüksek yağlı diyetle koşullandırılmış yer tercih testi göstermezler (Perello ve ark 2010, Finger ve ark 2012).

Ayrıca, GHSR1 antagonistlerinin kullanımı sükroz solusyonu için operant yanıtını azaltmıştır, çünkü sıçanlarda sükrozun alımının ve kendi kendine verilmesinin, ayrıca farelerde sakarin alımının da düşüğü bulunmuştur (Landgren ve ark 2011).

1.3.10. Farmakoterapik Olarak Ghrelin Uygulaması

Zayıf ve obez sağlıklı gönüllülere ek olarak, ghrelin uygulama çalışmaları, konjestif kalp yetmezliği, çeşitli kanser tipleri, diyabet, pulmoner hastalık, anoreksiya neroza, son evre böbrek hastlığı, Cushing's sendromu, gastroparesis, polikistik over sendromu, hipertiroidizm, hiperparatiroidizm, depresyon, akromegali, ve GH eksikliğini kapsayan çeşitli hasta popülasyonlarını içerir (Garin ve ark 2013). Bu çalışmaların incelenmesiyle artmış enerji alımıyla sonuçlanan, ghrelinin efektif bir iştah uyarıcısı olduğu hakkında kuvvetli kanıtlar olduğu fakat vücut kompozisyonunda pozitif değişime neden olabileceği yönünde daha az kanıtla ve neredeyse kas güçlenmesi ve performansında artışa dair hiçbir kanıt olmadığı sonucuna vardı (Garin ve ark 2013).

Sadece az sayıda çalışmalar şimdije kadar AN'lı hastalarda ghrelin uygulamasının etkilerini inceledi. Brogllo ve ark (2004) tarafından İlk çalışma şunu

inceledi, AN'lı 9 kadın ve 7 sağlıklı kadına, ghrelin verildi; Sonuçlar AN'de ghreline bozulmuş bir GH yanıtı gösterdi. Besin alımı ölçülmemesine rağmen, açlık yan etki olarak düşünüldü. Hotta ve ark (2009) tarafından daha yeni bir pilot çalışma malnütrisyon kaynaklı gastrointestinal fonksiyon bozukluğundan dolayı kendi gıda alımını artırımayan vücut ağırlığını artırmaya motive sınırlı tip AN'lı 5 hastada ghrelinin iştah, enerji alımı ve beslenme parametrelerine olan etkilerini araştırıldı. Tedavi öncesi dönemde beş hastanın günlük enerji alımı 825-1426 kcal arasında değişmekteydi. Ghrelin infüzyonu sırasında, dört hastada günlük enerji alımı istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi. Ön-muamele süresi ile karşılaşıldığında, ghrelin infüzyonu sırasında günlük enerji alımında ortalama artış yaklaşık % 20 idi. Besin analizinde, tüm hastalarda protein, üç hastada karbonhidrat, bir hastada günlük yağ alımında artış saptandı. Ghrelin uygulaması epigastrik rahatsızlık ve kabızlık geliştirmiş ve açlık skorunda artış sağlamıştır. Bu çalışmaların sonuçları ghrelinin AN için potansiyel yeni bir tedavi olabileceğini göstermektedir (Hotta ve ark 2009). Ancak Miljic ve ark (2006) tarafından bir çalışma ghrelin uygulamasının AN'lı 25 genç kadında iştahı etkilemediğini bulmuştur. Bu sonuçlar populasyon, tedavi süresi ve dozdaki farklılıklar yansıtıyor olabilir.

Diğer çalışmalarda çeşitli kaşektik koşullara ghrelin uygulamasının etkisi araştırıldı. Nagaya ve ark (2004) üç hafta içinde, konjestif kalp yetmezliği olan 10 hastaya intravenöz insan sentetik ghrelini uyguladı. Hem yiyecek alımı ve hem de vücut ağırlığının arttığı tespit edilirken; dahası, egzersiz kapasitesi, kas erimesi ve sol ventrikül fonksiyonunun geliştiği de gözlenmiştir. Nagaya ve ark (2005) tarafından bir açık etiketli pilot çalışmada KOAH'lı yedi kaşektik hastada ghrelinin kaşeksi ve fonksiyonel kapasiteyi artırıp artırmadığını incelenmiştir. Bu üç haftalık ghrelin tedavisinin ortalama vücut ağırlığı, gıda alımı, yağısız vücut kitlesi ve periferik ve solunumsal kas gücünde belirgin bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir; dahası, ghrelinin abartılı sempatik sinir aktivitesini hafiflettiği gösterilmiştir. Wynne ve ark (2005)'nın yaptığı bir çalışmada, hafif-orta şiddette malnutrisyonu olan dokuz periton diyalizi hastasına ghrelin subkutan olarak uygulanmıştır. Sonuçlar plasebo ile karşılaşıldığında grubun mutlak enerji alımı önemli bir artış göstermiştir; dahası ghrelin uygulaması, her birey için orantılı enerji artışı olarak ifade edildiğinde enerji alımının hemen ikiye katlanmasıyla sonuçlanmıştır. Diğer bir çalışmada kanser kaşeksi ortamda ghrelin uygulanmasının etkileri araştırılmıştır (Akamizu ve

Kangawa 2011). Gerekli olan ghrelinin suprafiziolojik dozların kullanılmasına rağmen, iştah üzerindeki etkileri olumlu olmuştur. Bu da iştah-uyarıcı merkezleri üzerine ghrelin etkilerinin kanser kaşeksi ortamında doymuş olmadığını göstermektedir (Akamizu ve Kangawa 2011). Bir randomize, placebo kontrollü, çapraz klinik araştırma kaşeksili yedi kanser hastasında ghrelinin iştah uyarımını göstermiştir (Neary ve ark 2004). Sonuçlar tuz infüzyonuna kıyasla ghrelin verilmesinin önemli ölçüde gıda alımını ve yemek yemekten alınan zevki artırdığını gösterdi. Bununla birlikte kanser kaşeksisinde ghrelinin kullanımı ile ilgili endişeler bulunmaktadır. Örneğin; ghrelinin tümör gelişimini uyaran GH ve IGF-1 gibi büyümeye faktörlerini uyarması önemli bir sorundur (Akamizu ve Kangawa 2011). Buna ek olarak ghrelinin kısa yarılanma ömrü ve enjeksiyon yoluyla verilişi, bir terapötik madde olarak ghrelin kullanımında ek sınırlamalardır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu projede canlı hayvan kullanılmadı. Daha önce etik kurul onayı alınmış (2015/47) “Pinealektomi ve Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusunda Metallotionin, ZNT3, ZIP2 ve Çinko Düzeylerine Etkisi” konulu projeden elde edilen kan örnekleri çalışmada kullanılmak üzere alındı. Canlı hayvan kullanılmayan araştırma protokolü Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından (no:2015/87) onaylandı. Toplam 36 adet sıçan kullanılan araştırmada gruplar şu şekilde oluşturuldu. Kontrol grubu dışında (n=6) kalan diğer bütün gruplarda 10'ar adet sıçan kullanıldı.

Grup 1, Kontrol Grubu: Bu grubu oluşturan hayvanlar standart sıçan yemiyle beslendi. Hayvanlar üzerinde herhangi bir uygulama yapılmadı.

Grup 2, Pinealektomi Grubu: Bu grubu oluşturan sıçanlara genel anestezi altında pinealektomi uygulandı ve hayvanlar standart sıçan yemiyle beslendi.

Grup 3, Pinealektomi + Melatonin Uygulanan Grup: Genel anestezi altında pinealektomi uygulanan sıçanlara, pinealektomiden sonra bir ay süreyle deri altı melatonin (5mg/kg/gün melatonin) uygulandı.

Grup 4, Melatonin Uygulanan Grup: Bu grubu oluşturan sıçanlara deri altı melatonin uygulandı (Dört hafta süreyle; 5mg/kg/gün melatonin).

Deney hayvanları çalışmanın tamamlandığı zamana kadar Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde diğer hayvanlardan ayrı bir odada tutuldu. Deney hayvanları çalışma süresince standart sıcaklık ve ışık ortamında (21 ± 1 °C, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlatır) barındırıldılar. Hayvanlar Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen sıçan yem ve normal çesme suyuyla beslendiler. Hayvanlar günlük temizlenen özel kafeslerde tutuldu. Hayvanların yem tüketimi yaklaşık 100 gram ağırlık başına 10 gram yem şeklinde gerçekleşti.

2.1.Deneysel Uygulamalar

2.1.1.Melatonin Uygulaması

Melatonin ticari olarak elde edildi (Sigma M-5250). Melatoninin süspansiyon olarak hazırlanması şu şekilde gerçekleştirildi: Önce melatonin (40 mg'ı) 3ml saf etanol içinde çözülerek stok solusyon hazırlandı. Hazırlanan stok solusyonun ışığa maruz kalmaması için karanlıkta ve ağızı kapalı bir şekilde buzlukta muhafaza edilmiştir. Kullanma zamanında hazırlanan stok solusyondan 0.1 ml alınarak 1 ml olacak şekilde üzerine sodium klorür (0,9 ml NaCl) eklenderek 5 mg/kg/gün dozunda sabah saat 10.⁰⁰-da sıçanlara subkutan olarak enjekte edilmiştir. Melatonin enjeksiyonları 28 gün süreyle aynı saatlerde gerçekleştirılmıştır.

2.1.2.Pinealektomi

Sıçanlara pinealektomi işlemleri genel anestezi altında gerçekleştirildi. Anestezi işlemlerinde 60 mg/kg dozunda ketamine hydrochloride (Ketalar, Parke-Davis) ve 5 mg/kg dozunda xylazine (Rompun, Bayer) kombinasyonu kullanıldı. Pinealektomi işlemleri Kuszack ve Rodin'in (1997) tanımladığı metoda uygun olarak yapıldı.

2.1.3.Kan alma İşlemleri

Dört hafta süren uygulamaların bitiminden sonra hayvanlar dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Alınacak kan örnekleri serumları ayırtırılarak -80 °C de analiz zamanına kadar muhafaza edildi.

2.2. Biyokimyasal İşlemler

2.2.1. Melatonin Analizi

Cusabio Melatonin Elisa test kiti (katalog no: CSB-E13433r) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 12,5 pg/ml, gün-içi CV'si <%15, günler-arası CV'si < %15 idi. Tespit edilebilir aralığı 12.5-500 pg/ml dir.

Elisa kit içeriği:

1. 96 kuvetten oluşan mikroküvet
2. Yıkama solusyonu (20X)

3. Standart stok

4. Antikor

5. HRP-konjugat

6. Substrat A

7. Substrat B

8.TMB substrat

9. Stop solusyon

Kit içeriğinin hazırlanması:

1. Yıkama tamponu: Oda sıcaklığında bekletilip görünür kristaller çözüldükten sonra 15 ml yıkama tamponu distile su ile 300 ml olacak şekilde çözdirülüp hazırlandı.

2. Standart hazır halde idi. 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 42 pg/ml, 12,5 pg/ml, 0 pg/ml olarak 6 standart kullanıldı.

Analizin yapılışı:

1. Bütün kimyasallar ve numuneler analiz öncesi oda sıcaklığına getirildi.

2. Kör kuveti boş bırakıldı.

3. Standartlar ve numunelerden 50 μ l alınarak mikroküvetlere aktarıldı.

4. 50 μ l HRP-konjuge ile kör kuveti hariç diğer kuvetler muamele edildi. 50 μ l antikor ilave edilerek 60 dakika 37°C'de inkube edildi.

5. Bioteck ELx50 elisa yıkayıcı (Bioteck Instruments, USA) ile 2 kez her bir kuvete 200 μ l olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.

6. 50 μ l substrat A ve 50 μ l substrat B her bir kuvete ilave edildi 15 dakika 37°C'de karanlıkta inkübe edildi.

7. 50 μ l stop solusyon ilave edildi. 450 nm de BMG-LABTECH marka SPECTRO star Nano Elisa cihazında (Germany) okutuldu. Değerler pg/ml olarak hesaplandı.

2.2.2. Ghrelin Analizi

Cusabio Rat Elisa test kiti (katalog no: CSB-E09816r) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 1,95 pg/ml ve tespit edilebilir aralığı 7.8-500 pg/ml idi. Gün-içi CV'si <%8, günler-arası CV'si <%10 idi.

Elisa kit içeriği:

1. 96 kuvetten oluşan mikroküvet
2. Yıkama solusyonu (25X)
3. Standart stok
4. Biotin Antikor (100X)
5. HRP-avidin (100X)
6. HRP-avidin diluent
7. Biotin-Antikor diluent
8. Numune diluent
9. TMB substrat
10. Stop solusyon

Kit içeriğinin hazırlanması:

1. Biotin-Antikor hazırlanması: Santrifüj edildikten sonra 100 kat dilusyon yapıldı. Bunun için 10 μ l biotin-antikor ve 990 μ l biotin-antikor diluent kullanıldı.
2. HRP-avidin (1X): Santrifüj edildikten sonra 100 kat dilusyon yapıldı. Bunun için 10 μ l HRP-avidin ve 990 μ l HRP-avidin diluent kullanıldı.

3. Yıkama tamponu (1X): Oda sıcaklığında bekletilip görünür kristaller çözüldükten sonra 15 ml yıkama tamponu distile su ile 500 ml olacak şekilde çözdirülüp hazırlandı.

4. Standart şisesi 6000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Üzerine 1 ml numune diluent ilave edildi. Stok standart konsantrasyonu 500 pg/ml olarak hazırlandı. Seri dilusyonlarla 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml, 7,8 pg/ml, olarak 7 standart kullanıldı.

Analizin yapılışı:

1. 100 µl standartlar ve numuneler alınarak mikroküvetlere aktarıldı. 2 saat 37 °C de inkübe edildi.
2. Biotek ELx50 elisa yıkayıcı (Biotek Instruments, USA) ile 3 kez her bir küvete 200 µl olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.
3. 100 µl biotin-antikor (1X) her bir küvete ilave edildi. 1 saat 37 °C de inkübe edildi.
4. Biotek ELx50 elisa yıkayıcı (Biotek Instruments, USA) ile 3 kez her bir küvete 200 µl olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.
5. 100 µl HRP-avidin (1X) ile her bir kuvet muamele edildi. 1 saat 37 °C de inkübe edildi.
6. Biotek ELx50 elisa yıkayıcı ile 5 kez her bir küvete 200 µl olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.
7. 90 µl TMB Substrat her bir kuvet muamele edildi. 30 dakika 37 °C de karanlıkta inkube edildi.
8. 50 µl stop solusyon ilave edildi. 450 nm de BMG-LABTECH marka SPECTROstar Nano Elisa cihazında (Germany) okutuldu. Değerler ng/ml olarak hesaplandı.

2.2.3. Nesfatin-1 Analizi

Cusabio Rat Elisa test kiti (katalog no: CSB-E14378r) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 3,9 pg/ml ve tespit edilebilir aralığı 15.6-1000 pg/ml idi. Gün-içi CV'si <%8, günler-arası CV'si <%10 idi.

Elisa kit içeriği:

1. 96 kuvetten oluşan mikrotüvet
2. Yıkama solusyonu (25X)
3. Standart stok
4. Biotin Antikor (100X)
5. HRP-avidin (100X)
6. HRP-avidin diluent
7. Biotin-Antikor diluent
8. Numune diluent
9. TMB substrat
10. Stop solusyon

Kit içeriğinin hazırlanması:

1. Biotin-Antikor hazırlanması: Santrifüj edildikten sonra 100 kat dilusyon yapıldı. Bunun için 10 µl biotin-antikor ve 990 µl biotin-antikor diluent kullanıldı.
2. HRP-avidin (1X): Santrifüj edildikten sonra 100 kat dilusyon yapıldı. Bunun için 10 µl HRP-avidin ve 990 µl HRP-avidin diluent kullanıldı.
3. Yıkama tamponu (1X): Oda sıcaklığında bekletilip görünür kristaller çözüldükten sonra 20 ml yıkama tamponu distile su ile 500 ml olacak şekilde çözdürülmüş hazırlandı.

4. Standart şisesi 6000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Üzerine 1 ml numune diluent ilave edildi. Stok standart konsantrasyonu 1000 pg/ml olarak hazırlandı. Seri dilusyonlarla 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml, 0 pg/ml olarak 8 standart kullanıldı.

Analizin yapılışı:

1. 100 μ l standartlar ve numuneler alınarak mikroküvetlere aktarıldı. 2 saat 37 °C de inkübe edildi.
2. Yıkama işlemi yapılmadan küvetler sadece aspire edildi.
3. 100 μ l biotin-antikor (1X) her bir küvete ilave edildi. 1 saat 37 °C de inkübe edildi.
4. Bioteck ELx50 elisa yıkayıcı (Bioteck Instruments, USA) ile 3 kez her bir küvete 200 μ l olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.
5. 100 μ l HRP-avidin (1X) ile her bir küvet muamele edildi. 1 saat 37 °C de inkübe edildi.
6. Bioteck ELx50 elisa yıkayıcı ile 5 kez her bir küvete 200 μ l olacak şekilde yıkama tampon soluyonu ile yıkandı. Aspire edildi.
7. 90 μ l TMB Substrat her bir kuvet muamele edildi. 30 dakika 37 °C de karanlıkta inkube edildi.
8. 50 μ l stop solusyon ilave edildi. 450 nm de BMG-LABTECH marka SPECTRO star Nano Elisa cihazında (Germany) okutuldu. Değerler ng/ml olarak hesaplandı.

2.3. İstatistik

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 22.0 bilgisayar paket programı ile yapılarak, bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin homojenliğinin belirlenmesi amacıyla “Shapiro-Wilk” testi yapıldı ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlendi. Gruplararası farklılıkların tespitinde Kruskal-Wallis H testi, farklılığın hangi gruptan

kaynaklandığının belirlenmesi için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P<0,05$ düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Gruplarının Serum Melatonin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmada en düşük serum melatonin seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2'de elde edildi ($P<0.01$). Pinealektomi+melatonin uygulanan grubun (grup 3) serum melatonin düzeyleri kontrol (grup 1) ve Pinealektomi (grup 2) gruplarından daha yüksekti ($P<0.01$). Çalışmamızda en yüksek serum melatonin seviyeleri melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi ($P<0.01$, Çizelge 1.).

3.2. Çalışma Gruplarının Serum Ghrelin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmada en düşük serum ghrelin düzeyleri grup 1 (kontrol) ve grup 4 (melatonin uygulanan grup) de elde edildi ($P<0.01$). Px+melatonin grubunun (grup 3) serum ghrelin seviyeleri grup 1 ve 4'den yüksek ($P<0.01$), Px (grup 2) grubundan daha düşüktü ($P<0.01$). Çalışmamızda en yüksek serum ghrelin seviyeleri Px grubunda (grup 2) elde edildi ($P<0.01$, Çizelge 2.).

3.3. Çalışma Gruplarının Serum Nesfatin-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmada en düşük serum Nesfatin-1 seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2'de elde edildi ($P<0.01$). Px+melatonin uygulanan grubun (grup 3) serum Nesfatin-1 düzeyleri kontrol (grup 1) ve Px+mel (grup 2) gruplarından daha yüksekti ($P<0.01$). Çalışmamızda en yüksek serum Nesfatin-1 seviyeleri melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi ($P<0.01$, Çizelge 3.).

Çizelge 1. Çalışmaya Katılan Grupların Serum Melatonin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Gruplar	N	Melatonin(pg/ml)
Kontrol	6	7,42±1,10 ^c
Pinealektomi	10	3,15±0,75 ^d
Pinealektomi+melatonin	10	24,79±3,39 ^b
Melatonin	10	183,97±26,15 ^a

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($P<0,05$).

Çizelge 2. Çalışmaya Katılan Grupların Serum Ghrelin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Gruplar	N	Ghrelin(ng/ml)
Kontrol	6	1,96±0,33 ^c
Pinealektomi	10	5,89±0,96 ^a
Pinealektomi+melatonin	10	4,54±0,65 ^b
Melatonin	10	1,74±0,50 ^c

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($P<0,05$).

Çizelge 3. Çalışmaya Katılan Grupların Serum Nesfatin-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Gruplar	N	Nesfatin-1 (ng/ml)
Kontrol	6	16,15±2,96 ^c
Pinealektomi	10	2,64±0,92 ^d
Pinealektomi+melatonin	10	24,70±2,94 ^b
Melatonin	10	69,90±9,92 ^a

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($P<0,05$).

4. TARTIŞMA

4.1. Melatonin Bulgularının Tartışılması

Melatonin hormonunun sentez ve salınımında başlıca kaynak pineal bezdir. Ancak pineal bez dışında da “sindirim sistemi, solunum sistemi, böbrek, böbrek üstü bezleri, hücresel bağışıklıkla ilişkili yapılar, tiroit bezi ve plasenta” melatonin sentezi vardır (Baltacı 2001). Bu nedenle, pineal bezi çıkartılan hayvanlarda melatonin düzeyleri azalmasına rağmen, dolaşımda ölçülebilir düzeyde melatonin hormonu bulunmaktadır. (Bediz ve ark 2002). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en düşük serum melatonin seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2’de elde edildi. Pinealektomi+melatonin uygulanan grubun (grup 3) serum melatonin düzeyleri kontrol (grup 1) ve Pinealektomi (grup 2) gruplarından daha yükseltti. Çalışmamızda en yüksek serum melatonin seviyeleri ise melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi. Melatonin seviyeleriyle ilgili elde ettiğimiz bulgular gerçekleştirdiğimiz çalışmada, hayvanlarda pinealektomi uygulamasının başarılı olduğunu göstermektedir (Baltacı 2001, Bediz ve ark 2002). Bu durum çalışmamızda elde ettiğimiz diğer bulguların daha güvenilir şekilde tartışılabilmesini sağlayacaktır.

4.2. Ghrelin Bulgularının Tartışılması

Pineal bez ve onun ürünü olan melatonin ile beslenme davranışları arasındaki ilişkiyi araştıran raporların sonuçları uyumlu değildir. Bazı raporlar melatoninin memelilerde gıda almısını, yağılmayı ve vücut ağırlığını etkilediğini göstermektedir (De Pedro ve ark 2008). Melatoninin Sibirya hamster (Bartness ve Wade 1985) ve sığanlarında yağ kütlesi ve vücut ağırlığında azalmalara yol açtığı bildirilmiştir (Bojková ve ark 2006). Aksine melatoninin Suriye hamsterinde yağ kitlesini (Bartness ve Wade 1984) ve rakunlarda vücut ağırlığını artırdığı (Mustonen ve ark 2004) rapor edilmiştir. Buna karşın Mustonen ve ark (2002) melatonin tedavisinden sonra vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik tespit etmemiştirlerdir. Ancak şurası kesindir ki; melatonin beslenme davranışlarında rol oynamaktadır (Baltacı ve Mogulkoc 2007). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en yüksek serum ghrelin seviyelerini Px grubunda (grup 2), en düşük serum ghrelin düzeylerini ise grup 1 (kontrol) ve grup 4 (melatonin uygulanan grup) de elde ettik. Px+melatonin grubunun (grup 3) serum ghrelin seviyeleri grup 1 ve 4’den yüksek, Px (grup 2)

grubundan daha düşüktü. De Pedro ve ark (2008) balıklar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında kronik melatonin uygulamasının dolaşımındaki ghrelin seviyelerinde bir baskınlanma eğilimi oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Melatonin sentezinde öncül madde olan triptofan aminoasidinin 5 gün boyunca 1 g dozunda uygulanmasının köpeklerde besin alınımını artırdığı ancak ghrelin düzeylerinde bir değişiklik oluşturmadığı rapor edilmiştir (Fragua ve ark 2011). Hem karaciğer sirozlu hastalarda, hem de sağlıklı kontrollerinde açlıkta yükselen ghrelin seviyelerinin oral melatonin veya triptofan amino asidi uygulamasından sonra azaldığı gösterilmiştir (Celinski ve ark 2009). Yukarıda bulguları sunulan az sayıdaki raporların sonuçları melatonin ile ghrelin arasında bir ilişkinin varlığını gösterir. Biz çalışmamızda pinealektomize sıçanlarda artmış ghrelin düzeyleri elde ederken, pinealektomize sıçanlara melatonin uygulaması artmış ghrelin düzeylerini pinealektomi grubuna göre önemli ölçüde azalttı. Ancak yine de px+melatonin grubunun ghrelin seviyeleri kontrollere oranla daha yüksek seviyedeydi. Ratlarda eksojen melatonin uygulamasının plazma ghrelin seviyelerini azalttığını bildiren Mustonen ve ark (2001)'nın raporu çalışmamızda pinealektomi grubunda artan ghrelin düzeylerinin melatonin uygulanmasıyla azalması şeklinde bulgumuzu desteklemektedir. Çalışmamızdaki bulgularla ilişkili olarak en azından şu söylenebilir ki; pineal bez ile ghrelin seviyeleri arasında önemli bir ilişki vardır. Pineal bezin fonksiyonunun ortadan kaldırılması ghrelin salınımında da değişiklikle sonuçlanmaktadır. Melatonin uygulaması ve ghrelin ilişkisini araştıran çalışmalarla mukayese edildiğinde; pinealektomi ve ghrelin ilişkisini araştıran çalışmalar çok daha azdır. Canpolat ve ark (2006)'ı gerçekleştirdikleri çalışmalarında pineal bezin çıkarılmasının mide ghrelini üzerini bir etkisinin olmadığını, ancak pinealektominin hipotalamustaki ghrelin cevaplarını önemli ölçüde etkileyebileceğini rapor etmişlerdir. Buradan yola çıkarak aynı araştırmacılar pineal bezin hipotalamustaki ghrelin cevaplarında önemli olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Canpolat ve ark 2006). Benzer bir bulgu Aydin ve ark (2008) tarafından da rapor edilmiştir. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada elde ettiğimiz ghrelin düzeyleriyle ilgili bulgular yukarıda sonuçları sunulan raporlarla kısmen uyumludur. Literatürde çalışmamızı bütün boyutlarıyla bire bir tartışabileceğimiz yayın sayısı da oldukça sınırlıdır. Ancak çalışmamızın ghrelin bulgularıyla ilgili olarak; pinealektominin sıçanlarda serum ghrelin düzeylerinde önemli bir artışa yol açtığı, pinealektomize hayvanlara eksojen melatonin uygulamasının ghrelin düzeylerinde azalmaya yol açmasına rağmen kontrol

değerlerine ulaştıramadığı tespit edilmiştir. Burada ilginç olarak pinealektomi yapılmadan eksojen melatonin verilen sincanlarda ghrelin seviyelerinde kontrol grubunu oluşturan hayvanlara göre herhangi bir değişiklik ortaya çıkmamıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak, serum ghrelin seviyelerinin düzenlenmesinde pineal bezin fonksiyonel olarak varlığına ihtiyaç olduğu sonuc olarak söylenebilir.

4.3. Nesfatin-1 Bulgularının Tartışılması

Çalışmada en düşük serum Nesfatin-1 seviyeleri pinealektomi uygulanan grup 2'de elde edildi. Px+melatonin uygulanan grubun (grup 3) serum Nesfatin-1 düzeyleri kontrol (grup 1) ve Px+mel (grup 2) gruplarından daha yükseldi. Çalışmamızda en yüksek serum Nesfatin-1 seviyeleri melatonin uygulanan grupta (grup 4) elde edildi.

Nesfatin-1 yeni tanımlanmış bir peptit olarak kabul edilebilir. Nesfatin-1'in ilgi çeken en önemli etkisi leptinden bağımsız olarak besin almında baskılanmaya yol açıcı etkisidir (Kentish ve ark 2017). Hipotalamus ve beyin-omurilik sıvısında topluk molekülü olarak bildirilen nesfatin-1 (Oh ve ark 2006), çeşitli canlı türlerinde arkuat nukleus (ARC), paraventriküler nukleus (PVN), supraoptik çekirdek (SON) ile lateral hipotalamik alan da bulunduğu bildirilmiştir (Oh ve ark 2006). Çeşitli deneyler, nesfatin-1'in gıda alımı üzerindeki inhibe edici rolünü desteklemektedir (Oh ve ark 2006, Su ve ark 2010) ve diyabetik farelerde glikoz düzenleyici etkileri olabileceğini göstermektedir (Su ve ark 2010). Bahsedilen çalışmalar, nesfatin-1'in metabolizmanın düzenlenişinde de rol oynadığını ortaya koymaktadır. İlginç olarak; kurbağa pineal bezinde nesfatin-1 benzeri reaktivite tespit edilmesi (Senejani ve ark 2014) pineal bez ve onun ürünü olan melatonin ile nesfatin-1 arasında ilişki olabileceğini de akla getirmektedir. Nesfatin-1'in sincanlarda gece besin alınmasını azalttığı bilinmektedir, aynı zamanda nesfatin-1'in iştahi baskılayıcı etkilerinde serotoninin de rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Stengel ve Taché 2013). Melatoninin serotonininden sentezlendiği ve gece yüksek düzeyde bulunan ritmik bir salgılanması olmasının da (Baltaci ve ark 2003), Stengel ve Taché'nin çalışmalarındaki bulgularla benzerlik gösterir. Bir çok çalışma melatoninin beslenme davranışında etkili olduğunu ve özellikle de bu etkinin iştah alımını baskılayan leptin üzerinden gerçekleştigi önermektedir (Baltaci ve Mogulkoc 2007, Baltaci ve Mogulkoc 2017, Gunduz 2002). Gerçekleştirdigimiz çalışmada bulgularımızı bire

bir karşılaşabileceğimiz bir çalışmaya Med-line taramalarda rastlayamadık. Özellikle melatonin ve nesfatin-1 ilişkisini konu alan kurbağalarda yapılmış ve kurbağa pineal bezi ile nesfatin-1 arasındaki olasıya ilişkiye dikkat çeken Senejani ve ark (2014) gerçekleştirdiği çalışma dışında bu ilişkiye dikkat çeken bir yayın bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda; pinealektomize sıçanlarda nesfatin-1 düzeyinde önemli baskılanma tespit ederken, pinealektomize sıçanlarda melatonin desteğiyle kontrol hayvanlara oranla da artmış nesfatin-1 değerleri elde ettik. Ancak çalışmamızda daha ilginci çalışmamızda en yüksek nesfatin-1 seviyelerini sadece melatonin uygulaması yaptığımız grupta elde ettik. Çalışmamızdaki bu bulgunun bu konuda literatürdeki ilk bulgu olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulardan yola çıkarak ghrelin ve nesfatin-1 seviyelerinin ve dolayısıyla fonksiyonlarının düzenlenmesinde pineal bezin varlığına ihtiyaç olduğu, hatta pineal bezin bahsedilen hormonların beslenme davranışları üzerinde kritik bir rol oynayabileceği sonuç olarak söylenebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın bulguları bir bütün olarak değerlendirildiğinde;

1.Pinealektomi, besin alımının uyarıcısı olan ghrelin hormon düzeylerinde önemli artışa yol açmaktadır.

2.Pinealektomize sıçanlara melatonin uygulaması bu artışı geriye çevirmektedir.

3.Yine çalışmamızda pinealektomize sıçanlarda nesfatin-1 düzeyinde önemli baskılanma, pinealektomize sıçanlara melatonin desteğiyle de kontrol hayvanlara oranla artmış nesfatin-1 değerleri elde ettik.

4.Ancak çalışmamızda daha da önemlisi en yüksek nesfatin-1 seviyelerini sadece melatonin uygulaması yaptığımız grupta elde ettik.

5.Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulardan yola çıkarak ghrelin ve nesfatin-1 seviyelerinin ve dolayısıyla fonksiyonlarının düzenlenmesinde pineal bezin varlığına ihtiyaç olduğu sonuç olarak söylenebilir.

6.Bundan sonraki çalışmalar pineal bez ile ghrelin ve nesfatin-1 arasındaki ilişkinin çeşitli doz ve sürelerle teyit edilmesi daha ayrıntılı bilgilere ulaşmamızı sağlayabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abizaid A, Liu Z-W, Andrews ZB, Shanabrough M, Borok E, Elsworth JD, Roth RH, Sleeman MW, Picciotto MR, Tschöp MH, Gao XB, Horvath TL, 2006. Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. *J Clin Invest*, 116, 3229-3239.
- Adeghate E, Ponery AS, 2002. Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroen-docrinol*, 14, 555—60.
- Ademoglu EN, Gorar S, Carlioglu A, Yazıcı H, Dellal FD, Berberoglu Z, Akdeniz D, Uysal S, Karakurt F, 2014. Plasma nesfatin-1 levels are increased in patients with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*, 37, 715-719.
- Agil A, Navarro-Alarcón M, Ruiz R, Abuhamadah S, El-Mir MY, Fernández Vázquez G, 2011. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats. *J. Pineal Res*, 50, 207-212.
- Agil A, Rosado I, Ruiz R, Figueroa A, Zen N, Fernández-Vázquez G, 2012. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats. *J. Pineal Res*, 52, 203–210.
- Akamizu T, Kangawa K, 2011. Therapeutic applications of ghrelin to cachexia utilizing its appetite-stimulating effect. *Peptides*, 32, 2295-2300.
- Al-Mahbashi HM, Numan NM, Saed MA, 2006. The effects of melatonin on the oxidative stress, protein glycation, microalbuminuria and lipid profile in type 2 diabetes mellitus. *Iraq. J. Pharm. Sci*, 15, 17-32.
- Amini P, Wadden D, Cahill F, Randell E, Vasdev S, Chen X, Gulliver W, Zhang W, Zhang H, Yi Y, Sun G, 2012. Serum acylated ghrelin is negatively correlated with the insulin resistance in the CODING study. *PLoS ONE* 7, e45657.
- Angelone T, Filice E, Pasqua T, Amodio N, Galluccio M, Montesanti G, Quintieri AM, Cerra MC, 2013. Nesfatin-1 as a novel cardiac peptide: identification, functional characterization, and protection against ischemia/reperfusion injury. *Cell Mol Life Sci*, 70, 495- 509.
- Angeloni SV, Glynn N, Ambrosini G, Garant MJ, Higley JD, Suomi S, Hansen BC, 2004. Characterization of the rhesus monkey ghrelin gene and factors influencing ghrelin gene expression and fasting plasma levels. *Endocrinology*, 145, 2197—205.
- Arafat AM, Weickert MO, Adamidou A, Otto B, Perschel FH, Spranger J, Möhlig M, Pfeiffer AF, 2013. The impact of insulin-independent, glucagon-induced suppression of total ghrelin on satiety in obesity and type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 98, 4133-4142.
- Ari M, Ozturk OH, 2011. High plasma nesfatin-1 level in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 35, 497-500.
- Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M, 2003. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut*, 52, 947-952.
- Atkins TW, Bailey CJ, Matty AJ, 1973. The effect of age on some aspects of obese (ob-ob) mouse pancreatic islet morphology and metabolism. *J. Endocrinol*, 58, 18–28.
- Ayada C, Turgut G, Turgut S, 2015b. The effect of nesfatin -1 on heart L-type Ca⁺² channel a1c subunit in rats subjected to chronic restrained stress. *Bratisl Lek Listy*. 116, 236-329.
- Ayada C, Turgut G, Turgut S, Guclu Z, 2015a. The effect of chronic peripheral nesfatin-1 application on blood pressure in normal and chronic restraint stressed rats: related with circulating level of blood pressure regulators. *Gen Physiol Biophys*, 34, 81-88.
- Aydin M, Canpolat S, Kuloğlu T, Yasar A, Colakoglu N, Kelestimur H, 2008. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on ghrelin and peptide YY in gastrointestinal system and neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus: immunohistochemical studies in male rats. *Regul Pept*, 146(1-3), 197-203.
- Aydin S, 2013. Role of NUCB2/nesfatin-1 as a possible biomarker. *Curr Pharm Des*, 19, 6986-6992.

- Aydin S, Dag E, Ozkan Y, Arslan O, Koc G, Bek S, Kirbas S, Kasikci T, Abasli D, Gokcili Z, Odabasi Z, Catak Z, 2011. Time-dependent changes in the serum levels of prolactin, nesfatin-1 and ghrelin as a marker of epileptic attacks young male patients. *Peptides*, 32, 1276-80.
- Aydin S, Dag E, Ozkan Y, Erman F, Dagli AF, Kilic N, Sahin I Karatas F, Yoldas T, Barim AO, Kendir Y, 2009. Nesfatin-1 and ghrelin levels in serum and saliva of epileptic patients: hormonal changes can have a major effect on seizure disorders. *Mol Cell Biochem*. 328, 49-56.
- Baltaci AK, 2001. Melatonin, immün sistem ve çinko. S.Ü. Tip Fak Derg, 17, 267-72.
- Baltaci AK, Bediz CS, Mogulkoc R, Kurtoglu E, Pekel A, 2003. Effect of zinc and melatonin supplementation on cellular immunity in rats with toxoplasmosis. *Biol Trace Elem Res*, 96, 237-45.
- Baltaci AK, Mogulkoc R, 2007. Pinealectomy and melatonin administration in rats: their effects on plasma leptin levels and relationship with zinc. *Acta Biol Hung*, 58(4), 335-43.
- Baltaci AK, Mogulkoc R, 2017. Leptin, NPY, Melatonin and Zinc Levels in Experimental Hypothyroidism and Hyperthyroidism: The Relation to Zinc. *Biochem Genet*, 55(3), 223-233.
- Baltaci AK, Mogulkoc R, Bediz CS, Kul A, Ugur A, 2003. Pinealectomy and zinc deficiency have opposite effects on thyroid hormones in rats. *Endocr Res*, 29(4), 473-81.
- Baltaci AK, Mogulkoc R, Bediz CS, Pekel A, 2005. Effects of zinc deficiency and pinealectomy on cellular immunity in rats infected with Toxoplasma gondii. *Biol Trace Elem Res*, 104, 47-56.
- Bartness TJ, Wade GN, 1984. Photoperiodic control of bodyweight and energy metabolism in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*): role of pineal gland, melatonin, gonads, and diet. *Endocrinology*, 114, 492-498.
- Bartness TJ, Wade GN, 1985. Body weight, food intake and energy regulation in exercising and melatonin-treated Siberian hamsters. *Physiol Behav*, 35(5), 805-8.
- Beck B, Richy S, Stricker-Krongrad A, 2004. Feeding response to ghrelin agonist and antagonist in lean and obese Zucker rats. *Life Sci*, 76, 473-478.
- Bediz CŞ, Baltaci AK, Moğulkoç R, Ateş A, 2002. Pinealektomi ve melatonin uygulamasının ratlarda plazma çinko düzeylerine etkisi. *T Klin Tip Bil Derg*, 22(2), 101-104.
- Bicer M, Akil M, Baltaci AK, Mogulkoc R, Sivrikaya A, Gunay M, Akkus H, 2012. Protective effect of melatonin on lipid peroxidation in various tissues of diabetic rats subjected to an acute swimming exercise. *Bratisl Lek Listy*, 113, 698-701.
- Bojkova B, Markova M, Ahlersova E, Ahlers I, Adámeková E, Kubatka P, Kassayová M, 2006. Metabolic effects of prolonged melatonin administration and short-term fasting in laboratory rats. *Acta Vet Brno*, 75, 21-32.
- Bongiomno D, Ceraulo L, Ferrugia M, Filizzola F, Ruggirello A, Liveri VT, 2005. Localization and interactions of melatonin in dry cholesterol/lecithin mixed reversed micelles used as cell membrane models. *J. Pineal Res*, 38, 292-298.
- Bonnet MS, Pecchi E, 2009. Central nesfatin-1-expressing neurons are sensitive to peripheral inflammatory stimulus. *J Neuroinflammation*, 6, 27.
- Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K, 1980. Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide tide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology*, 106, 663-7.
- Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A, 1984. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology*, 114, 1537-45.
- Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, Dun NJ, 2007. Nesfatin-1: Distribution and Interaction with a G Protein-Coupled Receptor in the Rat Brain. *Endocrinology*, 148, 5088-5094.

- Broglie F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E, 2001. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 5083—6.
- Broglie F, Gianotti L, Destefanis S, Fassino S, Abbate Daga G, Mondelli V, Lanfranco F, Gottero C, Gauna C, Hofland L, Van der Lely AJ, Ghigo E, 2004. The endocrine response to acute ghrelin administration is blunted in patients with anorexia nervosa, a ghrelin hypersecretory state. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 60, 592-599.
- Bubenik GA, 2002. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig. Dis. Sci.*, 47, 2336–2348.
- Canpolat S, Aydin M, Yasar A, Colakoglu N, Yilmaz B, Kelestimur H, 2006. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin levels in the rat. *Neurosci Lett*, 410(2), 132-6.
- Cardinali DP, Bernasconi PA, Reinoso R, Toso CF, Scacchi P, 2013. Melatonin may curtail the metabolic syndrome: studies on initial and fully established fructose-induced metabolic syndrome in rats. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 2502–2514.
- Carpentieri A, Marchionatti A, Areco V, Perez A, Centeno V, Tolosa de Talamoni N, Mol. Cell, 2014. Antioxidant and antiapoptotic properties of melatonin restore intestinal calcium absorption altered by menadione. *Biochem*, 387, 197–205.
- Celinski K, Konturek PC, Slomka M, Cichoz-Lach H, Gonciarz M, Bielanski W, Reiter RJ, Konturek SJ, 2009. Altered basal and postprandial plasma melatonin, gastrin, ghrelin, leptin and insulin in patients with liver cirrhosis and portal hypertension without and with oral administration of melatonin or tryptophan. *J Pineal Res*, 46(4), 408-14.
- Chan TY, Tang PL, 1995. Effect of melatonin on the maintenance of cholesterol homeostasis in the rat. *Endocr. Res*, 21, 681–696.
- Chang HM, Huang YL, Lan CT, Wu UI, Hu ME, Youn SC, 2008. Melatonin preserves superoxide dismutase activity in hypoglossal motoneurons of adult rats following peripheral nerve injury. *J. Pineal Res*, 44, 172–180.
- Cheng K, Chan WW, Butler B, Wei L, Schoen WR, Wyvratt MJ, Fisher MH, Smith RG, 1993. Stimulation of growth hormone release from rat primary pituitary cells by L-692,429, a novel non-peptidyl GH secretagogue. *Endocrinology*, 132, 2729—31.
- Coll AP, Farooqi S, Challis BG, Yeo GS, O’Rahilly S, 2004. Proopiomelanocortin and energy balance: insights from human and murine genetics. *J Clin Endocrinol. Metab*, 89, 2557–2562.
- Cowley MA, Grove KL, 2006. To be or NUCB2, is nesfatin the answer? *Cell Metab*, 4, 421–422.
- Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschoop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL, 2003. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 37, 649—61.
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS, 2001. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 50, 1714—9.
- Date Y, Shimbara T, Koda S, Toshinai K, Ida T, Murakami N, Miyazato M, Kokame K, Ishizuka Y, Ishida Y, Kageyama H, Shioda S, Kangawa K, Nakazato M, 2006. Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. *Cell Metab*, 4, 323—31.
- Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M, 2000. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, 141, 4255—61.
- Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Niijima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M, 2002. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*, 123, 1120—8.

- Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T, Matsukura S, 2002. Ghrelin is present in pancreatic alpha- cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes*, 51, 124—9.
- De Filippis D, Iuvone T, Esposito G, Steardo L, Arnold GH, Paul AP, De Man Joris G, De Winter Benedicte Y, 2008. Melatonin reverses lipopolysaccharide-induced gastro-intestinal motility disturbances through the inhibition of oxidative stress. *J Pineal Res*, 44, 45–51.
- De Pedro N, Martínez-Alvarez RM, Delgado MJ, 2008. Melatonin reduces body weight in goldfish (*Carassius auratus*): effects on metabolic resources and some feeding regulators. *J Pineal Res*, 45(1), 32-39.
- Delporte C, 2012. Recent advances in potential clinical application of ghrelin in obesity. *J Obes*, 535624.
- Deniz R, Gurates B, Aydin S, Celik H, Sahin I, Baykus Y, Catak Z, Aksoy A, Citil C, Gungor S, 2012. Nesfatin-1 and other hormone alterations in polycystic ovary syndrome. *Endocrine*, 42, 694–699.
- Depoortere I, 2009. Targeting the ghrelin receptor to regulate food intake. *Regul Pept*, 156, 13-23.
- Dezaki K, Sone H, Koizumi M, Nakata M, Kakei M, Nagai H, Hosoda H, Kangawa K, Yada T, 2006. Blockade of pancreatic islet-derived ghrelin enhances insulin secretion to prevent high-fat diet-induced glucose intolerance. *Diabetes*, 55, 3486—93.
- Dilek M, Naziroglu M, Baha Oral H, Ovey IS, Kucukayaz M, Mungan MT, Kara HY, Sutcu R, 2010. Melatonin modulates hippocampus NMDA receptors, blood and brain oxidative stress levels in ovariectomized rats. *J Membr Biol*, 233, 135–142.
- Dimitrev LF, Titov VN, 2010. Lipid peroxidation in relation to ageing and the role of endogenous aldehydes in diabetes and other age-related diseases. *Ageing Res Rev*, 9,200–210.
- Disse E, Bussier A-L, Veyrat-Durebex C, Deblon N, Pfluger PT, Tschöp MH, Laville M, Rohner-Jeanrenaud F, 2010. Peripheral ghrelin enhances sweet taste food consumption and preference, regardless of its caloric content. *Physiol Behav*, 101, 277-281.
- Dong J, Xu H, Xu H, Wang PF, Cai GJ, Song HF, Wang CC, Dong ZT, Ju YJ, Jiang ZY, 2013. Nesfatin-1 stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in STZ-induced type 2 diabetic mice. *PLoS One*, 8, e83397.
- Ejskjaer N, Wo JM, Esfandyari T, Mazen Jamal, Dimcevski G, Tarnow L, Malik RA, Hellström PM, Mondou E, Quinn J, Rousseau F, McCallum R, 2013. A phase 2da, randomized, double-blind 28-day study of TZP-102 a ghrelin receptor agonist for diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 25, e140-e150.
- Erken HA, Koc ER, Genc O, Erken G, Genç O, Celik HT, Gokce EC, Ayada C, Turgut S, Turgut G, 2015. Proconvulsant effect of NUCB2/nesfatin-1. *Int J of Pept Res and Ther*, 21, 21-38.
- Esler WP, Rudolph J, Claus TH, Tang W, Barucci N, Brown SE, Bullock W, Daly M, Decarr L, Li Y, Milardo L, Molstad D, Zhu J, Gardell SJ, Livingston JN, Sweet LJ, 2007. Smallmolecule ghrelin receptor antagonists improve glucose tolerance, suppress appetite, and promote weight loss. *Endocrinology*, 148, 5175-5185.
- Evans J, Patchett AA, Smith RG, Howard AD, 1999. Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. *Science*, 284, 2184—8.
- Feighner SD, Tan CP, McKee KK, Palyha OC, Hreniuk DL, Pong SS, Austin CP, Figueroa D, MacNeil D, Cascieri MA, Nargund R, Bakshi R, Abramovitz M, Stocco R, Kargman S, O'Neill G, Van der Ploeg LH, Figueroa-Quevedo A, Agil A, 2012. Changes in plasma's oxidative stress and antioxidant activity, measured with melatonin levels, and its relationship to newborns from obese and diabetic pregnancies. *J Diabetes Metab*, S4, 1-10.
- Finger B, Dinan T, Cryan J, 2012. Diet-induced obesity blunts the behavioural effects of ghrelin: studies in a mouse-progressive ratio task. *Psychopharmacology (Berl)*, 220, 173-181.
- Flier JS, 2004. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*, 116, 337—50.

- Foo K, Brismar H, Broberger C, 2008. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience*, 15, 563-579.
- Fragua V, González-Ortiz G, Villaverde C, Hervera M, Mariotti V, Manteca X, Baucells MD, 2011. Preliminary study: voluntary food intake in dogs during tryptophan supplementation. *Br J Nutr*, 106 Suppl 1, S162-5.
- Frese T, Bach AG, Mühlbauer E, Pönicke K, Brömmel HJ, Welp A, Peschke E, 2009. Pineal melatonin synthesis is decreased in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Life Sci*, 85, 526-533.
- Galano A, Tan DX, Reiter RJ, 2013. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J. Pineal Res*, 54, 245-257.
- Garcia JM, Polvino WJ, 2007. Effect on body weight and safety of RC-1291, a novel, orally available ghrelin mimetic and growth hormone secretagogue: Results of a phase I, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study in healthy volunteers. *Oncologist* 12, 594-600.
- Garcia-Galiano D, Navarro VM, Gaytan F, Tena-Sempere M, 2010a. Expanding roles of NUCB2/nesfatin-1 in neuroendocrine regulation. *J Mol Endocrinol*. 45, 281-290.
- Garcia-Galiano D, Navarro VM, Roa J, Ruiz-Pino F, Sanchez- Garrido MA, Pineda R, Castellano JM, Romeo M, Aguilar E, Gaytán F, Diéguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M, 2010b. The anorexigenic neuropeptide, nesfatin-1, is indispensable for normal puberty onset in the female rat. *J Neurosci*. 30, 7783-7792.
- Garcia-Moreno H, Calvo JR, Maldonado MD, 2013. High levels of melatonin generated during the brewing process. *J. Pineal Res*, 55, 26-30.
- Garin MC, Burns CM, Kaul S, Cappola AR, 2013. The human experience with ghrelin administration. *J Clin Endocrinol Metab*, 98, 1826-1837.
- Girouard H, Denault C, Chulak C, De Champlain J, 2004. Treatment by n-acetylcysteine and melatonin increases cardiac baroreflex and improves antioxidant reserve. *Am. J. Hypertens*, 17, 947-954.
- Gitto E, Pellegrino S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ, 2009. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *J. Pineal Res*, 46, 128-139.
- Gocgeldi E, Uysal B, Korkmaz A, Ogur R, Reiter RJ, Kurt B, Oter S, Topal T, Hasde M, 2008. Establishing the use of melatonin as an adjuvant therapeutic against paraquat-induced lung toxicity in rats. *Exp. Biol. Med*, 233, 1133-1144.
- Goebel M, Stengel A, Wang L, Tache Y, 2009. Restraint stress activates nesfatin-1-immunoreactive brain nuclei in rats. *Brain Res*. 1300, 114-124.
- Goebel-Stengel M, Wang L, 2013. Central and peripheral expression and distribution of NUCB2/nesfatin-1. *Curr Pharm Des*, 19, 6935-6940.
- Gonzalez R, Tiwari A, Unniappan S, 2009. Pancreatic beta cells colocalize insulin and pronesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochem Biophys Res Commun*, 381, 643-648.
- Gonzalez-Flores D, Gamero E, Garrido M, Ramirez R, Moreno D, Delgado J, Valdés E, Barriga C, Rodríguez AB, Paredes SD, 2012. Urinary 6-sulfatoxymelatonin and total antioxidant capacity increase after the intake of a grape juice cv. Tempranillo stabilized with HHP. *Food Funct*, 3, 34-39.
- Gorcharova ND, Vengerin AA, Khavinson V, Lapin BA, 2005. Pineal peptides restore the age-related disturbances in hormonal functions of the pineal gland and the pancreas. *Exp. Gerontol*, 40, 51-57.
- Gourcerol G, Million M, Adelson DW, Wang Y, Wang L, Rivier J, St-Pierre DH, Taché Y, 2006. Lack of interaction between peripheral injection of CCK and obestatin in the regulation of gastric satiety signaling in rodents. *Peptides*, 27, 2811-9.
- Gunduz B, 2002. Daily rhythm in serum melatonin and leptin levels in the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 132(2), 393-401.
- Guo FF, Xu L, Gao SL, Sun XR, Li ZL, Gong YL, 2015. The effects of nesfatin-1 in the paraventricular nucleus on gastric motility and its potential regulation by the lateral hypothalamic area in rats. *J Neurochem*, 132, 266-275.

- Hardeland R, 2011. Melatonin and its metabolites as anti-nitrosating and anti-nitrating agents. *J. Exp. Integr. Med.*, 1, 67–81.
- Hardeland R, Tan DX, Reiter RJ, 2009. Kynuramines, metabolites of melatonin and other indoles: the resurrection of an almost forgotten class of biogenic amines. *J. Pineal Res.*, 47, 109–126.
- Hewson AK, Dickson SL, 2000. Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J Neuroendocrinol.*, 12, 1047–9.
- Higashi Y, Nakagawa K, Kimura M, Noma K, Hara K, Sasaki S, Goto C, Oshima T, Chayama K, Yoshizumi M, 2002. Circadian variation of blood pressure and endothelial function in patients with essential hypertension:a comparison of dippers and non-dippers. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 40, 2039–2043.
- Holst B, Egerod KL, Schild E, Vickers SP, Cheetham S, Gerlach LO, Storjohann L, Stidsen CE, Jones I, Beck-Sickinger AG, Schwartz TW, 2007. GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin. *Endocrinology*, 148, 13–20.
- Holst B, Lang M, Brandt E, Bach A, Howard A, Frimurer TM, Beck-Sickinger A, Schwartz TW, 2006. Ghrelin receptor inverse agonists: identification of an active peptide core and its interaction epitopes on the receptor. *Mol Pharmacol.*, 70, 936–946.
- Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, 2000. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun.*, 279, 909–13.
- Hotta M, Ohwada R, Akamizu T, Shibasaki T, Takano K, Kangawa K, 2009. Ghrelin increases hunger and food intake in patients with restricting-type anorexia nervosa: A pilot study *Endocr J.*, 56, 1119–1128.
- Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Paress PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chaung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Patchett AA, Nargund R, Griffin PR, DeMartino JA, Gupta SK, Schaeffer JM, Smith RG, Van der Ploeg LH, 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 273, 974–7.
- Hoyos M, Guerrero JM, Perez-Cano R, Olivan J, Fabiani F, García-Pergañeda A, Osuna C, 2000. Serum cholesterol and lipid peroxidation are decreased by melatonin in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J. Pineal Res.*, 28, 150–155.
- Huang L, Zhang C, Hou Y, Laudon M, She M, Yang S, Ding L, Wang H, Wang Z, He P, Yin W, 2013. Blood pressure reducing effects of piromelatine and melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 17, 2449–2456.
- Hussain SA, Hussein KI, Saied BN, 2004. Improvement of the hypolipidemic effect of lovastatin with melatonin. *Iraq. Postgrad. Med. J.*, 6, 73–78.
- Hussein MR, Ahmed OG, Hassan AF, Ahmed MA, 2007. Intake of melatonin is associated with amelioration of physiological changes, both metabolic and morphological pathologies associated with obesity: an animal model. *Int. J. Exp. Pathol.*, 88, 19–29.
- Ida T, Miyazato M, Lin XZ, Kaiya H, Sato T, Nakahara K, Murakami N, Kangawa K, Kojima M, 2010. Purification and characterization of caprine ghrelin and its effect on growth hormone release. *J Mol Neurosci.*, 42, 99–105.
- Ismail SH, Has H, Numan NA, 2004. Hypolipidemic effect of melatonin in dyslipidemiaassociated with diabetes. *Iraqi Postgrad. Med. J.*, 3, 223–226.
- Jangra A, Datusalia AK, Khandwe S, Sharma SS, 2013. Amelioration of diabetes-induced neurobehavioral and neurochemical changes by melatonin and nicotinamide: implication of oxidative stress-PARP pathway. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 114–115, 43–51.
- Jimenez-Aranda A, Fernandez-Vázquez G, Campos D, Tassi M, Velasco-Perez L, Tan DX, Reiter RJ, Agil A, 2013. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *J. Pineal Res.*, 55, 416–423.
- Jou MJ, Peng TI, Hsu LF, Jou SB, Reiter RJ, Yang CM, Chiao CC, Lin YF, Chen CC, 2010. Visualization of melatonin's multiple mitochondrial levels of protection against mitochondrial

- Ca(2+)-mediated permeability transition and beyond in rat brain astrocytes. *J. Pineal Res.*, 48, 20–38.
- Jung KH, Hong SW, Zheng HM, Lee HS, Hee H, Lee DH, Lee SY, Hong SS, 2010. Melatonin ameliorates cerulein-induced pancreatitis by the modulation of nuclear erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB in rats. *J. Pineal Res.*, 48, 239–250.
- Kadhim HM, Isnail SH, Hussein KI, Bakir IH, Sahib AS, B. H. Khalaf BH, Hussain SA, 2006. Effects of melatonin and zinc on lipid profile and renal function in type 2 diabetic patients poorly controlled with metformin. *J. Pineal Res.*, 41, 189–193.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Koda A, Yamamoto K, Kitajima Y, Matsumoto M, Minamitake Y, Kikuyama S, Kangawa K, 2001. Bullfrog ghrelin is modified by n-octanoic acid at its third threonine residue. *J Biol Chem*, 276, 40441–8.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Moriyama S, Takahashi A, Kawauchi H, Kangawa K, 2003a. Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. *Endocrinology*, 144, 5215–26.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K, 2003c. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 135, 421–9.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K, 2003b. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *J Endocrinol*, 176, 415–23.
- Kaiya H, Van Der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, Kitajima Y, Matsumoto M, Geelissen S, Darras VM, Kangawa K, 2002. Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology*, 143, 3454–63.
- Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, Hataya Y, Moriyama K, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K, 2004. Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology*, 145, 4144–53.
- Kentish SJ, Li H, Frisby CL, Page AJ, 2017. Nesfatin-1 modulates murine gastric vagal afferent mechanosensitivity in a nutritional state dependent manner. *Peptides*, 89, 35–41.
- Kirchner H, Gutierrez JA, Solenberg PJ, Pfluger PT, Czyzyk TA, Willency JA, Schürmann A, Joost HG, Jandacek RJ, Hale JE, Heiman ML, Tschöp MH, 2009. GOAT links dietary lipids with the endocrine control of energy balance. *Nat Med*, 2009, 15, 741–5.
- Kojima M, Kangawa K, 2005. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev*, 85, 495–522.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K, 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402, 656–60.
- Konar V, Kara H, Yilmaz M, Dayangae A, Karatas F, 2007. Effects of selenium and vitamin E, in addition to melatonin, against oxidative stress caused by cadmium in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 118, 131–137.
- Korkmaz A, 2009. Epigenetic actions of melatonin. *J. Pineal Res.*, 46, 117–118.
- Korkmaz A, Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, 2011. Melatonin; from pineal gland to healthy foods. *Spatula*, 1, 33–36.
- Korkmaz A, Reiter RJ, Topal T, Manchester LC, Oter S, Tan DX, 2009c. Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials. *Mol. Med*, 15, 43–50.
- Korkmaz A, Tamura H, Manchester LC, Ogden GB, Tan DX, Reiter RJ, 2009b. Combination of melatonin and a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist induces apoptosis in a breast cancer cell line. *J. Pineal Res.*, 46, 115–116.
- Korkmaz A, Topal T, Tan DX, Reiter RJ, 2009a. Role of melatonin in metabolic regulation. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 10, 261–270.
- Kuszack J, Rodin MA, 1977. New technique of pinealecotomy for adult rats. *Pro Experiments*, 32, 283–284.

- Landgren S, Simms J, Thelle D, Strandhagen E, Bartlett SE, Engel JA, Jerlhag E, 2011. The ghrelin signalling system is involved in the consumption of sweets. *PLoS ONE*, 6, e18170
- Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley Jr GH, 2002. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine pep- tide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipula- tions. *Endocrinology*, 143, 185—90.
- Leivo-Korpela S, Lehtimaki L, Hamalainen M, Vuolleaho K, Koobi L, Jarvenpaa R, Kankaanranta H, Saarelainen S, Moilanen E, 2014. Adipokines NUCB2/nesfatin-1 and visfatin as novel inflammatory factors in chronic obstructive pulmonary disease. *Mediators Inflamm*, 2014, 232167.
- Lenk K, Palus S, Schur R, Datta R, Dong J, Culler MD, Anker S, Springer J, Schuler G, Adams V, 2013. Effect of ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, on the expression of myostatin in a rat heart failure model. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 4, 63-69.
- Li JB, Nishida M, Kaimoto K, Asakawa A, Chaolu H, Cheng KC, Li YX, Terashi M, Koyama KI, Amitani H, Sakoquchi T, Ushikai M, Ikeda S, Aoyama K, Horiuchi M, Li JZ, Inui A, 2014. Effects of aging on the plasma levels of nesfatin-1 and adiponectin. *Biomed Rep*, 2, 152-156.
- Liu F, Yang Q, Gao N, Liu F, Chen S, 2014. Decreased plasma nesfatin-1 level is related to the thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res*. 2014, 128014.
- Longoni B, Salgo G, Pryor WA, Marchiafava PL 1998. Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci*, 62, 853–859.
- Malik S, McGlone F, Bedrossian D, Dagher A, 2008. Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. *Cell Metab*, 7, 400-409.
- Mauriz JL, Collado PS, Veneroso C, Reiter RCJ, González-Gallego J, 2013. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *Pineal Res*, 54, 1–14.
- Merali Z, Cayer C, 2008. Nesfatin-1 increases anxiety- and fear-related behaviors in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 201, 115-123.
- Miljic D, Pekic S, Djurovic M, Doknic M, Milic N, Casanueva FF, Ghatei M, Popovic V, 2006. Ghrelin has partial or no effect on appetite, growth hormone, prolactin, and cortisol release in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*, 91, 1491-1495.
- Millington GV, 2007. The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. *Nutr. Metab*, 4, 1–16.
- Mogulkoc R, Baltaci AK, Oztekin E, Aydin L, Tuncer I, 2005. Hyperthyroidism causes lipid peroxidation in kidney and testis tissues of rats: protective role of melatonin. *Neuro Endocrinol Lett*, 26, 806-10.
- Mountjoy KG, 2010. Functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides in obesity and diabetes. *Biochem. J*, 428, 305–324.
- Mullerwieland D, Behnke B, Koopmann Kand K, Krone W, 1994. Melatonin inhibits LDL receptor activity and cholesterol synthesis in freshly isolated human mononuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 203, 416–421.
- Mustonen AM, Nieminen P, Hyvarinen H, 2001. Preliminary evidence that pharmacologic melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine*, 16, 43-46.
- Mustonen AM, Nieminen P, Asikainen J, Saarela S, Kukkonen JV, Hyvärinen H, 2004. Continuous melatonin treatment and fasting in the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*)- vernal body weight regulation and reproduction. *Zoolog Sci*, 21(2), 163-72.
- Mustonen AM, Nieminen P, Hyvärinen H, 2002. Effects of continuous light and melatonin treatment on energy metabolism of the rat. *J Endocrinol Invest*, 25(8), 716-23.
- Myers MG, Cowley MA, Munzberg H, 2008. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*. 70, 537- 556.
- Nagaya N, Itoh T, Murakami S, Oya H, Uematsu M, Miyatake K, Kangawa K, 2005. Treatment of cachexia with ghrelin in patients with copd. *Chest*, 128, 1187-1193.

- Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, Uematsu M, Ono F, Shimizu W, Ueno K, Kitakaze M, Miyatake K, Kangawa K, 2004. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 110, 3674-3679.
- Nakata M, Manaka K, 2011. Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca (2+) influx through L-type channels in mouse islet β-cells. *Endocr J*, 58, 305-313.
- Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kan-gawa K, Matsukura S, 2001. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 409, 194—8.
- Nava M, Quiroz Y, Vaziri N, Rodriguez-Iturbe B, 2003. Melatonin reduces renal interstitial inflammation and improves hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 284, F447–F454.
- Navarro-Alarcón M, Ruiz-Ojeda FJ, Blanca- Herrera RM, Kaki A, Adem A, Agil A, 2014. Melatonin administration in diabetes: regulation of plasma Cr, V, and Mg in young male Zucker diabetic fatty rats. *Food Funct*, 5, 512–516.
- Navarro-Alarcón M, Ruiz-Ojeda FJ, Blanca-Herrera R, Agil A, 2013. Antioxidant activity of melatonin in diabetes in relation to the regulation and levels of plasma Cu, Zn, Fe, Mn, and Se in Zucker diabetic fatty rats. *Nutrition*, 29, 785–789.
- Navarro-Alarcón M, Ruiz-Ojeda FJ, Blanca-Herrera RM, A-Serrano MM, Acuña-Castroviejo D, Fernández-Vázquez G, Agil A, 2014. Melatonin and metabolic regulation: a review. *Food Funct*, 5, 2806-32. *Neuro Endocrinol Lett*, 26, 555-60.
- Neary NM, Small CJ, Wren AM, Lee JL, Druce MR, Palmieri C, Frost GS, Ghatei MA, Coombes RC, Bloom SR, 2004. Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 2832-2836.
- Niles LP, Armstrong KJ, Rincon Castro LM, Dao CV, Sharma R, McMillan CR, Doering LC, Kirkham DL, 2004. Neural stem cells express melatonin receptors and neurotrophic factors: colocalization of the MT1 receptor with neuronal and glial markers. *BMC Neurosci*, 5, 41.
- Nishi Y, Hiejima H, Hosoda H, Kaiya H, Mori K, Fukue Y, Yanæ T, Nawata H, Kangawa K, Kojima M, 2005. Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology*, 146, 2255—64.
- Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Inui A, 2011. Ghrelin and anorexia nervosa: A psychosomatic perspective. *Nutrition*, 27, 988-993.
- Ohgusu H, Shirouzu K, Nakamura Y, Nakashima Y, Ida T, Sato T, Kojima M, 2009. Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) has a preference for n-hexanoyl-CoA over n-octanoyl-CoA as an acyl donor. *Biochem Biophys Res Commun*, 386, 153—8.
- Oh-I S, Shimizu H, 2006. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*, 443, 709-712.
- Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M, 2006. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*, 443, 709–712.
- Oksay T, Naziroğlu M, Doğan S, Güzel A, Gümrak N, Koşar PA, 2014. Protective effects of melatonin against oxidative injury in rat testis induced by wireless (2.45 GHz) devices. *Andrologia*, 46, 65–72.
- Othman AI, El-Missiry A, Amer MA, Arafa M, 2008. Melatonin controls oxidative stress and modulates iron, ferritin, and transferrin levels in adriamycin treated rats. *Life Sci*, 83, 563–568.
- Ozsavci D, Erşahin M, 2011. The novel function of nesfatin-1 as an anti-inflammatory and antiapoptotic peptide in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. *Neurosurgery*, 68, 1699-1708.
- Palasz A, Krzystanek M, Worthington J, Czajkowska B, Kostro K, Wiaderkiewicz R, Bajor G, 2012. Nesfatin-1, a unique regulatory neuropeptide of the brain. *Neuropeptides*, 46, 105-112.
- Palus S, Schur R, Akashi YJ, Bockmeyer B, Datta R, Haleem H, Dong J, Culler MD, Adams V, Anker SD, Springer J , 2011. Ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, improve body weight and regulate the expression of MuRF-1 and MAFbx in a rat heart failure model. *PLoS ONE*, 6, e26865.

- Pan W, Hsueh H, Kastin AJ, 2007. Nesfatin-1 crosses the bloodbrain barrier without saturation. *Peptides*, 28, 2223-2228.
- Paradies G, Petrosillo G, Paradies V, Reiter RJ, Ruggiero FM, 2010. Oxidative stress, mitochondrial bioenergetics, and cardiolipin in aging. *J. Pineal Res*, 48, 297–310.
- Patchett AA, Nargund RP, Tata JR, Chen MH, Barakat KJ, Johnston DB, Cheng K, Chan WW, Butler B, Hickey G, Jack T, Schleim K, Pong SS, Chaung LYP, Chen HY, Frazier E, Leung KH, Chiu SHL, Smith RG, 1995. Design and biological activities of L-163,191 (MK-0677): a potent, orally active growth hormone secretagogue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92, 7001—5.
- Perello M, Sakata I, Birnbaum S, Chuang JC, Osborne-Lawrence S, Rovinsky SA, Woloszyn J, Yanagisawa M, Lutter M, Zigman JM, 2010. Ghrelin increases the rewarding value of high-fat diet in an orexin-dependent manner. *Biol Psychiatry*, 67, 880-886.
- Perelló M, Zigman JM, 2012. The role of ghrelin in reward-based eating. *Biol Psychiatry*, 72, 347-353.
- Peschke E, 2008. Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. *J. Pineal Res*, 44, 26–40.
- Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E, 2013. Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int. J. Mol. Sci*, 14, 6981–7015.
- Peschke E, Frese T, Chankiewitz E, Peschke D, Preiss U, Schneyer U, Spessert R, Mühlbauer E, 2006. Diabetic Goto Kakizaki rats as well as type 2 diabetic patients show a decreased diurnal serum melatonin level and an increased pancreatic melatonin-receptor status. *J. Pineal Res*, 40, 135–143.
- Peschke E, Stumpf I, Bazwinsky I, Litvak L, Dralle H, Mühlbauer E, 2007. Melatonin and type 2 diabetes - a possible link? *J. Pineal Res*, 42, 350–358.
- Peschke E, Wolgast S, Bazwinsky I, Pönicke K, Mühlbauer E, 2008. Increased melatonin synthesis in pineal glands of rats in streptozotocin induced type 1 diabetes. *J. Pineal Res*, 45, 439–448.
- Peynot F, Ducrocq CD, 2008. Potential role of tryptophan derivatives in stress responses characterized by the generation of reactive oxygen and nitrogen species. *J. Pineal Res*, 45, 235–246.
- Price TO, Samson WK, Niehoff ML, Banks WA, 2007. Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides*, 28, 2372-2381.
- Prunet-Marcassus B, Desbazeille M, Bros A, Louche K, Delagrange P, Renard P, Casteilla L, Pénaud L, 2003. Melatonin reduces body weight gain in Sprague Dawley rats with diet-induced obesity. *Endocrinology*, 144, 5347–5352.
- Ramanjaneya M, Chen J, 2010. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology*, 151, 3169–3180.
- Raskin MA, Burke BL, Crites NJ, Tapp AM, Rasmussen DD, 2007. Olanzapine-induced weight gain and increased visceral adiposity is blocked by melatonin replacement therapy in rats. *Neuropsychopharmacology*, 32, 284–228.
- Rasmussen DD, Boldt BM, Wilkinson CW, Yellon SM, Matsumoto AM, 1999. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels. *Endocrinology*, 140, 1009–1012.
- Rasmussen DD, Mitton DR, Larsen SA, Yellon SM, 2001. Aging-dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat metabolic and behavioral responses. *J. Pineal Res*, 31, 89–94.
- Reimer MK, Pacini G, Ahren B, 2003. Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 144, 916—21.
- Reiter RJ, 1991. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr. Rev*, 12, 151–180.
- Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS, 1997. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm. Metab. Res*, 29, 363–372.

- Reiter RJ, Jiménez-Aranda A, Ibáñez-Arias R, Navarro-Alarcón M, Marchal JA, Adem A, Fernández-Vázquez G, 2013. Melatonin ameliorates low-grade inflammation and oxidative stress in young Zucker diabetic fatty rats. *J. Pineal Res.*, 54, 381–388.
- Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan DX, 2009. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 44, 175–200.
- Reiter RJ, Paredes SD, Korkmaz A, Jou MT, Tan DX, 2008. Melatonin combats molecular terrorism at the mitochondrial level. *Interdiscip. Toxicol.*, 1, 137–149.
- Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan DX, 2009. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 44, 175–200.
- Reiter RJ, Tan DX, Fuentes-Broto L, 2010. Melatonin: a multitasking molecule. *Prog. Brain Res.*, 181, 127–151.
- Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, 2009. The circadian melatonin rhythm and its modulation: possible impact on hypertension. *J. Hypertens.*, 27, S17–S20.
- Reiter RJ, Tan DX, Leon J, Kilic U, Kilic E, 2005. When melatonin gets on your nerves: its beneficial actions in experimental models of stroke. *Exp. Biol. Med.*, 230, 104–117.
- Repová-Bednárová K, Aziriová S, Hrenák J, Krajcírovicová K, Adamcová M, Paulis Land L, Simko F, 2013. Effect of captopril and melatonin on fibrotic rebuilding of the aorta in 24 hour light-induced hypertension. *Physiol. Res.*, 12, S135–S141.
- Riva M, Nitert MD, Voss U, Sathanoori R, Lindqvist A, Ling C, Wierup N, 2011. Nesfatin-1 stimulates glucagon and insulin secretion and beta cell NUCB2 is reduced in human type 2 diabetic subjects. *Cell Tissue Res.*, 346, 393–405.
- Robeva R, Kiritov G, Tomova A, Kumanov PH, 2008. Melatonin-insulin interactions in patients with metabolic syndrome. *J. Pineal Res.*, 44, 52–56.
- Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, Reiter RJ, 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.*, 36, 1–9.
- Rodríguez MI, Escames G, López LC, López A, García JA, Ortiz F, Sánchez V, Romeu M, Acuña-Castroviejo D, 2008. Improved mitochondrial function and increased life span after chronic melatonin treatment in senescent prone mice. *Exp. Gerontol.*, 43, 749–756.
- Salido EM, Bordone M, Laurentils A, Chianelli M, Keller Sarmiento MI, Dorfman D, Rosenstein RU, 2013. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats. *J. Pineal Res.*, 54, 179–189.
- Salti R, Tarquini R, Stagi S, Perfetto F, Cornélissen G, Laffi G, Mazzoccoli G, Halberg F, 2006. Age-dependent association of exposure to television screen with children's urinary melatonin excretion? *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 27, 73–80.
- Samantary S, Sribnick EA, Das A, Kanaryan VH, Matzelle DD, A. V. Yallapragada AV, Reiter RJ, Rayand SK, Banik NL, 2008. Melatonin attenuates calpain upregulation, axonal damage and neuronal death in spinal cord injury in rats. *J. Pineal Res.*, 44, 348–357.
- Sato T, Fukue Y, Teranishi H, Yoshida Y, Kojima M, 2005. Molecular forms of hypothalamic ghrelin and its regulation by fasting and 2-deoxy-d-glucose administration. *Endocrinology*, 146, 2510–6.
- Schaefer M, Hardeland R, 2009. The melatonin metabolite N-acetyl-5-methoxykynuramine is a potent singlet oxygen scavenger. *J. Pineal Res.*, 46, 49–52.
- Scheer FA, Van Montfrans GA, Van Someren EJ, Mairuhu G, Buijs RM, 2004. Daily nighttime melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension. *Hypertension*, 43, 192–197.
- Schrott B, Schürmann A, Joost HG, Hammond C, Hui DY, Woods SC, Rahmouni K, Butler AA, Farooqi IS, O'Rahilly S, Rohner-Jeanrenaud F, Tschöp MH, 2007. The central melanocortin system directly controls peripheral lipid metabolism. *J Clin Invest.*, 117, 3475–3488.
- Sedbazar U, Ayush EA, Maejima Y, Yada T, 2014. Neuropeptide Y and α-melanocyte-stimulating hormone reciprocally regulate nesfatin-1 neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroreport*, 25, 1453–1458.

- Senejani AG, Gaupale TC, Unniappan S, Bhargava S, 2014. Nesfatin-1/nucleobindin-2 like immunoreactivity in the olfactory system, brain and pituitary of frog, *Microhyla ornata*. *Gen Comp Endocrinol*, 202, 8-14.
- Sener A, Ozsavci D, Bingol-Ozakpinar O, Cevik O, Yanikkaya-Demirel G, Yardimce T, 2009. Oxidized-LDL and Fe³⁺/ascorbic acid-induced oxidative modifications and phosphatidylserine exposure in human platelets are reduced by melatonin. *Folia Biol*, 55, 45–52.
- Sener G, Balkan J, Cevikba U, Keyer M, Uysal M, 2004. Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of C57BL/6J mice. *J. Pineal Res*, 36, 212–216.
- Sharma R, McMillan CR, Niles LP, 2007. Neural stem cell transplantation and melatonin treatment in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J. Pineal Res*, 43, 245–254.
- Sharma R, Ottenhof T, Rzeczkowska PA, Niles LP, 2008. Epigenetic targets for melatonin: induction of histone H3 hyperacetylation and gene expression in C17.2 neural stem cells. *J. Pineal Res*, 47, 277–284.
- Sharma S, Singh H, Ahmad N, Mishra P, Tiwari A, 2015. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications. *Arch Endocrinol Metab*, 59, 391-9.
- She M, Deng X, Guo Z, Laudon M, Hu Z, Liao D, Hu X, Luo Y, Shen Q, Su Z, Yin W, 2009. NEU-P11, a novel melatonin agonist, inhibits weight gain and improves insulin sensitivity in high-fat/high-sucrose-fed rats. *Pharmacol. Res*, 59, 248–253.
- Shen P, Han Y, Cai B, Wang Y, 2015. Decreased levels of serum nesfatin-1 in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath*, 19, 515–522.
- Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohmo T, Watabe Y, Hayashi M, Wada T, Aoyagi T, Tezuka M, 2005. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 12071–12076.
- Shimizu H, Inoue K, Mori M, 2007. The leptin-dependent and-independent melanocortin signaling system: regulation of feeding and energy expenditure. *J Endocrinol*, 193, 1-9.
- Shimizu H, Oh-I S, 2009. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology*, 150, 662-671.
- Shimizu H, Oh-I S, Okada S, Mori M, 2009. Nesfatin-1: an overview and future clinical application. *Endocr J*, 56, 537-543.
- Skibicka KP, Shirazi RH, Rabasa-Papio C, Alvarez-Crespo M, Neuber C, Vogel H, Dickson SL, 2013. Divergent circuitry underlying food reward and intake effects of ghrelin: Dopaminergic VTA –accumbens projection mediates ghrelin's effect on food reward but not food intake. *Neuropharmacology*, 73, 274-283.
- Smith RG, Leonard R, Bailey AR, Palyha O, Feighner S, Tan C, McKee KK, Pong SS, Griffin P, Howard A, 2001. Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. *Endocrine*, 14, 9—14.
- Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvratt MJ Jr, Fisher MH, Nargund RP, Patchett AA, 1997. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev*, 18, 621—45.
- Solomou S, Korbonits M, 2014. The role of ghrelin in weight-regulation disorders: Implications in clinical practice. *Hormones*, 13, 458-475.
- Sparks JD, Phung TL, Bolognino M, Cianci J, Kurana R, Peterson RG, Sowden MP, Corsetti JP, Sparks CE, 1998. Lipoprotein alterations in 10- and 20-week-old Zucker diabetic fatty rats: hyperinsulinemic versus insulinopenic hyperglycemia. *Metabolism*, 47, 1315–1324.
- Ste Marie L, Miura GI, Marsh DJ, Yagaloff K, Palmiter RD, 2000. A metabolic defect promotes obesity in mice lacking melanocortin-4 receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 97, 12339–12344.
- Stengel A, 2009. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxytic mucosa. *Endocrinology*, 150, 232-238.

- Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Monnikes H, Lambrecht NW, Taché Y, 2009. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology*, 150, 4911-4919.
- Stengel A, Tache Y, 2010. Nesfatin-1 role as possible new potent regulator of food intake. *Regul Pept*, 163, 18-23.
- Stengel A, Tache Y, 2013. Role of brain NUCB2/nesfatin-1 in the regulation of food intake. *Curr Pharm Des*. 19, 6955-6959.
- Su Y, Zhang J, 2010. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia. *Biochem Biophys Res Commun*. 391, 1039-1042.
- Subramanian P, Mirunalini S, Dakshayani KB, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Cardinali DP, 2007. Prevention by melatonin of hepatocarcinogenesis in rats injected with N-nitrosodiethylamine. *J Pineal Res*, 43, 305-12.
- Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Aasada H, Yamagata Y, Sugino N, 2014. Melatonin and female reproduction. *J Obstet Gynaecol Res*, 40, 1-11.
- Tan DX, Harderland R, Manchester LC, Korkmaz A, Ma S, Rosales-Corral S, Reiter RJ, 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *J Exp Bot*, 63, 577-597.
- Tan DX, Manchester LC, Fuentes-Broto L, Paredes SD, Reiter RJ, 2011. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. *Obes Rev*, 12, 167-188.
- Tanaka M, Hayashida Y, Iguchi T, Nakao N, Nakai N, Nakashima K, 2001. Organization of the mouse ghrelin gene and promoter: occurrence of a short noncoding first exon. *Endocrinology*, 142, 3697—700.
- Tang WY, Ho SM, 2007. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev Endocr Metab Disord*, 8, 173-182.
- Tanida M, Mori M, 2011. Nesfatin-1 stimulates renal sympathetic nevre activity in rats. *Neuroreport*, 22, 309-312.
- Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, Noqueiras R, Perez-Tilve D, Pfluger P, Castaneda TR, Muzzin P, Schürmann A, Szanto I, Tschöp MH, Rohner-Jeanrenaud F, 2006. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *J Clin Invest*, 116, 1983-1993.
- Tomasetto C, Karam SM, Ribieras S, Masson R, Lefebvre O, Staub A, Alexander G, Chenard MP, Rio MC, 2000. Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: the motilin-related peptide. *Gastroenterology*, 119, 395—405.
- Tomasetto C, Wendling C, Rio MC, Poitras P, 2001. Identification of cDNA encoding motilin related peptide/ghrelin precursor from dog fundus. *Peptides*, 22, 2055—9.
- Tong J, Prigeon RL, Davis HW, Bidlingmaier M, Kahn SE, Cummings DE, Tschöp MH, D'Alessio D, 2010. Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes*, 59, 2145-2151.
- Tschoop M, Smiley DL, Heiman ML, 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407, 908—13.
- Tschoop M, Smiley DL, Heiman ML, 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407, 908-913.
- Uysal N, Ozdemir D, Dayi A, Yalaz G, Baltaci AK, Bediz CS, 2005. Effects of maternal deprivation on melatonin production and cognition in adolescent male and female rats. *Neuro Endocrinol Lett*, 26, 555-60.
- Vaněčkova I, Maletinska L, Behuliak M, Nagelova V, Zicha J, Kuneš J, 2014. Obesity-related hypertension: possible pathophysiological mechanisms. *J Endocrinol*, 223, R63-R78.
- Venkataraman P, Selvakumar K, Krishnamoorthy G, Muthusami S, Rameshkumar R, Prakash S, Arunakaran J, 2010. Effect of melatonin on PCB (Aroclor 1254) induced neuronal damage and

- changes in Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione peroxidase-4 mRNA expression in cerebral cortex, cerebellum and hippocampus of adult rats. *Neurosci. Res.*, 66, 189–197.
- Vinogradova I, Anisimov V, 2013. Melatonin prevents the development of the metabolic syndrome in male rats exposed to different light/dark regimens. *Biogerontology*, 14, 401–409.
- Wang Q, Guo F, Sun X, Gao S, Li Z, Gong Y, Xu L, 2014. Effects of exogenous nesfatin-1 on gastric distention-sensitive neurons in the central nucleus of the amygdala and gastric motility in rats. *Neurosci Lett*, 582, 65–70.
- Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM, 2003. Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology*, 144, 5184–7.
- Williams P, Tulke S, Illegems E, Berggren PO, Broberger C, 2014. Expression of nucleobindin 1 (NUCB1) in pancreatic islets and other endocrine tissues. *Cell Tissue Res*, 358, 331–342.
- Wolden-Hanson T, Mitton DR, McCants LR, Yellow SM, Wilkinson CW, Matsumoto AM, Rasmussen DD, 2000. Daily Melatonin Administration to Middle-Aged Male Rats Suppresses Body Weight, Intraabdominal Adiposity, and Plasma Leptin and Insulin Independent of Food Intake and Total Body Fat1. *Endocrinology*, 141, 487–497.
- Wynne K, Giannitsopoulou K, Small CJ, Patterson M, Frost G, Ghatei MA, Brown EA, Bloom SR, Choi P, 2005. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: A randomized, placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol*, 16, 2111–2118.
- Xu J, Ma Q, Duan HF, Qian LJ, 2003. Effects of stress on L type calcium channels of rat ventricular myocytes. *Chin J Applied Physiol*, 19, 216–219.
- Yamada M, Horiguchi K, Umezawa R, Hashimoto K, Satoh T, Ozawa A, Shibusawa N, Monden T, Okada S, Shimizu H, Mori M, 2010. Troglitazone, a Ligand of Peroxisome Proliferator- Activated Receptor, Stabilizes NUCB2 (Nesfatin) mRNA by Activating the ERK1/2 Pathway: Isolation and Characterization of the Human NUCB2 Gene. *Endocrinology*, 151, 2494–2503.
- Yamamoto D, Ikeshita N, Daito R, Herningtyas EH, Toda K, Takahashi K, Lida K, Takahashi Y, Kaji H, Chiura K, Okimura Y, 2007. Neither intravenous nor intracerebroven- tricular administration of obestatin affects the secretion of GH, PRL, TSH and ACTH in rats. *Regul Pept*, 138, 141–4.
- Yamawaki H, Takahashi M, Mukohda M, Morita T, Okada M, Hara Y, 2012. A novel adipocytokine, nesfatin-1 modulates peripheral arterial contractility and blood pressure in rats. *BiochemBiophys Res Commun*, 418, 676–681.
- Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL, 2008. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell*, 132, 387–96.
- Yaswen I, Diehi N, Brennan MB, Hochgeschwender U, 1999. Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nat. Med*, 5, 1066–1070.
- Yoshida N, Maejima Y, 2010. Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Aging (Albany NY)*, 2, 775–784.
- Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Mori M, Ueta Y, 2014. A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydrationinduced anorexia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 307, R225-R236.
- Yosten GL, Samson WK, 2009. Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297, 330–336.
- Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ, 2005. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 310, 996–9.
- Zohar R, Izhaki I, Koplovich A, Ben-Shlomo R, 2011. Phytomelatonin in the leaves and fruits of wild perennial plants. *Phytochem Lett*, 4, 222–226.

7. EKLER



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ MÜDÜRÜLÜĞÜ

Sayı : 41475755-2015/87
Konu : Etik Kurulu Onayı

29.09.2015

Sayın Prof.Dr. Abdülkerim Kasım BALTAÇI

"Sığanlarda Pinealektomi ve Melatonin Uygulamasının Serum Melatonin, Nesfatin-1 ve Ghrelin Düzeylerine Etkisi" isimli ve 2015/87 sayılı projeniz 29.09.2015 tarihinde yapılan Etik Kurul Toplantısında kabul edilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Nihal OKUDAN

ETİK KURUL BAŞKANI

8. ÖZGEÇMİŞ

27.06.1990 yılında Konya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Konya'da tamamladı. 2008 yılında kazandığı Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi bölümune başlayarak, 2013 yılında Necmettin Erbakan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi bölümünden mezun oldu. 2014 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim dalında yüksek lisans eğitimiine başladı. 2015 yılında Milli Eğitim Bakanlığı bünyesinde Hadim Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesine Biyoloji Öğretmeni olarak atandı ve halen aynı kurumda görevine devam etmektedir.