

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

DENEYSEL FONKSİYONEL DİSPEPSİYE BAĞLI
AFFERENT VAGAL DİSFONKSİYONDA APELİNİN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Osman SİNEN

DOKTORA TEZİ

2021-ANTALYA

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

DENEYSEL FONKSİYONEL DİSPEPSİYE BAĞLI
AFFERENT VAGAL DİSFONKSİYONDA APELİNİN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Osman SİNEN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet BÜLBÜL

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-5338 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2021-ANTALYA

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca benden desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Bũlbũl'e;

Enstitũmũzũn değerli yũnetici ve personeline;

Laboratuvar çalıőmalarımın önemli bir blũmũnde yardımlarıyla bana katkı sağlayan çalışma arkadaőım Ayőegũl Gemici'ye;

Maddi ve manevi hiçbir destekten kaçınmayarak bu gũnlere gelmemde bũyũk pay sahibi olan aileme ve tũm dostlarıma teőekkũrlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı deneysel fonksiyonel dispepsi (FD) modeline bağlı afferent vagal disfonksiyonda endojen periferel apelinin rolünü araştırmaktır.

Yöntem: Deneysel FD modeli oluşturmak amacıyla yeni doğan Sprague Dawley sıçan yavrularına postnatal 1. ve 21. günler arasında 3 saat/gün maternal separasyon uygulanmıştır. Sıçanlar, yetişkin yaşa ulaştıklarında 7 gün boyunca (90 dakika/gün) hareket kısıtlama stresine maruz bırakılmıştır. Hayvanların vücut ağırlık ve besin alım takipleri yapıldıktan sonra, FD aracılı gelişen anksiyete benzeri davranışlar, yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testleri ile değerlendirilmiştir. Katı mide boşalımı, özofago-gastrik gevşeme (ÖGG) ve gastrik akomodasyon refleksi (GAR), bir gece önce aç bırakılan hayvanlarda ölçülmüştür. ÖGG ve GAR'ı değerlendirmek amacıyla, balon kateter ile özofagiyal ve gastrik distansiyon oluşturulmuştur. Gastrik tonustaki distansiyona bağlı değişiklikler, fundus ve korpusta serozal olarak implante edilen bir çift gerim ölçer transdüser aracılığıyla kaydedilmiştir. Apelin reseptörü (APJ), geçici reseptör potansiyeli vanilloid-1 (TRPV1) ve geçici reseptör potansiyeli ankyrin-1 (TRPA1) ekspresyonundaki değişiklikler immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: FD grubu hayvanlar kontrol grubu sıçanlara göre anksiyete benzeri davranışlar gösterirken, vücut ağırlığı ve gıda alımı ise önemli ölçüde azalmıştır. FD grubu hayvanlarda hem fundus hem de korpusta GAR ve ÖGG yanıtı önemli ölçüde azalırken, mide boşalımı da yavaşlamıştır. GAR ve ÖGG'deki FD'ye bağlı bozulan refleks yanıtları, apelin reseptör antagonisti F13A ($70 \text{ nmol-ml-kg}^{-1}$, i.v) ön uygulamasıyla düzelme göstermiştir. Çift immünofloresan etiketleme çalışmalarımız, APJ'nin TRPV1 ve TRPA1 eksprese eden afferent nöronal perikaryada üretildiğini göstermektedir. Özofagus ve mideyi innerve eden vagal afferent nöronlarda FD'ye bağlı APJ ve TRPV1 ekspresyonu artarken, TRPA1 üretiminde değişim saptanamamıştır. Ayrıca FD sıçanların gastrik vagal afferent sinir sonlanmalarında APJ ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Elde ettiğimiz bulgular, apelin reseptör antagonistlerinin FD tedavisinde terapötik potansiyelini işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: apelin, fonksiyonel dispepsi, vagal afferent fonksiyonlar, nodoz gangliyon

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the role of the endogenous peripheral apelin in experimental functional dyspepsia (FD) model-induced afferent vagal dysfunction.

Method: For the experimental FD model, newborn Sprague Dawley pups underwent maternal separation (3 h/day) from postnatal day-1 to day-21. In adulthood, rats were loaded with restraint stress for 7 consecutive days (90 min/day). Body weight and food intake were monitored before the behavioral tests. Elevated plus maze and open field tests were used to assess the FD-induced anxiety-like behaviors. Solid gastric emptying (GE), esophago-gastric relaxation (EGR) and gastric accommodation reflex (GAR) were measured following overnight fasting. To evaluate EGR and GAR, esophageal and gastric distention were performed through a balloon catheter, respectively. The distention-induced changes in gastric tone were monitored through a pair of strain gauge transducers serosally implanted in the fundus and corpus. The alterations in expression of the apelin receptor (APJ), transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1), and TRP ankyrin-1 (TRPA1) were evaluated by immunohistochemistry.

Results: Compared with the control rats, FD significantly decreased body weight and food intake, while produced anxiety-like behaviors. FD significantly also decreased GE, while remarkably diminishing the GAR and EGR response both in fundus and corpus. The FD-induced changes in GAR and EGR were significantly attenuated by preadministration of apelin receptor antagonist F13A (70 nmol·ml·kg⁻¹, i.v). Our double immunofluorescence labeling studies demonstrated that APJ is present in afferent neuronal pericaria expressing TRPV1 and TRPA1. In esophageal- and gastric-projecting vagal afferent neurons, expressions of APJ and TRPV1 were upregulated in FD, whereas no change was detected in TRPA1. Moreover, expression of APJ was increased in gastric vagal afferent nerve endings in the myenteric neurons of the FD rats.

Conclusion: Our findings demonstrate the therapeutic potential of apelin receptor antagonists in clinical treatment of FD.

Keywords: apelin, functional dyspepsia, vagal afferent functions, nodose ganglion

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Fonksiyonel Gastrointestinal Bozukluklar	2
2.1.1. İrritabl Bağırsak Sendromu	6
2.1.2. Fonksiyonel Dispepsi	6
2.2. Stres Yanıtı	10
2.3. Santral Stres Devresi	11
2.4. Gastrointestinal Sistemin Afferent İnnervasyonu	12
2.5. Beslenmede Rol Alan Vagal Afferent Mekanizmalar	14
2.5.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG)	14
2.5.2. Gastrik akomodasyon Refleksi (GAR)	16
2.6. Geçici Reseptör Potansiyel (TRP) Kanalları	18
2.6.1. Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid 1	18
2.6.2. Geçici Reseptör Potansiyeli Ankyrin 1	20
2.7. Apelinergic Sistem	22
2.7.1. Apelinergic Sistemin Hücre İçi Sinyal Yolakları	22
2.7.2. Apelinergic Sistemin Bulunduğu Yerler	24
2.7.3. Stres ve Apelinergic Sistem İlişkisi	25
2.7.4. Apelinergic Sistemin Vagal Afferent Fonksiyonlara Etkileri	26
2.8. Amaç	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1. Deney Grupları	29
3.1.1. Deneysel Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Doğrulanması	29

3.1.2. Vagovagal Reflekslerin Değerlendirilmesi	29
3.1.3. İmmünohistokimyasal Yöntemler	30
3.2. Deneysel Sıçan Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Oluşturulması	30
3.2.1. Neonatal Maternal Separasyon (MS)	31
3.2.2. Kronik Homotipik Stres (KHS) Protokolü	31
3.3. Deneysel Sıçan Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Doğrulanması	32
3.3.1. Yükseltiilmiş Artı Labirent Testi (EPM)	32
3.3.2. Açık Alan Testi	33
3.3.3. Mide Boşalımı Ölçümü	33
3.4. Vagovagal Reflekslerin Değerlendirilmesi	34
3.4.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG) Refleksinin Değerlendirilmesi	35
3.4.2. Gastrik Akomodasyon Refleksinin (GAR) Değerlendirilmesi	35
3.5. İmmünohistokimyasal Yöntemler	37
3.5.1. Anterograd Nöronal Tracer Uygulaması	38
3.5.2. Retrograd Nöronal Tracer Uygulaması	39
3.5.3. İmmünofloresan Yöntem	39
3.6. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	41
4.1. Deneysel Sıçan Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Doğrulanması	41
4.1.1. Vücut Ağırlığı ve Yem Tüketim Takibi	41
4.1.2. Yükseltiilmiş Artı Labirent Testi Ölçümleri	42
4.1.3. Açık Alan Testi Ölçümleri	43
4.1.4. Mide Boşalımı Ölçümleri	43
4.2. Vagovagal Refleks Ölçümleri	44
4.2.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG) Refleksi Ölçümleri	44
4.2.2. Gastrik Akomodasyon Refleks (GAR) Ölçümleri	46
4.3. İmmünohistokimyasal Analizler	47
4.3.1. Nodoz Gangliyon Histolojisi	47
4.3.2. Enterik Doku Histolojisi	52
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	87

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Fonksiyonel Gastrointestinal Bozukluklar: Beyin-bağırsak Etkileşim Bozuklukları	3
Tablo 4.1. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların nodoz gangliyon hücrelerinde gerçekleştirilen immünohistokimyasal analizlerin sonuçları.	52
Tablo 4.2. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların gastrik ve özofagiyal LMMP whole mount preparatlarında bulunan APJ pozitif hücre sayısı.	53



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fonksiyonel gastrointestinal bozuklukların biyopsikososyal modeli.	5
Şekil 2.2. Gastrointestinal sistemin afferent innervasyonunu sağlayan yollar.	13
Şekil 2.3. Dorsal vagal kompleks aracılı düzenlenen gastrik vagovagal refleks mekanizması.	14
Şekil 2.4. Özofago-gastrik gevşeme (ÖGG)'de rol alan nöronal mekanizmalar.	15
Şekil 2.5. Gastrik adaptif gevşeme (GAR) refleksinde rol alan nöronal mekanizmalar.	17
Şekil 2.6. Apelin/APJ sistemi aracılı gelişen hücre içi sinyal yolları.	24
Şekil 3.1. Neonatal maternal separasyon (MS) uygulaması.	31
Şekil 3.2. Sıçanların 90 dakika boyunca düz bir platforma sabitlenmesi ile oluşturulan hareket kısıtlama stresi (HKS).	32
Şekil 3.3. Anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılan yükseltilmiş artı labirent ve açık alan test düzenekleri.	33
Şekil 3.4. Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesinde gerçekleştirilen deneysel işlemlere ait akış diyagramı.	35
Şekil 3.5. Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesi için gerçekleştirilen transdüser cerrahisi ve distansiyon için kullanılan balon sistemleri.	36
Şekil 3.6. Midenin fundus bölgesinden elde edilen ham ve 0,5 Hz alçak-geçiren filtrelenmiş mide motilite kaydı.	37
Şekil 3.7. Deney gruplarında immünohistokimyasal analizler için uygulanan işlemlerin şematik gösterimi.	38
Şekil 4.1. Sıçanlarda neonatal maternal separasyonun adolesan, juvenil ve erişkin dönemlerde canlı ağırlık ve yem tüketimine etkileri.	41
Şekil 4.2. 12 haftalık kontrol ve FD modeli sıçanların vücut ağırlığı ve yem tüketim verileri.	42
Şekil 4.3. Yükseltilmiş artı labirent testi (EPM)'de; açık kola giriş sayısı, kapalı kola giriş sayısı, açık kolda geçirilen süre ve kapalı kolda geçirilen süre verileri.	42
Şekil 4.4. Açık alan testinde iç kadranda geçirilen süre, dış kadranda geçirilen süre ve test süresince hayvanların fekal çıkış verileri.	43
Şekil 4.5. Kontrol ve FD grubu sıçanlara ait mide boşalımı sonuçları.	43

Şekil 4.6. Kontrol ve FD grubu sıçanların fundus ve korpus bölgelerinden kaydedilen ÖGG yanıtlarına intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulamasının (70 nmol-ml-kg-1, i.v) etkisi.	45
Şekil 4.7. Kontrol ve FD grubu sıçanlara ait intragastrik basınç değişimleri ve bu değişimlere intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulamasının (70 nmol-ml-kg-1, i.v) etkisi.	47
Şekil 4.8. Noduz gangliyon kesitlerinde APJ/TRPV1 ve APJ/TRPA1 immünoreaktif hücrelerin floresan yöntemle gösterimi.	48
Şekil 4.9. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların noduz gangliyonlarında mide ve özofagusu innerve eden afferent vagal nöronlar ve APJ immünoreaktif hücrelerin immünofloresan yöntemle gösterimi.	49
Şekil 4.10. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların noduz gangliyonlarında mide ve özofagusu innerve eden afferent vagal nöronlar ve TRPV1 immünoreaktif hücrelerin immünofloresan yöntemle gösterimi.	50
Şekil 4.11. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların noduz gangliyonlarında mide ve özofagusu innerve eden afferent vagal nöronlar ve TRPA1 immünoreaktif hücrelerin immünofloresan yöntemle gösterimi.	51
Şekil 4.12. Noduz gangliyona anterograd nöronal tracer BDA (fluorocein ile konjuge yüksek molekül ağırlıklı dekstran; 10.000MW) uygulamasından 7 gün sonra elde edilen özofagiyal ve gastrik LMMP whole mount preparatlarında BDA ve APJ immünoreaktivitesinin immünofloresan yöntemle gösterimi.	52
Şekil 4.13. Çalışma kapsamında elde edilen bulguların şematik gösterimi.	53
Şekil 5.1. Fonksiyonel dispepsi patogenezinde apelin/APJ sisteminin rolü.	62

SİMGELER ve KISALTMALAR

- AC** : Adenilil siklaz
- AITC** : Alil izotiyosiyanat
- APJ** : Apelin reseptörü
- BDA** : Biotinlenmiş dextran amin
- CCK** : Kolesistokinin
- CGRP** : Kalsitonin geni ile ilişkili peptit
- CRF** : Kortikotropin salgılatıcı faktör
- CTB** : Kolera toksin B
- DAG** : Diaçilgliserol
- DMV** : N. vagus'un dorsal motor çekirdeği
- DRG** : Dorsal kök gangliyonu
- DVC** : Dorsal vagal kompleks
- EPM** : Yükseltilmiş artı labirent testi
- EPS** : Epigastrik ağrı sendromu
- ESS** : Enterik sinir sistemi
- FB** : Fast Blue
- FD** : Fonksiyonel dispepsi
- FGID** : Fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar
- GABA** : Gama aminobütirik asit
- GAR** : Gastrik akomodasyon refleksi
- GİS** : Gastrointestinal sistem
- GLP1** : Glukagon benzeri peptit 1
- HDAC** : Giston deasetilaz

HKS : Hareket kısıtlama stresi
HPA : Hipotalamik-hipofiz-adrenal
IBS : İrritabl bağırsak sendromu
IP3 : İnositol 1,4,5-trifosfat
KHS : Kronik homotipik stress
KLF2 : Kruppel-benzeri faktör 2
LC : Lokus seruleus
LMMP: Whole-mount düz kas-myenterik pleksus
MEF2 : Miyosit artırıcı faktör-2
MS : Maternal separasyon
MSS : Merkezi sinir sistemi
NANC: Non-adrenerjik non-kolinerjik
NOS : Nitrik oksit sentaz
NTS : Soliter traktus çekirdeği
ÖGG : Özofago-gastrik gevşeme
PBS : Fosfat tamponlu tuz
PDS : Postprandial distres sendromu
PI3K : Fosfatidilinositol 3-kinaz
PKA : Protein kinaz A
PKC : Protein kinaz C
PLC β : Fosfolipaz C beta
PVN : Paraventriküler nükleus
TRPA1: Geçici reseptör potansiyeli ankyrin 1
TRPV1: Geçici reseptör potansiyeli vanilloid 1
VIP : Vazoaktif intestinal peptit

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar (FGID) endoskopi, röntgen veya kan testleri ile tespit edilebilecek klinik ve/veya yapısal anormalliklerin olmadığı ve patofizyolojisinin altında yatan mekanizmaların iyi bilinmediği, gastrointestinal sistem (GİS)'e ilişkin beyin-bağırsak etkileşim bozuklukları için kullanılan bir terimdir. Stresin, FGID'nin klinik belirtilerinin ortaya çıkmasında ve mevcut belirtilerin alevlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Tüm FGID'ler arasında, fonksiyonel dispepsi (FD) ve irritabl bağırsak sendromu (IBS) en yaygın olanlarıdır (Drossman, 2016; Drossman ve Hasler, 2016). Özellikle modern batı toplumlarında strese bağlı olarak FD insidansında artış gözlenmektedir. Postprandial erken tokluk, şişkinlik, epigastrik ağrı ve yanma gibi üst abdominal semptomlarla karakterize olan FD'nin tedavisinde stres ve beyin-bağırsak eksenini ile ilgili patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması büyük önem taşımaktadır.

APJ'nin (apelin reseptörü) endojen ligantı olan apelinin gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine inhibitör etkisi bilinmektedir (Bulbul ve ark., 2017). APJ mRNA'sı vagal afferent hücre gövdelerinin bulunduğu nodoz gangliyonda tespit edilmiş ve apelinin farelerde gerime bağlı vagal afferent duyarlılığı inhibe ettiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2018). Bu bulgular, apelinin FD'ye bağlı gelişen afferent vagal disfonksiyonda rolü olabileceğini akla getirmektedir. Bunun yanı sıra, stres ile üretiminin arttığı bilinen apelinin, periferal etkilerinin bloklanması sonucunda stresin gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine inhibitör etkisi kısmi olarak ortadan kalkmaktadır (Izgut-Uysal ve ark., 2014; Bulbul ve ark., 2019). Literatürde apelinin visseral fonksiyonlarla ilgili etkilerini farklı düzeylerde ortaya koyan bulgular mevcut olmasına karşın, günümüzde apelinin vagal afferent sinyalleri nasıl ve hangi yolu kullanarak düzenlediği bilinmemektedir. Çalışmamızda apelinin vagal afferent sinyalizasyondaki rolünün enterik ve nodoz gangliyon seviyesinde aydınlatılması hedeflenmiştir. Apelinin beyin-bağırsak ekseninde rol aldığı patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması, bundan sonraki dönemde bu konuda yapılacak çalışmalara önemli bir bilimsel altyapı oluşturacak ve stres-ilişkili gastrointestinal motor bozuklukların klinik tedavisinde yeni yaklaşımların oluşmasına katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fonksiyonel Gastrointestinal Bozukluklar

GİS'te en yaygın olarak görülen semptomların başında karın ağrısı, ishal, kabızlık, şişkinlik, dolgunluk, mide bulantısı ve kusma gelmektedir. Bu semptomlar, gastroparezi gibi motilite bozuklukları, gastrointestinal kanser, enflamatuvar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı ve peptik ülser dahil olmak üzere geniş bir organik patoloji yelpazesinde ortakdır (Black ve ark., 2020). Bununla birlikte, bahsi geçen bu ve benzeri belirtileri açıklamak için altta yatan yapısal bir anormallik çoğunlukla ortaya koyulamadığından, bu semptomlar sıklıkla fonksiyonel semptomlar olarak adlandırılmaktadır (Black ve ark., 2020). FGID; yapısal ya da biyokimyasal anormalliklerin gözlenmediği ve patofizyolojisinin altında yatan mekanizmaların iyi bilinmediği, GİS ile ilişkili kronik yakınmalarla karakterize bir grup klinik tablo için kullanılan bir tanıdır. FGID'lerin tanı ve tedavisi ile ilgili olarak uluslararası bir uzman ekip tarafından hazırlanmış ve belirli aralıklarla güncellenmekte olan "Roma Kriterleri"ne göre hastalarda görülen bozukluklar semptomlarına göre sınıflandırılmıştır. Söz konusu belirtiler visseral hipersensitivite, motilite bozuklukları, mukozal ve immün fonksiyonlarda değişim, değişmiş bağırsak mikrobiyotası ve değişmiş merkezi sinir sistemi (MSS) algılaması gibi durumların herhangi biriyle veya birden fazlasının kombinasyonu ile ortaya çıkabilmektedir (Drossman, 2016; Drossman ve Hasler, 2016). FGID'leri uygun şekilde sınıflandırmak, sadece tanı ve tedaviyi kolaylaştırmak için değil, aynı zamanda bu bozuklukların etiyojilerini araştırmak için de oldukça önemlidir. Son 30 yıl içinde, gastroenteroloji ve gastrointestinal alanda uzman akademisyenlerden oluşan bir komite olan Roma Vakfı, FGID'leri teşhis etmek ve sınıflandırmak için uzmanların görüş birliğine dayanarak bir kılavuz geliştirmişlerdir. İlk olarak 1990'da önerilen Roma tanı kriterleri her durumu araştırmalara veya hasta tarafından bildirilen belirli bir semptom kümesine göre tanımlamaktadır. Şu ana kadar üç revizyona tabi tutulan bu kriterler son olarak 2016 yılında Roma IV kriterleri olarak güncellenmiştir (Tablo 2.1), (Drossman ve Hasler, 2016).

Gastroenteroloji kliniklerine sevklerin en az üçte birini oluşturması da bu bozuklukların önemli bir tıbbi yük olduğunun göstergesidir (Shivaji ve Ford, 2014). Mevcut tedavi

yaklaşımlarının, altta yatan spesifik patofizyolojik mekanizmaları tanımlamak ve ele almak yerine baskın gastrointestinal ve psikolojik semptomları hedef alması da dikkat edilmesi gereken bir husus olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tablo 2.1. Fonksiyonel Gastrointestinal Bozukluklar: Beyin-bağırsak Etkileşim Bozuklukları (Drossman ve Hasler, 2016)

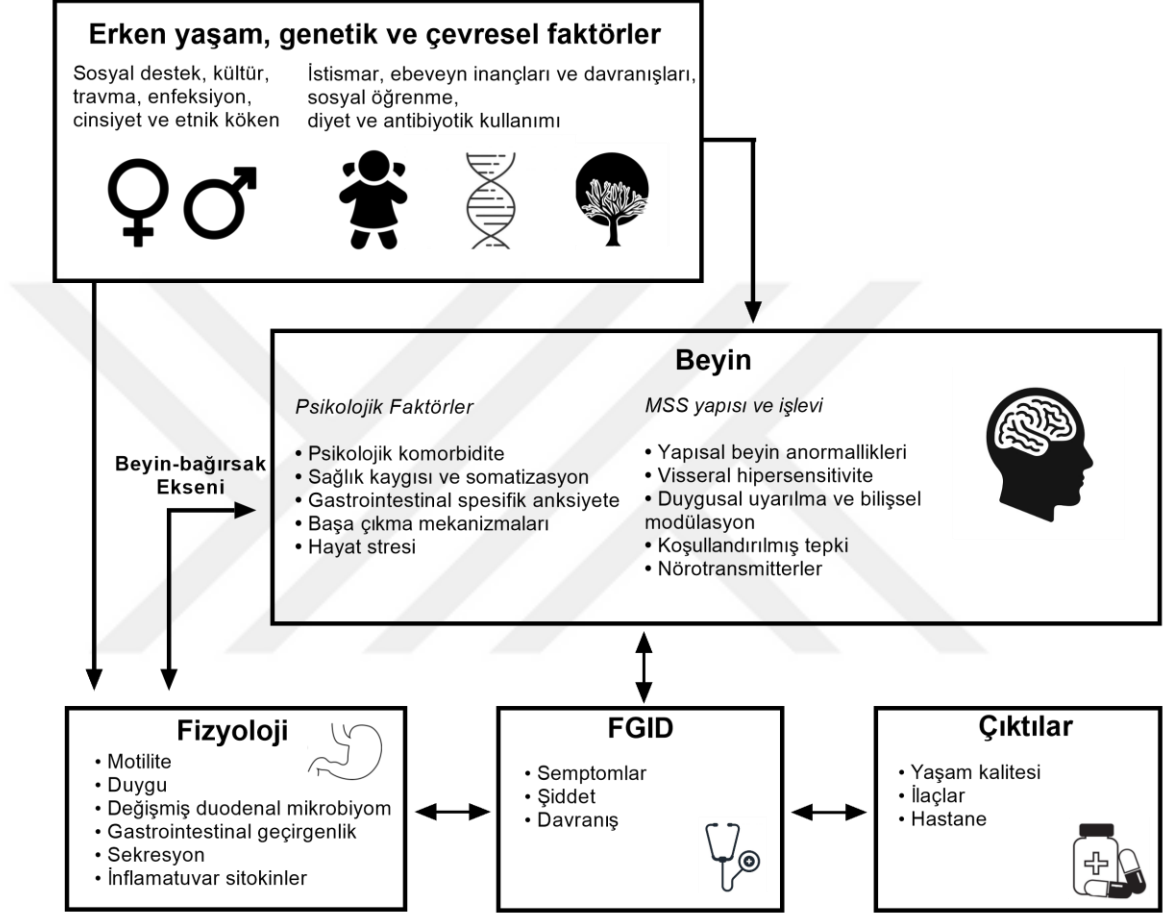
A. Özofagiyal Bozukluklar	
A1. Fonksiyonel göğüs ağrısı	A4. Globus
A2. Fonksiyonel gastrik ekşime/yanma	A5. Fonksiyonel disfaji
A3. Reflü hipersensitivitesi	
B. Gastroduodenal Bozukluklar	
B1. Fonksiyonel dispepsi	B3. Bulantı ve kusma bozuklukları
B1a. Postprandial distress sendromu	B3a. Kronik bulantı kusma sendromu
B1b. Epigastrik ağrı sendromu	B3b. Döngüsel kusma sendromu
B2. Geğirme bozuklukları	B3c. Kannabinoid hiperemezis sendromu
B2a. Aşırı supragastrik geğirme	B4. Ruminasyon sendromu
B2b. Aşırı gastrik geğirme	
C. Bağırsak Bozuklukları	
C1. İritabl bağırsak sendromu (IBS)	C2. Fonksiyonel konstipasyon
Konstipasyonun baskın olduğu IBS	C3. Fonksiyonel diyare
Diyarenin baskın olduğu IBS	C4. Fonksiyonel abdominal şişkinlik
Karışık bağırsak hareketlerine sahip IBS	C5. Tanımlanmamış fonksiyonel bağırsak bozukluğu
Sınıflandırılmamış IBS	C6. Opioid kaynaklı konstipasyon
D. Santral Aracılı Gelişen Gastrointestinal Ağrı Bozuklukları	
D1. Santral aracılı gelişen abdominal ağrı sendromu	
D2. Narkotik bağırsak sendromu / Opioid kaynaklı gastrointestinal hiperaljezi	
E. Safra Kesesi ve Oddi Sfinkter (OS) Bozuklukları	
E1. Safra ağrısı	
E1a. Fonksiyonel safra kesesi bozukluğu	
E1b. Fonksiyonel biliyer OS bozukluğu	
E2. Fonksiyonel pankreas OS bozukluğu	
F. Anorektal Bozukluklar	
F1. Fekal inkontinans	F2c. Proktalgia fugaks
F2. Fonksiyonel anorektal ağrı	F3. Fonksiyonel defekasyon bozuklukları
F2a. Levator ani sendromu	F3a. Yetersiz defekasyon propulsiyonu
F2b. Tanımlanmamış fonksiyonel anorektal ağrı	F3b. Dissinerjik defekasyon

G. Çocukluk Dönemi Fonksiyonel Gastrointestinal Bozuklukları: Yenidoğan / Yürümeye başlayan çocuk	
G1. Bebek regürjasyonu	G5. Fonksiyonel diyare
G2. Ruminasyon sendromu	G6. Diskezi (bebek)
G3. Döngüsel kusma sendromu	G7. Fonksiyonel konstipasyon
G4. Kolik (bebek)	
H. Çocukluk Dönemi Fonksiyonel Gastrointestinal Bozuklukları: Çocuk / Adolesan	
H1. Fonksiyonel bulantı ve kusma bozuklukları	H2a1. Postprandial distress sendromu
H1a. Döngüsel kusma sendromu	H2a2. Epigastrik ağrı sendromu
H1b. Fonksiyonel bulantı ve fonksiyonel kusma	H2b. İrritabl bağırsak sendromu
H1b1. Fonksiyonel mide bulantısı	H2c. Abdominal migren
H1b2. Fonksiyonel kusma	H2d. Fonksiyonel abdominal ağrı
H1c. Ruminasyon sendromu	H3. Fonksiyonel defekasyon bozuklukları
H1d. Aerofaji	H3a. Fonksiyonel konstipasyon
H2. Fonksiyonel abdominal ağrı bozuklukları	H3b. Retentif olmayan fekal inkontinans
H2a. Fonksiyonel dispepsi	

Yakın zamanda, Roma Vakfı tarafından yapılan, 26 ülkeden 54127 yetişkinin katıldığı küresel bir araştırmada, 23112 (%43) kişinin en az bir FGID için kriter karşıladığı bildirilmiştir. Bu bireyler, kriterleri karşılamayanlara göre daha fazla sağlık harcaması ve daha düşük yaşam kalitesi göstermiştir. Dikkat çeken başka bir bulgu ise, kadınların (%49) erkeklerden (%37) daha fazla FGID rapor etmiş olmasıdır (Sperber ve ark., 2021). Bunun yanı sıra, strese maruz kalınmasının bu hastalıklarda gözlenen GİS bulgularının oluşumunu hızlandırdığı ve mevcut bulguların alevlenmesine neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, erken dönem maruz kalınan kronik postnatal stresin erişkin dönemde FGID gelişimi için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (Abdel-Aziz ve ark., 2015; Jing ve ark., 2017).

Tanım olarak, hiçbir yapısal anormallik FGID'leri açıklamamaktadır. Engel tarafından (Engel, 2012) geliştirilen ve Drossman tarafından (Drossman, 1998) uyarlanan biyopsikososyal model dahilinde, FGID'ler hastalıklardan ziyade beyin-bağırsak etkileşiminin çift yönlü bozuklukları olarak karakterize edilir (Şekil 2.1). Yapılan bağımsız epidemiyolojik çalışmalarda, vakaların %50'sinde FGID'lerin psikolojik rahatsızlık ile başladığı ve bunu gastrointestinal semptomların izlediği, diğer %50'sinde

ise bağırsak disfonksiyonunun ilk olarak ortaya çıktığı ve daha sonra psikolojik rahatsızlığın geliştiği görülmüştür (Koloski ve ark., 2012; Koloski ve ark., 2016; Jones ve ark., 2017).



Şekil 2.1. Fonksiyonel gastrointestinal bozuklukların biyopsikososyal modeli. Bireyin psikososyal ortamını, fizyolojik işleyişini ve karşılıklı etkileşimini (beyin-bağırsak eksenini) etkileyebilecek erken yaşam faktörleri arasında bir ilişki vardır. Bu faktörler, bozukluğun klinik görünüm ve sonucunu etkilemektedir. FGID: fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar, MSS: merkezi sinir sistemi. Black ve arkadaşlarının çalışmasından alınarak uyarlanmıştır (Black ve ark., 2020).

Roma IV kriterlerine göre popülasyonun %16–26'sını etkileyen FD ve IBS en sık görülen iki klinik tablo olup, bu bozuklukların etiolojisinde çeşitli faktörlerin rol aldığı öne sürülmektedir. Bu nedenle bahsi geçen bu iki klinik durumun patofizyolojisi ve tedavi yöntemleri hakkında bilgiler oldukça kısıtlıdır (Drossman, 2016).

2.1.1. İrritabl Bağırsak Sendromu

İBS, dünya nüfusunun %9-23'ünü etkileyen; kramp, karın ağrısı, defekasyon düzensizlikleri ve şişkinlik ile karakterize ve klinik rutin tanı yöntemleriyle saptanamayan gastrointestinal bir bozukluktur (Enck ve ark., 2016). Bu fonksiyonel teşhisler ile ortaya çıkan kanıtlar, İBS'nin belirgin patofizyolojik semptomlardan kaynaklanabileceğini ve tek bir hastalık olma ihtimalinin düşük olduğunu veya sadece somatosensoriyel bozukluk olduğunu ortaya koymaktadır (Ford ve ark., 2017). Ek olarak İBS, somatik komorbiditeler (örneğin ağrı sendromları, aşırı aktif mesane ve migren), psikiyatrik durumlar (depresyon ve anksiyete) ve visseral hassasiyet ile ilişkilidir (Enck ve ark., 2016). İBS'nin Roma IV kriterleri ile teşhisi için son 3 ayda haftada en az 1 gün tekrarlayan karın ağrısı, dışkıının sıklığında ve biçiminde bir değişiklik ve tanıdan en az 6 ay önce semptom başlangıcı görülmelidir (Defrees ve Bailey, 2017; Ford ve ark., 2020). İBS, konstipasyon baskın (İBS-C), diyare baskın (İBS-D), karışık (İBS-M) veya sınıflandırılmamış (İBS-U) şeklinde alt tiplere ayrılmaktadır (Defrees ve Bailey, 2017).

İBS tedavisi, bozukluğun ciddiyetini ve baskın semptomlarını tanımlamakla başlamaktadır. Semptomlar yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemiyorsa, yaşam tarzı değişikliği ve eğitim ile yönetmek makul bir seçimdir. Sınırlı sayıda çalışmalar, egzersizin ve diyet değişikliklerinin semptomları iyileştirmede faydalı olabileceğini düşündürmektedir (Grundmann ve Yoon, 2014; Cozma-Petrut ve ark., 2017). Şişkinlik ve rahatsızlığın tedavisi, bozulmuş bağırsak florasının değiştirilmesiyle başarılabilir. Bu amaçla, probiyotiklerin semptomları azaltmada faydalı olabileceği düşünülmektedir, ancak hangi ürünlerin veya bakteri türlerinin önerilebileceği belirsizdir (Odunsi-Shiyanbade ve ark., 2010; Defrees ve Bailey, 2017).

2.1.2. Fonksiyonel Dispepsi

Dispepsi, gastrointestinal sistemin gastroduodenal bölgesinde epigastrik ağrı veya yanma, postprandial şişkinlik veya erken tokluğu içeren semptomlar kompleksidir (Ford ve ark., 2020). Genellikle besin alımıyla ilişkili olan ancak belirgin bir organik neden olmaksızın ortaya çıkan FD'nin ilk tanımı, 1998'de Amerikan Gastroenteroloji Birliği (AGA) üyelerinden oluşan bir ekip ve Roma'daki Uluslararası Gastroenteroloji Kongresi'nin bir komitesi tarafından yapılmıştır (Miwa ve ark., 2011; Enck ve ark., 2017). Ardından bu

tanımlamayı 1999 yılında Roma II ve 2006'da Roma III sınıflandırma sistemleri takip etmiştir (Miwa ve ark., 2011). 2016 yılında, FD teşhisi için yeni Roma IV kriterleri, Sindirim Hastalıkları Haftası'nda sunulmuş ve Gastroenteroloji dergisinde yayınlanmıştır (Talley ve ark., 2016).

A) Fonksiyonel Dispepsi Tanı Kriterleri

1991 yılında yayınlanan Roma sınıflandırma sistemindeki gastroduodenal kriterlere göre ve bazı hastaların baskın yakınma olarak ağrıyı, diğerlerinin ise postprandial semptomları rapor etmesinden dolayı FD; ülser benzeri dispepsi, dismotilite benzeri dispepsi, reflü benzeri dispepsi veya tanımlanmamış FD olarak adlandırılmıştır. Bu semptomların yanı sıra şişkinlik, erken tokluk (normal büyüklükteki öğünleri bitirememe), mide bulantısı gibi semptomlar da FD alt tiplerinde yer almaktadır (Enck ve ark., 2017). Bu tanımlama, sonraki Roma I (1992) ve Roma II (1999) sınıflandırmalarında da geçerliliğini korumuştur. Roma III sınıflandırmasıyla (2006) FD tanımı daha sınırlı hale gelirken, alt tip etiketleri epigastrik ağrı sendromu (EPS) ve postprandial distres sendromu (PDS) olarak değiştirilmiştir (Enck ve ark., 2017).

2016 yılında tekrar düzenlenen Roma IV kriterlerinde, 2006 yılında Roma III'te tanımlanan PDS ve EPS'nin tanı kriterlerinde birtakım değişiklikler yapılmıştır. Buna göre, PDS tanısı için rahatsız edici erken tokluk ve postprandiyal dolgunluğun son 3 ayda haftada 3 ya da daha fazla sıklıkta görülmesi ve bahsi geçen belirtilerin tanı konulmadan 6 ay önce başlamış olması gerekmektedir. EPS için ise rahatsız edici epigastrik ağrı ve yanmanın son 3 ayda haftada 1 ya da daha fazla sıklıkta görülmesi ve semptomların tanı konulmadan 6 ay önce başlamış olması gerekmektedir (Stanghellini ve ark., 2016). Roma IV tanı kriterlerine göre FD; PDS ve EPS olmak üzere iki alt gruba ayrılır. PDS'de, tekrarlayan postprandiyal ve erken tokluk görülürken, EPS'de epigastrik ağrı ve yanma görülmektedir.

FD'nin, elemeler yapılarak ulaşılan bir tanı olması sebebiyle hekimler semptomları araştırmak için vakit kaybetmeden olası organik hastalıkları elemeye odaklanırlar. Dispepsi; FD, peptik ülser hastalığı, reflü özofajiti, mide veya özofagiya malignte gibi geniş ve farklı ayırıcı tanılara sahiptir. En yaygın tip olarak görülen FD, dispepsi vakalarının %70'ini oluşturur (Loyd ve McClellan, 2011).

B) Fonksiyonel Dispepsi Prevalansı

Yapılan büyük çaplı araştırmalar, dünya çapında FD prevalansının %10-30 arasında olduğunu göstermektedir (Mahadeva ve Goh, 2006; Enck ve ark., 2017). Semptomlarının farklı yorumlanması ve çevresel faktörler ile peptik ülser ve gastrik kanser gibi organik hastalıkların lokal prevalansı nedeniyle görülme sıklığı farklı popülasyonlarda belirgin olarak değişiklik gösterse de (Stanghellini ve ark., 2016) FD, %10-30 gibi bir değer ile batı ülkelerinde yüksek, %5-30 gibi bir değerle de Asya ülkelerinde daha düşük prevalansa sahiptir (Enck ve ark., 2017). 35000'den fazla katılımcıyla Fransa'da yapılan bir araştırmada katılımcıların %15'inde FD, %28'inde IBS ve %6'sında FD ve IBS'nin birlikte görüldüğü tespit edilmiştir (Le Pluart ve ark., 2015). Çalışmalar, IBS ve FD'nin birlikte görülme sıklığının %10 ile %27 arasında değiştiğini ve bu iki bozukluğun birlikteği için tanı kriterlerinin hassas ve spesifik olması gerektiğini göstermektedir. IBS'deki kadar dramatik bir fark söz konusu olmasa da FD'nin kadınlarda görülme sıklığının erkeklerden daha fazla olduğu bilgisine literatürde rastlanmaktadır (Suzuki ve Hibi, 2011).

C) Fonksiyonel Dispepsinin Patofizyolojik Özellikleri

FD, farklı patofizyolojik mekanizmaların rol oynadığı ve bu mekanizmaların her birinin tüm alt tiplere katkıda bulunabileceği multifaktöriyel bir bozukluk olarak kabul edilir (Tack ve Lee, 2005; Ford ve ark., 2020). Gecikmiş mide boşalımı, bozulmuş gastrik akomodasyon, gastrik distansiyona karşı visseral hipersensitivite, H.pylori enfeksiyonu, psikososyal faktörler, MSS disfonksiyonu, düşük düzey inflamasyon ve yaşam tarzı gibi çok sayıda patofizyolojik mekanizmanın FD patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (Vanheel ve Farre, 2013; Fang ve ark., 2015). Bunların dışında, son yıllarda giderek önem kazanan GİS mikrobiyotasının patofizyolojideki etkisi de araştırılmaktadır.

FD'de anormal motilite paternleri görülmekte olup, bunlar sindirim veya sindirim arası dönemlerde mide, pilor ve ince bağırsakta meydana gelebilmektedir (Testoni ve ark., 1992; Urbain ve ark., 1995). Motilite bozukluklarının patolojik sonuçları, mide boşalımının yavaşlaması ve artan kemosensitivite veya mekanosensitiviteye bağlı değişen bağırsak refleks aktivitesidir. Gecikmiş mide boşalımının, dispepsi semptomları ile yakından ilişkili olan FD'nin patofizyolojik bir özelliği olduğu düşünölmektedir (Ye ve

ark., 2018). FD'de gecikmiş mide boşalımından, proksimal midenin öğün sonrasında gevşeyememesi veya mide distansiyonu nedeniyle oluşan visseral hipersensitivite gibi fizyolojik faktörlerin bozulması sorumlu tutulmaktadır (Talley ve Ford, 2015). FD hastalarında yapılan bir araştırma, gecikmiş boşalma prevalansının %20 ile %35 arasında değiştiğini göstermiştir (Sarnelli ve ark., 2003).

Proksimal mideye besin girdikten sonra midenin rezervuar fonksiyonunu sağlayan akomodasyon refleksi oluşur. Sağlıklı kişilerde bu refleks sayesinde besinin belirli bir süre fundusta tutulması sağlanır. FD hastaları, açlık durumunda gastrik distansiyona yanıt olarak proksimal midede akomodasyon bozukluğu gösterir (Carbone ve Tack, 2014). Bu durum besinin kısa sürede midenin distal kısmına geçmesine neden olur ve böylelikle kişide erken tokluk hissi oluşur. Ayrıca, bozulmuş akomodasyon, normalden daha büyük antral hacim ancak daha küçük fundus hacmi ile orantısız hacim dağılımına neden olur (Kim ve ark., 2001). Bozulmuş akomodasyon, FD'de sık karşılaşılan bir patofizyolojik anormalliktir (Piessevaux ve ark., 2003). Araştırmalar, dispeptik hastaların %40'ında akomodasyon bozukluğu olduğunu ve bu bozulmanın erken tokluk ve kilo kaybı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Tack ve ark., 1998).

FD hastaları, açlık durumunda gastrik fundusun gerilmesiyle birlikte postprandiyal visseral hipersensitivite gösterir (Oustamanolakis ve Tack, 2012). Aşırı duyarlı hastaların oranı, tanı kriterlerine ve duyumun anormal, allodini (normalde ağrısız uyaranlara ağrı duyarlılığı) ve/veya hiperaljezi (ağrılı uyaranlara artan duyarlılık) olarak tanımlanıp tanımlanmadığına bağlıdır. Visseral hipersensitivite derecesi semptom şiddeti ile ilişkilidir (Simren ve ark., 2018). Çalışmalar, FD hastalarının %30'unun mide distansiyonuna aşırı duyarlılık gösterdiğini rapor etmektedir (Camilleri ve Stanghellini, 2013). Öte yandan, bazı hastalar duodenal (Holtmann ve ark., 1996), jejunal (Greydanus ve ark., 1991) veya rektal (Bouin ve ark., 2004) distansiyona aşırı duyarlıdır. FD'de gastrik distansiyona aşırı duyarlılık, kolinerjik tonus muskarinik reseptör blokajı ile azaltıldığında düzelme gösterirken, nitrik oksit donörü nitrogliserin ile kas gevşemesi indüklendiğinde düzelme göstermemiştir (Bouin ve ark., 2006). Bu bulgular, anormal duyularda artmış enterik kolinerjik tonusun önemli bir rol oynadığını göstermektedir. FD'de distansiyona karşı visseral hipersensitivite; erken tokluk, karın ağrısı, yemek

sonrası ağrı, aşırı geçirme, bulantı ve açıklanamayan kilo kaybı ile ilişkilidir (Tack ve ark., 2001).

Psikososyal faktörler, FD'nin biyopsikososyal modelinin ayrılmaz bileşenlerini oluşturur. Bu faktörler, hem psikiyatrik komorbidite veya kişilikteki değişikliklerden kaynaklanan oldukça uzun süreli bireysel psikososyal değişiklikleri hem de anlık duygular tarafından indüklenen kısa vadeli psikolojik süreçleri içerir (Van Oudenhove ve Aziz, 2013). FD'de en belirgin psikososyal özellik psikiyatrik komorbidite olup, artmış anksiyete, depresyon, somatizasyon ve yüksek nevrozite prevalansı oldukça fazladır (Van Oudenhove ve ark., 2016). FD hastalarında depresyon ve anksiyete belirtilerinin görülme oranları sırasıyla %34.36 ve %25.55'tir (Zhang ve ark., 2016).

2.2. Stres Yanıtı

Fiziksel ve/veya psikolojik uyarıların homeostazisi tehdit etmesiyle ortaya çıkan stres yanıtı, günümüzde “çevresel değişimlere karşı vücudun spesifik olmayan cevabı” olarak da tanımlanmaktadır (Aguilera ve ark., 2001; Charmandari ve ark., 2005; Chu ve ark., 2021). Memelilerde strese karşı gelişen yanıt, çeşitli fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri de beraberinde getirmektedir. Bu değişiklikler, biyolojik savunma sisteminin bir parçası olup, MSS, bağışıklık sistemi ve endokrin sistemin birbirleri ile olan kompleks etkileşimlerini içeren farklı mekanizmaları barındırmaktadır (Charmandari ve ark., 2005; Chu ve ark., 2021). Walter Cannon (1914) ve Hans Selye (1936) tarafından stresle ilgili ilk çalışmalar ve tanımlamalar yapılmıştır. Organizmanın akut bir tehdit altında oluşturduğu sempatik sinir sisteminin ani aktivasyonu sonucu ortaya çıkan “savaş ya da kaç” yanıtı 1915 yılında W.Cannon tarafından bilimsel literatüre kazandırılmıştır (Chu ve ark., 2021). Stres terimi ise ilk olarak yaklaşık 90 yıl önce Hans Selye (Selye, 1998) tarafından organizmanın emosyonel ve fiziksel tehditlere karşı geliştirdiği nonspesifik tepki olarak tanımlanmıştır. Stresin etkisinin her zaman olumsuz olmadığını söyleyen Selye, eğer stres organizmaya zarar veriyorsa distres, hafif şiddette strese maruz kalındığında pozitif etkiler görülüyorsa östres ya da öforik stres, negatif ya da pozitif etkiler görülüyorsa neustres ya da nötral stres olarak tanımlamıştır (Selye, 1998). Korku, travma, ağrı, ağır egzersiz, enfeksiyon, oksijen kaynağının azalması, yaralanma, yanıklar, açlık ve çevresel koşulların değişmesi gibi faktörlerin yanı sıra yeni ortam, ödülün gecikmesi, cezanın hissedilmesi

gibi psikolojik durumlar organizmada stres yanıtına neden olan temel stres faktörleri arasında yer almaktadır (O'Connor ve ark., 2000; Aguilera ve ark., 2001; Charmandari ve ark., 2005).

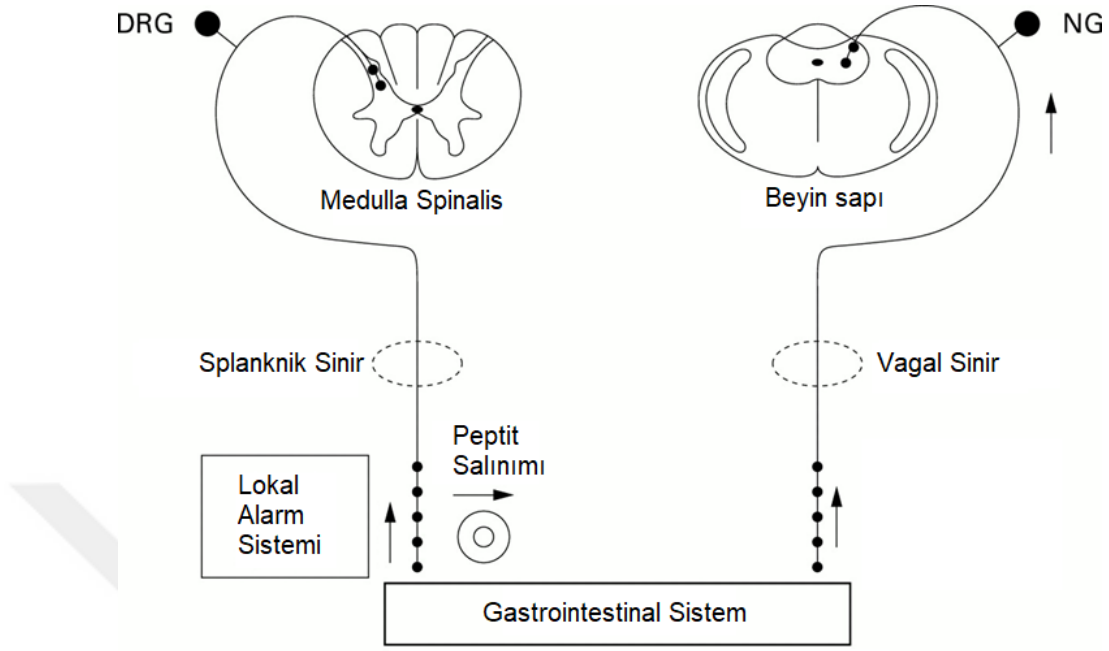
2.3. Santral Stres Devresi

Strese cevaben aktive olan santral stres devresi, nöral ağlarla birbirleriyle ilişki içerisinde olan beyin yapılarını ifade etmektedir. Bu beyin yapılarının hiyerarşik düzeninde en üstte lateral prefrontal korteks ve mediyal prefrontal korteks (ventromediyal korteks, perigenual ve infragenual korteks) bulunurken (Bhatia ve Tandon, 2005; Herman, 2012; Myers ve ark., 2014), preforantal korteksten köken alan sinir lifleri daha çok amigdala ve hipotalamusa projekte olmaktadır. Daha sonraki projeksiyonlar ise yoğun olarak ön beyinden paraventriküler nükleus (PVN); orta beyinden periaquaduktal gri cevher yapılarından köken alır ve sırasıyla hipofiz bezi ve pontomedüller kavşakta sonlanır. Santral stres devresinin en son çıktıları ise norepinefrin ve epinefrin gibi otonomik nörotransmitterleri, nöroendokrin ve ağrı modülatör sistemi içeren ve emosyonel motor sistem olarak adlandırılan nöral devre üzerinde sonlanmaktadır (Holstege ve ark., 1996; Holstege, 2010). Beyin sapındaki rafe nükleusundan yukarı çıkan serotonerjik projeksiyonlar, lokus seruleus (LC)'den köken alan noradrenerjik projeksiyonlar ve dolaşımdaki glukokortikoidler, bu devrenin negatif geri besleme ile düzenlenmesinde rol almaktadır (Herman ve ark., 2003; Bhatia ve Tandon, 2005).

Tehdit edici bir uyarının algılanması veya hayal edilmesiyle kortikal ve subkortikal yapılarda uyarılma ve prefrontal kortekste aktivasyon meydana gelmektedir. Bu kortikal alanlar limbik sistemin aktivasyonuna neden olmaktadır. Limbik sistemin bir parçası olan amigdala, emosyonel hafıza ve emosyonel tepkilerin oluşmasında rol oynamakta olup, ayrıca endokrin ve otonom sinir sisteminin kontrolünde de görev almaktadır. Kortikal ve limbik yapılardan inen projeksiyonlar başta LC olmak üzere, noradrenerjik hücrelerin aktivasyonuna neden olur (Huether, 1996; Giustino ve ark., 2020). Bununla beraber prefrontal korteks, amigdala ve hipotalamusun uyarılması sonucu hipotalamik-hipofizer-adrenal (HPA) eksen aktif hale geçer (Huether ve ark., 1999; Fuchs ve Flugge, 2003).

2.4. Gastrointestinal Sistemin Afferent İnnervasyonu

GİS fonksiyonlarının regülasyonu ekstrinsik ve intrinsik sinirsel mekanizmalar tarafından kontrol edilmektedir. İntrensik kontrol, enterik sinir sistemi (ESS)'deki myenterik ve submukozal pleksuslar aracılığıyla gerçekleşirken, ekstrinsik kontrol otonom sinir sistemi ile sağlanmaktadır. GİS, iki farklı kaynaktan köken alan ekstrinsik primer afferent nöronlar tarafından innerve edilir. Spinal afferent sinirlerin gövdeleri dorsal kök gangliyonunda (DRG) yer alırken, vagal afferent nöronların hücre gövdeleri nodoz gangliyonunda yer almaktadır (Berthoud ve ark., 1997), (Şekil 2.2). Nodoz gangliyonlar gastrointestinal kanalın rostrokaudal organizasyonu olarak da isimlendirilen yumuşak damak ve yutak haricinde kalan kısımların visserotropik innervasyonundan sorumludur. Bu afferent nöronlar, merkezi olarak beyin sapına veya omuriliğe doğru uzanır ve periferik projeksiyonları mukoza, kas tabakaları, enterik gangliyon, seroza ve mezenterik bağlar dahil olmak üzere bağırsak duvarı içinde çeşitli seviyelerde sona erer (Blackshaw ve ark., 2007). Mide ve bağırsağı besleyen spinal afferentlerin çoğu kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP), taşikininler, P maddesi ve nörokinin A gibi kimyasal haberci nöropeptitleri içerir (Green ve Dockray, 1988). Modalite açısından, bu nöronların önemli ölçüde nosiseptif afferentler olduğu ve doku homeostazına ikili bir şekilde hizmet ettikleri düşünülmektedir. Afferent nöronlar MSS'ye bilgi aktarır, böylece rahatsızlık ve ağrı hissine yol açarak otonomik ve endokrin cevapları ortaya çıkarır. Peptiderjik afferent nöronlar, sinir uçlarından vazoaktif nöropeptitleri serbest bırakarak dokunun yaralanmaya karşı direncini artırabilir ve hasarlı dokunun onarımına yardımcı olabilir (Holzer, 1988; Vanner ve Surprenant, 1996).

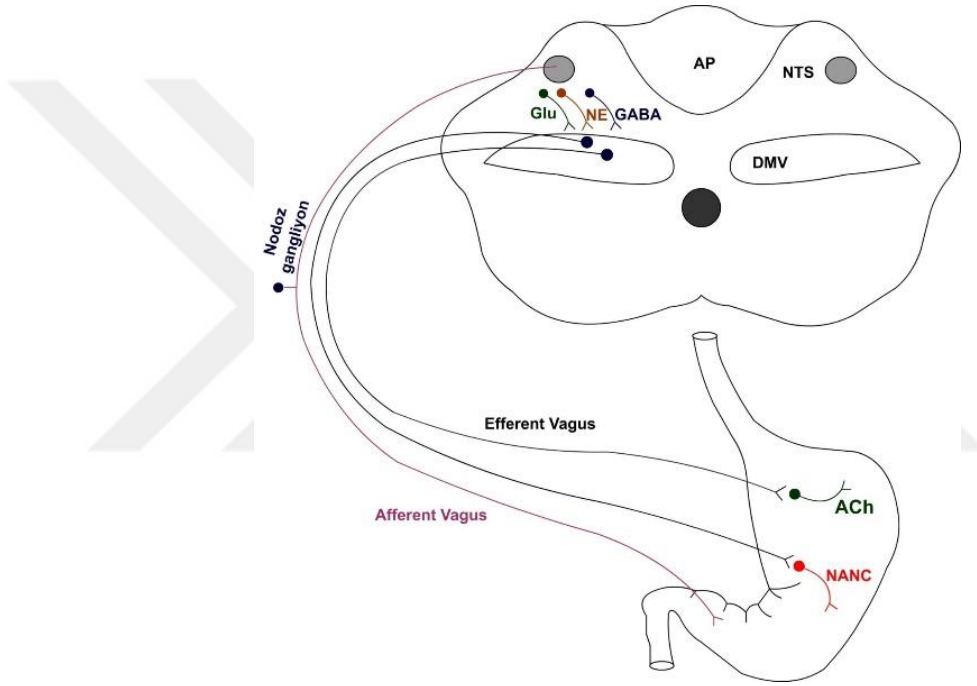


Şekil 2.2. Gastrointestinal sistemin afferent innervasyonu sağlayan yollar. DRG: dorsal kök gangliyonu NG: noduz gangliyon (Holzer, 1998).

Vagal ve spinal ekstrinsik nöronların her ikisi de spinal bileşenin zararlı uyarılara karşı cevabında midenin afferent innervasyonuna katkıda bulunur (Knowles ve Aziz, 2009). Visseral duysal nöronların özelliklerindeki değişikliklerin, özellikle gastrointestinal ağrının gelişimi ile ilişkili olarak, FGID gelişiminde önemli bir rol oynuyor olması muhtemeldir (Grundy ve ark., 2006). FD hastalarında görülen visseral gastrik hipersensitivitenin hücresel ve moleküler etiyojisi nispeten bilinmemektedir. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalarda, üst gastrointestinal sistemde normal ve artmış mekanosensasyondan sorumlu moleküllere, spinal ve vagal afferentlerin katkılarına odaklanmaya başlanılmıştır.

Santral vissero-motor sinir devreleri GİS'in yanı sıra otonomik homeostaz ile ilişkili beyin sapındaki ve yüksek beyin merkezlerindeki alanlardan girdi almaktadır. Söz konusu bu duysal girdiler parasempatik pregangliyonik motor nöron gövdelerinin yer aldığı N. vagus'un dorsal motor çekirdeği (DMV)'ye komşu soliter traktus çekirdeği (NTS) tarafından alındıktan sonra parasempatik vagal efferent sinirler aracılığıyla tekrar GİS'e motor çıktı olarak iletilmektedir. Bununla birlikte bazal koşullar altında NTS nöronları DMV'deki spontan uyarı doğuran (pacemaker) hücreler üzerinde gama aminobütirik asit (GABA)-aracılı tonik inhibitör, glutamat-aracılı fazık stimülatör innervasyona sahiptir.

Mideden köken alan duysal girdiler beyne vagal afferent lifler ile iletilmektedir. Traktus solitarius aracılığıyla beyin sapına giriş yapan vagal duysal nöronların santral projeksiyonları NTS’de glutamat nörotransmitterini kullanarak sonlanır. Burada entegre olan sinyaller, bu bölgenin ventralinde komşu olduğu DMV’ye glutamaterjik, katekolaminerjik ve GABAerjik girdiler ile iletilmekte ve böylelikle mideyi innerve eden kolinerjik efferent motor hücrelerin elektriksel aktivitesi düzenlenmektedir (Travagli ve Anselmi, 2016), (Şekil 2.3).



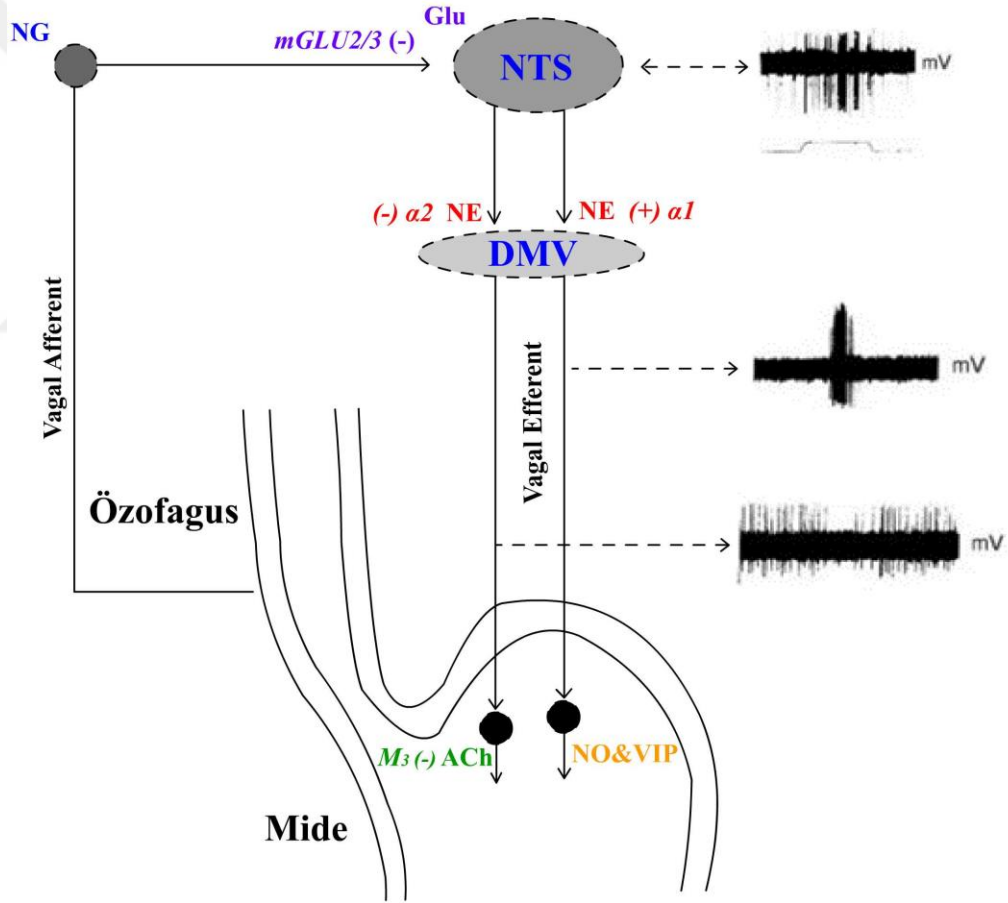
Şekil 2.3. Dorsal vagal kompleks aracılı düzenlenen gastrik vagovagal refleks mekanizması. DMV: N.vagus’un dorsal motor çekirdeği, NTS: soliter trakt çekirdeği, AP: area postrema, Glu: glutamat, Ach: asetilkolin, NE: norepinefrin, NANC: non-adrenerjik non-kolinerjik (Travagli ve Anselmi, 2016).

2.5. Beslenmede Rol Alan Vagal Afferent Mekanizmalar

2.5.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG)

Beslenme esnasında, besin yutulduktan sonra özofagusun gerilmesi ile bir refleks mekanizması gelişir. Gerginlik ile birlikte gastrik tonusun hızlı bir şekilde düşmesine yol açan bu durum, özofago-gastrik gevşeme (ÖGG) veya reseptif gevşeme refleksi olarak adlandırılmaktadır. Bu refleks cevabı ile meydana gelen ÖGG yanıtının amacı mideyi besin almaya hazırlamaktır. Yapılan çalışmalarda reseptif gevşeme refleksi cevabından NTS’den DMV’ye projekte olan noradrenerjik yolak sorumlu tutulmaktadır (Rogers ve ark., 1999; Hermann ve ark., 2006). Besinin yutulması sırasında özofagiyal distansiyonun

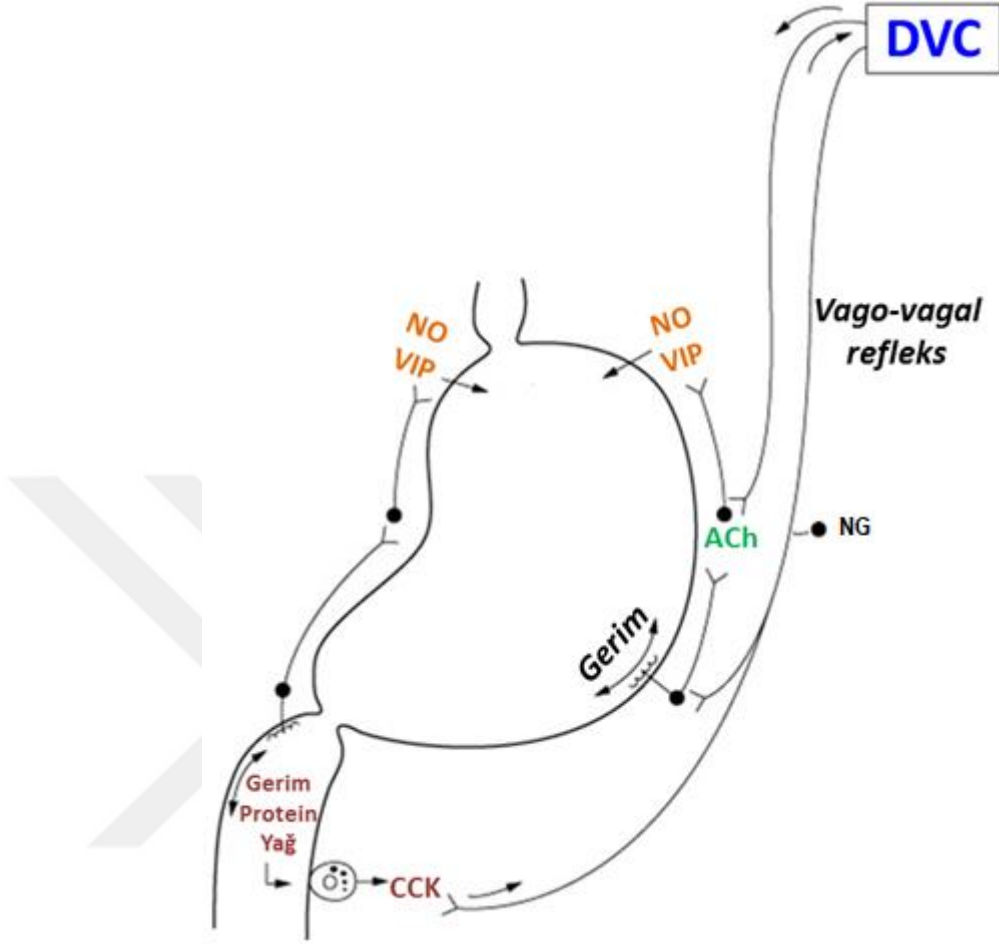
neden olduğu afferent aktivasyon, NTS adrenerjik nöronlarının DMV'deki bazı nöronların kolinerjik tonusunu $\alpha 2$ adrenerjik reseptörler aracılığıyla inhibe etmesine; diğer DMV nöronlarını $\alpha 1$ adrenerjik reseptörler aracılığıyla aktive etmesine neden olur. İnhibe olan DMV nöronları tonik olarak aktiftir ve gastrik düz kasa giden kolinerjik girdileri kontrol eder. Öte yandan, aktive olan DMV nöronları, non-adrenerjik non-kolinerjik (NANC) nöronlarını uyararak nitrik oksit, vazoaaktif intestinal peptid ve/veya adenozin salgılatarak gastrik düz kasın doğrudan inhibisyonuna neden olur. Kolinerjik tonus etkinliğinin azalması ve inhibitör yolun aktivasyonu, gelen besin maddelerinin alınması için midenin proksimalinin gevşemesine neden olur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Özofago-gastrik gevşeme (ÖGG)'de rol alan nöronal mekanizmalar. NG: nodöz gangliyon, glut: glutamat, NTS: nükleus traktus solitarius, DMV: n. vagusun dorsal motor çekirdeği, NE: norepinefrin, ACh: asetilkolin, NO: nitrik oksit, VIP: vazoaaktif intestinal peptid. Herman ve arkadaşlarının çalışmasından alınarak modifiye edilmiştir (Hermann ve ark., 2006).

2.5.2. Gastrik Akomodasyon Refleksi (GAR)

Gastrik akomodasyon, mide hacminde ve kompliyansında artışla birlikte mide tonusunun azalmasına neden olan vagal aracılı bir reflekstir. Beslenme esnasında mide besin ile dolduğunda şişkinlik meydana gelir. Bu gerilme, midenin proksimalinde uzun süreli bir gevşeme yaratır ve bu refleks yanıtı da adaptif gevşeme (Desai ve ark., 1991) veya gastrik akomodasyon refleksi (GAR) (Tack, 2006) olarak adlandırılır. Akomodasyon refleksinin amacı mide içi basınçta ihmal edilebilir artışlarla midenin büyük miktarlarda besin kabul etmesini sağlamaktır. Gastrik distansiyona bağlı midenin proksimal kısmının gevşemesinden beyin sapından kaynaklanan bir NANC yolağının sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Takahashi ve Owyang (Takahashi ve Owyang, 1997), akomodasyon refleksinin bir vagovagal refleks olduğu ve mideyi innerve eden postgangliyonik nöronlar tarafından nitrik oksit salınımı ile gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Serozal ve/veya kas katmanlarında bulunan gerim reseptörlerinden aldığı duysal bilgiyi ileten kapsaisine duyarsız vagal afferent yol ve postgangliyonik liflerden nitrik oksit ve/veya vazoaktif intestinal peptit (VIP) salınımını sağlayan vagal efferent yol gastrik gevşemeye neden olmaktadır (Barrett, 2006). GAR refleksinde rol alan nöronal mekanizmalar ve aracılık eden nörotransmitterler Şekil 2.5’de özetlenmiştir.



Şekil 2.5. Gastrik adaptif gevşeme (GAR) refleksinde rol alan nöronal mekanizmalar. DVC: dorsal vagal kompleks, ACh: asetilkolin, NO: nitrik oksit, VIP: vazoaaktif intestinal peptit, CCK: kolesistokinin, NG: nodoz ganglion. (Barrett, 2006)

Sağlıklı kişilerde bu refleks sayesinde besinin belirli bir süre fundusta tutulması sağlanırken, FD hastalarında ise açlık durumunda gastrik distansiyona yanıt olarak proksimal midede akomodasyon bozukluğu görülmektedir (Carbone ve Tack, 2014). Bu durum besinin kısa sürede midenin distal kısmına geçmesine neden olarak kişide erken tokluk hissi oluşturur. Ayrıca, bozulmuş akomodasyon, normalden daha büyük antral hacim ancak daha küçük fundus hacmi ile orantısız hacim dağılımına neden olmaktadır (Kim ve ark., 2001). Literatürde FD patogenezindeki bozulmuş postprandial akomodasyonun olası etiyolojik rolünü inceleyen az sayıda çalışma mevcuttur. Dolayısıyla gastrik akomodasyon ile ilgili patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması önem taşımaktadır.

2.6. Geçici Reseptör Potansiyel (TRP) Kanalları

Tüm organizmalar canlı kalabilmek için çevrelerindeki ortamı hızlı ve doğru bir şekilde algılamaya adapte olmuşlardır. Bu çevresel uyarıların yorumlanmasında kilit rol oynayan bir grup biyomolekül, geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları adı verilen ve membran potansiyelini veya hücre içi kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonunu değiştirerek sinyal dönüştürücü görevi gören bir katyonik kanal sınıfıdır (Samanta ve ark., 2018). TRP kanalları, mekanik ve kimyasal uyarıları algılamada ve ağırlı uyarıların nosiseptör aracılığı ile oluşumunda rol alan iyon kanallarıdır. TRP kanallarının TRP conancial (TRPC), TRP vanilloid (TRPV), TRP melastatin (TRPM), TRP polikistin (TRPP), TRP mukolipin (TRPML) ve TRP ankyrin (TRPA) olmak üzere her biri kendi içinde alt gruplara ayrılan altı üyesi bulunmaktadır (Venkatachalam ve Montell, 2007). Bunlar içerisinde TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 ve TRPA1 primer afferent nosiseptörlerde yer alan TRP kanalı çeşitleridir (Levine ve Alessandri-Haber, 2007).

Son yıllarda TRPV1 ve TRPA1 ile ilgili yapılan çalışmalar bu kanalların afferent sinyalizasyondaki önemine dikkat çekmektedir (Nassenstein ve ark., 2008; Brierley, 2010; Lin ve ark., 2015). TRPV1 ve TRPA1 gastrointestinal sistemin mekanosensasyonuna katkıda bulunan en önemli kanallar olarak kabul edilmektedir (Brierley, 2010). Vagal afferent nöronların hücre gövdelerinin bulunduğu nodoz gangliyonda bu kanalların üretildiği bilinmektedir (Samanta ve ark., 2018). Üst GİS (özofagus ve mide)'yi innerve eden vagal yol, mukozal ve gerim reseptörleri olarak adlandırılan iki farklı tür mekanoreseptif sona sahiptir. TRPA1 mukozal reseptör fonksiyonuna katkıda bulunurken (Brierley ve ark., 2009), TRPV1, özofagus ve mideyi innerve eden gerime duyarlı mekanoreseptörlerin mekanosensör işlevine katkıda bulunmaktadır (Bielefeldt ve Davis, 2008).

2.6.1. Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid 1

Spinal ve vagal primer afferent nöronlarda bol miktarda üretildiği bilinen TRPV1; kapsaisin, protonlar, toksinler ve sıcaklık ($>42^{\circ}C$) tarafından aktive olabilmektedir (Holzer, 2008; Blackshaw ve ark., 2010). Hem DRG hem de nodoz gangliyon hücrelerinde bulunan TRPV1, miyelinsiz ve ince miyelinli lifler veren küçük ve orta büyüklükteki nöronal perikarya ile sınırlıdır. Vücudun hemen hemen tüm dokularının

innervasyonu TRPV1-pozitif sinir lifleri tarafından sağlanmasına rağmen, visseral TRPV1-immünoreaktif lifler somatik afferent nöronlara göre önemli ölçüde daha yaygındır. Böylelikle mideye uzanan nodoz gangliyon ve bağırsağa projeksiyon yapan DRG nöronlarının çoğunluğu TRPV1'i eksprese ederken (Robinson ve ark., 2004; Brierley ve ark., 2005; Christianson ve ark., 2006), kemirgen jejunumunu innerve eden vagal afferent nöronların yalnızca %32'si TRPV1 içerir (Tan ve ark., 2009). TRPV1'in, duysal nöronlardaki belirgin ekspresyonuna ek olarak midenin paryetal ve gastrin salgılayan hücrelerinde; özofagus, mide ve ince bağırsak mukozasının epitel hücrelerinde ve ESS'de üretildiği rapor edilmiştir (Nozawa ve ark., 2001; Kato ve ark., 2003; Cheng ve ark., 2009).

İnsanlar tarafından kapsaisin yutulması, özofagiyal basınç dalgalarının genliğini ve hızını artırırken, proksimal mide tonusunu azaltmaktadır. Buna paralel olarak kapsaisin, proksimal midenin fazik kasılmalarını ve mide boşalmasını inhibe etmektedir (Lee ve ark., 2004). Literatürdeki bulgular, TRPV1'in gastrointestinal sistemin motor kontrolünü daha çok patofizyolojik koşullar altında hem lokal olarak bağırsak içinde hem de sempatik reflekslerin aktivasyonu yoluyla gerçekleştirdiğini göstermektedir (Bartho ve ark., 2008; Holzer, 2011). Bunu destekler nitelikte yapılan bir çalışmada, TRPV1 blokörlerinin deneysel kolit aracılı oluşturulan gastroparezi modelindeki semptomları hafiflettiği görülmüştür (De Schepper ve ark., 2008).

İnsanlarda intragastrik kapsaisin uygulaması proksimal gastrik distansiyona duyarlılığı artırırken (Lee ve ark., 2004), kapsaisin kapsüllerinin yutulması mide basıncı, mide ekşimesi ve sıcaklık hissini indüklemektedir (Hammer ve Vogelsang, 2007). Bunun yanı sıra neonatal maternal separasyon (MS)'ye maruz kalan yetişkin sıçanlarda akut stres yüklemesi sonucunda kolorektal distansiyona aşırı duyarlılık görülmüş ve bu etki TRPV1 blokajı ile ortadan kalkmıştır (van den Wijngaard ve ark., 2009). Bu bulguya paralel olarak, yetişkin sıçanlara 10 gün boyunca sudan kaçınma stresi uygulanması sonucunda kolonu innerve eden DRG nöronlarında kolorektal distansiyona bağlı TRPV1 ve TRPA1 ekspresyonunda artış tespit edilmiştir (Yu ve ark., 2010).

Literatürdeki bulgular, TRPV1'in FGID gelişimine katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir. Akbar ve arkadaşlarının (Akbar ve ark., 2008) yaptıkları çalışmada, IBS

hastalarının rektosigmoid kolonunda TRPV1 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. FD hastalarının, bir TRPV1 agonisti olan kapsaisine karşı daha yüksek bir duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür (Hammer ve ark., 2008). Öte yandan 2016 yılında yapılan bir çalışmada FD hastalarının duodenal biyopsi örneklerinde TRPV1'i kodlayan nosiseptörle ilişkili genlerin aşırı artışı tespit edilmiştir (Choi ve ark., 2016). Ek olarak, özofagusta TRPV1 eksprese eden vagal afferentlerin, gastroözofageal reflü ile uyarılan öksürük oluşumuna katkıda bulunabileceği görülmektedir (Kollarik ve Brozmanova, 2009). Bu bozuklukların yanı sıra erozif olmayan reflü hastalığı (Bhat ve Bielefeldt, 2006), idiyopatik rektal hipersensitivite ve fekal inkontinans (Chan ve ark., 2003) durumlarında da TRPV1'in ekspresyonu artmaktadır. Bu nedenle, FD hastalarının bir kısmı, sağlıklı kontrollere göre kapsaisin kapsüllerinin alımına daha duyarlıdır (Hammer ve ark., 2008). Bunun aksine, FD hastalarının kapsaisin içeren kapsüller ile 5 haftalık tedavisinin de faydalı etkileri görülmüştür (Bortolotti ve ark., 2002). Dikkat çeken başka bir bulgu ise TRPV1 geninin homozigot G315C polimorfizminin FD hastalarında semptom şiddeti ile ters ilişkili olmasıdır (Tahara ve ark., 2010).

2.6.2. Geçici Reseptör Potansiyeli Ankyrin 1

Memeli TRPA alt ailesinin tek üyesi olan TRPA1'in en iyi bilinen aktivatörleri, hardal yağı ve wasabideki aktif bileşen olan alil izotiyosiyanat (AITC) gibi çeşitli sistein ve lizin reaktif elektrofilik molekülleridir. Bunların yanı sıra tarçın, sarımsak özünden alisin ve duman egzozundan akrolein de TRPA1 aktivatörlerindedir (Bautista ve ark., 2006; Nilius ve ark., 2012). GİS içerisinde TRPA1'in; ESS nöronlarında (Penuelas ve ark., 2007; Anand ve ark., 2008), 5-hidroksitriptamin salgılayan enterokromafin hücrelerinde, kolesistokininin salgılayan endokrin hücrelerde ve gastrointestinal mukozada varlığı bilinmektedir (Purhonen ve ark., 2008; Nozawa ve ark., 2009). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada iyodoasetamid kullanılarak deneysel sıçan gastrit modeli oluşturulmuş ve gastrik TRPA1/V1 ekspresyonları değerlendirilmiştir. TRPA1 mRNA ve protein seviyeleri hem antrum hem korpusta artış gösterirken, TRPV1 immünoreaktivitesi artışı sadece midenin korpus kısmında tespit edilmiştir (Cseko ve ark., 2020).

TRPA1'in gastrointestinal motor aktivite üzerine etkileri bölgeye ve türe göre farklılık göstermektedir. Fare kolonunun izole edilmiş segmentleri AITC'ye yanıt olarak

kasılmakta ve bu etki tetrodotoksin tarafından önlenmektedir (Penuelas ve ark., 2007). Köpeklerde yapılan bir in-vivo çalışmada, TRPA1 agonistlerinin midenin antrum kısmında ve jejunumda motor aktiviteyi uyarırken, kolonda dev göç kasılmalarını ortaya çıkardığı görülmüştür (Doihara ve ark., 2009). Farelerde AITC'nin klonidin ile indüklenen atonik konstipasyonu ve loperamid tarafından indüklenen spastik konstipasyonu antagonize ederek oluşturduğu prokinetik etkiler göz önüne alındığında, TRPA1 agonistlerinin FGID'lerin tedavisine yeni bir bakış açısı kazandırabileceği söylenebilir (Kojima ve ark., 2009).

Kondo ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları çalışmada, TRPA1'in DRG ve nodoz ganglion nöronlarında eksprese edildiğini ve gastrik distansiyonun DRG ve nodoz ganglion nöronlarında ekstraselüler sinyal düzenleyici protein kinaz 1/2 (ERK1/2) aktivasyonunu indüklediğini tespit etmişlerdir (Kondo ve ark., 2009). Fosforile ERK1/2 etiketli DRG nöronlarının çoğunun TRPA1 pozitif nöronlar olması dikkat çeken başka bir sonuç olmuştur. Öte yandan, çalışmada TRPA1 antisensinin intratekal enjeksiyonu gastrik distansiyon aracılı gelişen visseromotor cevabı zayıflatırken, DRG'de ERK1/2 aktivasyonunu baskılamıştır. Ayrıca, TRPA1 inhibitörü HC-03003'ün intratekal ve intraperitoneal enjeksiyonları gastrik distansiyon yanıtını baskılamıştır (Kondo ve ark., 2009). Tüm bu bulgular, gastrik distansiyonla birlikte DRG nöronlarındaki TRPA1 aktivasyonunun akut visseral ağrının oluşumunda rol oynayabileceğini göstermektedir.

Diyare baskın IBS hastalarında gastrointestinal kanal soğuk ile uyarıldıktan sonra abdominal ağrı gelişmesi veya mevcut ağrının şiddetlenmesi, visseral algılamada düşük sıcaklığa bağlı duyarlılığı göstermektedir. Yapılan bir çalışmada strese bağlı IBS hayvan modeli ve IBS-D hastalarında soğukla ağırlaştırılmış visseral mekanosensisepsiyonda TRPA1'in rolü araştırılmıştır. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, IBS-D hastalarından alınan biyopsi örneklerinde, soğuk (4°C) su alımından sonra semptom skorları ile korelasyon gösteren yüksek antral TRPA1 ekspresyonu tespit edilmiş, soğuk salinin sıçanlara intra-antral infüzyonu vagal afferentler aracılı kolorektal distansiyona cevap olarak visseromotor yanıtları artırırken, kronik sudan kaçınma stresi uygulanan sıçanlarda bu yanıt daha fazla görülmüştür (Chen ve ark., 2019). Öte yandan, stres sonrasında vagal afferentlerde TRPA1 ekspresyonu artmıştır. TRPA1'in fonksiyonel

blokağı ve gen delesyonu, visseral nosisepsiyon üzerindeki soğuk etkiyi ortadan kaldırmıştır (Chen ve ark., 2019).

2.7. Apelinerjik Sistem

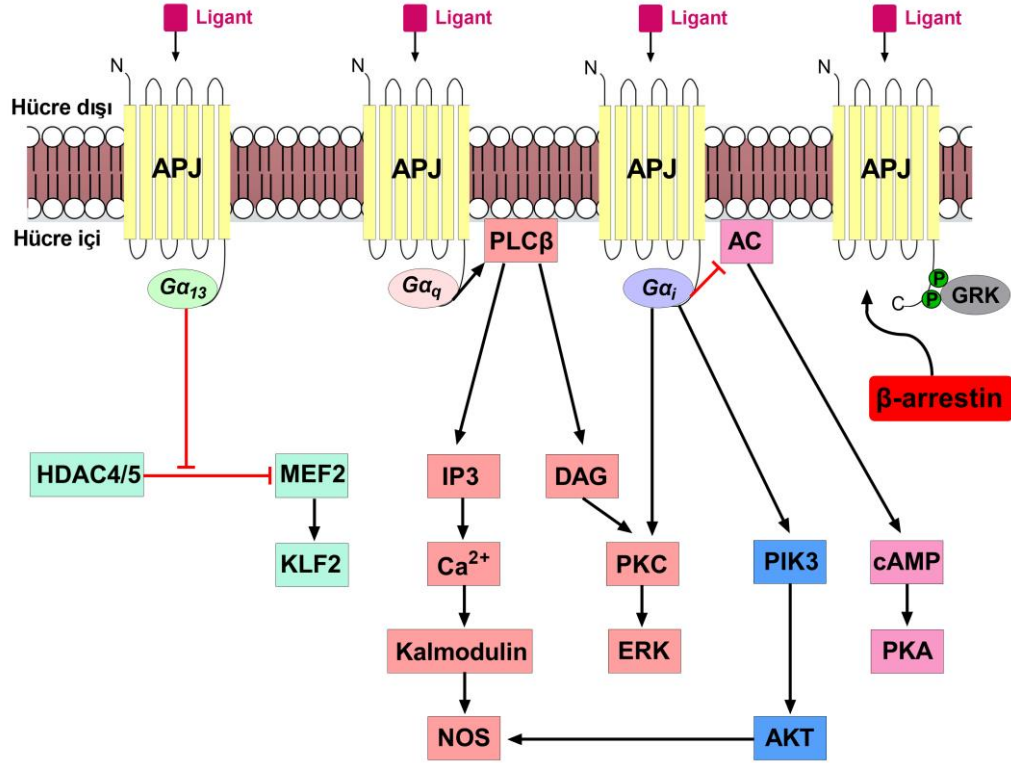
1993 yılında O'Dowd (O'dowd ve ark., 1993), vazopressin reseptör alt tiplerini araştırırken, bir G protein-bağlı reseptör (GPCR) olan APJ'yi keşfetmiştir. Kromozom 11q12 üzerinde bulunan bir gen tarafından kodlanan APJ'nin, hidrofobik transmembran bölgesinde anjiyotensin II reseptör tip-1 (AT1R) ile %54 homoloji paylaşmasına rağmen, anjiyotensin II için bağlanma bölgesi yoktur. Daha sonra apelin nöropeptiti, Tatamoto ve arkadaşları (Tatamoto ve ark., 1998) tarafından 1998 yılında sığır mide ekstraktlarından APJ'nin endojen ligantı olarak izole edilmiştir. Kromozom Xq25-26.1 üzerinde bulunan apelin geni, 77 amino asitlik prepro-apelin molekülünün enzimatik yıkımı neticesinde apelin-36, apelin-31, apelin-28, apelin-19, apelin-17, apelin-16, apelin-15, apelin-13 ve apelin-12 gibi farklı formlardaki son ürünlere ayrılır (Lee ve ark., 2000; Shin ve ark., 2017). Tüm apelin izoformları, biyoaktivite için gerekli olan aynı 12 C-terminal kalıntısını (RPRLSHKGMPF) paylaşır (Tatamoto ve ark., 2001; El Messari ve ark., 2004; Maguire ve ark., 2009). Biyolojik olarak en etkin form olan apelin-13 fizyolojik etkilerini APJ reseptörü aracılığıyla göstermektedir (Kleinz ve Davenport, 2005; O'Carroll ve ark., 2013). Prepro-apelin, bir N-terminali ve potansiyel proteolitik bölünme bölgelerine sahip C terminali içerir. C terminali, biyolojik aktivite sekansı ve APJ'ye bağlanan spesifik bölge içerir (Medhurst ve ark., 2003). Yakın zamanda Chng ve arkadaşları (Chng ve ark., 2013) APJ için başka bir endojen ligant olan, kromozom 11'de yer alan bir gen tarafından kodlanan ve embriyonik gelişimde kritik olan apelayı keşfetmiştir. Bununla birlikte, insanlarda apela yalnızca pluripotent hücrelerde ve böbrekte eksprese edilir (Wang ve ark., 2015). Apelin/APJ sistemi esas olarak APJ ve onun endojen ligantı olan apelin ile ilgilidir.

2.7.1. Apelinerjik Sistemin Hücre İçi Sinyal Yolakları

Apelin/APJ sistemi, esas olarak G proteinine bağlanarak sinyal transdüksiyonuna aracılık etmektedir (şekil 2.6). $G\alpha_i$, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/protein kinaz B'nin (PKB, AKT olarak da bilinmektedir) aktivasyonuna katılır veya mitojenik ERK sinyal yolunu başlatarak protein kinaz C (PKC) aktivasyonuna katkıda bulunur. Ayrıca adenilil siklaz

(AC)'ı inhibe ederek protein kinaz A (PKA)'nın aktivasyonunu da inhibe edebilmektedir (Masri ve ark., 2006; Chapman ve ark., 2014). Bunun yanı sıra, $G\alpha_q$ fosfolipaz C beta (PLC β)'yı aktive ederek diaçilgliserol (DAG) ve inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) üretimini, ardından sırasıyla PKC kaskadının aktivasyonunu ve hücre içi Ca^{2+} salınımını sağlamaktadır (Chapman ve ark., 2014). Ca^{2+} salınımı, kalmodülün ve daha sonra nitrik oksit sentaz (NOS) aktivasyonu aracılığıyla vazodilatör etki gösterir. Buna ek olarak, endotelial NOS (eNOS), $G\alpha_i$ yoluyla AKT aktivasyonu ile de sağlanabilir ve apelin/APJ sisteminin vazodilatasyon etkisini gösterir (Fleming ve Busse, 2003). Kanonik yollara ek olarak, Kang ve arkadaşları (Kang ve ark., 2013) $G\alpha_{13}$ aracılığıyla etki gösteren endotel hücrelerinde yeni bir APJ sinyal yolağı keşfetmiştir. Bu yolağın aktivasyonu, sınıf II histon deasetilaz (HDAC) 4 ve 5'in fosforilasyonuna ve sitoplazmik translokasyonuna yol açarak Kruppel-benzeri faktör 2 (KLF2) ekspresyonunu indükleyen miyosit artırıcı faktör-2'yi (MEF2) aktive etmektedir.

Kanonik G proteinine bağımlı yolakların yanı sıra apelin tarafından uyarılması, APJ'nin G proteinine bağımlı reseptör kinaz (GRK) yoluyla fosforilasyonuna ve ardından β -arrestin alınmasına yol açarak, G proteinden bağımsız sinyal yolakları aracılığıyla APJ'nin duyarsızlaşmasına ve internalizasyonuna neden olur (Şekil 2.6), (Loot ve Fleming, 2013).



Şekil 2.6. Apelin/APJ sistemi aracılı gelişen hücre içi sinyal yolları. Siyah ok uçları aktivasyonu, kırmızı düz uçlar inhibisyonu göstermektedir (Tian ve ark., 2020).

2.7.2. Apelinerjik Sistemin Bulunduğu Yerler

Sırasıyla APJ (Odowd ve ark., 1993) ve apelinin (Tatemoto ve ark., 1998) beyin ve midedeki ilk keşfinden bu yana, hem ligantın hem de reseptörünün vücuttaki bilinen doku dağılımı; MSS, kardiyovasküler sistem, dolaşım sistemi, sindirim sistemi, üreme sistemi, yağ ve iskelet kasları dahil olmak üzere çeşitli periferik dokuları kapsayacak şekilde genişlemiştir (Lee ve ark., 2000; Medhurst ve ark., 2003; Kleinz ve Davenport, 2005; Shin ve ark., 2017). Apelinerjik nöronlar MSS’de en yoğun olarak hipotalamik PVN, supraoptik nükleus, preoptik alan, ventromediyal-dorsomediyal çekirdekler, periventriküler alan, sirküventriküler organlar, beyin sapı ve ön hipofizdeki kortikotropik hücrelerde saptanmıştır (Lee ve ark., 2000; Reaux ve ark., 2002; Reaux-Le Goazigo ve ark., 2007). MSS dışında apelin mRNA’sı kardiyovasküler sistem, GİS, beyin, karaciğer, böbrek, adipoz doku, akciğer ve meme bezi gibi dokularda gösterilmiştir (Wang ve ark., 2004; Han ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009; Bulbul ve ark., 2019; Bulbul ve ark., 2019). Adiposit farklılaşması sırasında artan apelin ekspresyonu, büyüme hormonu,

tümör nekroz faktörü (TNF- α) veya insülin gibi birkaç faktör tarafından düzenlenmektedir (Boucher ve ark., 2005).

Sıçanların gastrointestinal kanalında apelin ve APJ mRNA seviyeleri doğumda en yüksektir ve doğumdan sonra azalır. Doğum sonrası sıçan midesinde, mide apelinini ifade eden hücrelerin yoğunluğu süttten kesildikten sonra aşamalı olarak artar ve yetişkinliğe doğru azalır. APJ, erişkin sıçanların mide epitel, ESS, duodenal goblet hücreleri, pilorik mukozal hücreler ve düz kas tabakalarında tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2004; Fournel ve ark., 2017; Li ve ark., 2018; Bulbul ve ark., 2019). Kapica ve arkadaşlarının (Kapica ve ark., 2012) yaptıkları çalışmada, apelinin midede hem ekzokrin hem de endokrin hücrelerde üretildiği gösterilmiştir. Ayrıca apelin peptidi gastrik mukus hücreleri, pariyetal hücreler ve şef hücrelerinde gösterilmiştir (O'Carroll ve ark., 2000). Sıçan karaciğerinde apelinin immünoaktivitesi, portal ve merkezi damarların endotelinde ve Kupffer hücrelerinde immünohistokimyasal yöntem ile saptanmıştır (Tatemoto ve ark., 2001; Lv ve ark., 2017). Asiner hücreler, pankreas kanalı ve adacık hücreleri, APJ'nin üretildiği diğer alanlardır (Kapica ve ark., 2012).

Apelinerjik sistemin sıçanlarda, farelerde ve insanlarda gözlemlenen geniş dağılımının aksine, apelinin şimdiye kadar nispeten sınırlı bir dağılım gösterdiği bulunmuştur (Chng ve ark., 2013; Deng ve ark., 2015; Yang ve ark., 2017). Apela ile ilgili yapılan ilk çalışmada yetişkin insan prostatında ve böbreğinde apela mRNA'sı tespit edilmiştir (Chng ve ark., 2013). Ardından, apela yetişkin kalplerinde (Yang ve ark., 2017), böbreklerde (Deng ve ark., 2015) ve pluriopotent kök hücrelerde (Wang ve ark., 2015) bulunmuştur.

2.7.3. Stres ve Apelinerjik Sistem İlişkisi

Güncel literatürde apelinin periferik dokularda strese bağlı artışını gösteren çok az bulgu mevcuttur. 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada 360 dk suya batırma ve hareketsizlik stresi uygulanan sıçanların midesinde mukozal apelin ekspresyonunun kontrol hayvanlarına göre anlamlı derecede artış gösterdiği rapor edilmiştir. Uysal ve arkadaşlarının (Izgut-Uysal ve ark., 2014) bulgularına paralel olarak, yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada Real-time PCR yöntemi ile gerçekleştirilen kantitatif analizlerde, akut strese maruz kalan sıçanların mide ve duodenum dokularında apelin mRNA'ları kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiştir. Buna ilave olarak 90 dk süreyle

hareket kısıtlama stresi (HKS) uygulanan sıçanların midelerinde apelin immünoreaktivitesinin önemli oranda arttığı saptanmıştır (Bulbul ve ark., 2019).

Literatürde sistemik apelin antagonizmasının strese bağlı bozulan gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine etkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Elde edilen bulgular, stres koşullarında artan apelin üretiminin önlenmesinin streste ortaya çıkan gastrointestinal motor bozuklukların düzeltilmesine katkı sağlayacağını düşündürmüştür. Bu olası etki apelin antagonisti F13A (100 µg, ip) ön uygulamasının ardından HKS'ye maruz bırakılan sıçanlarda mide boşalımı ve intestinal transit ölçülerek test edilmiştir. Apelinin periferik etkilerinin bloklanması sonucunda, HKS'nin mide boşalımı ve intestinal transit üzerine inhibitör etkisi kısmi olarak ortadan kalkmıştır (Bulbul ve ark., 2019). Bunun yanı sıra apelin antagonizmasının, stres kaynaklı mide lezyonlarının iyileşmesinde de faydalı bir rol oynadığı gösterilmiştir (Birsen ve ark., 2017). Apelin reseptör antagonisti F13A (150 µg/kg, i.v), suya batırma ve hareketsizlik stresine maruz kalan sıçanlarda mukozal kan akışının, prostaglandin E2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü üretimini önleyerek mide lezyonlarının iyileşmesini geciktirmiş olup, gastrik apelin seviyeleri stres sonrası 1. günde artmış ve daha sonra günlük olarak azalma göstermiştir (Birsen ve ark., 2017).

2.7.4. Apelinerjik Sistemin Vagal Afferent Fonksiyonlara Etkileri

A) Dolaylı Etkiler

Literatürde bulunan çalışmalar apelinin bir kolesistokin (CCK) sekretagogu olduğunu göstermektedir (Wang ve ark., 2004; Flemstrom ve ark., 2011; Watez ve ark., 2013; Bulbul ve ark., 2017). İnce bağırsağın enteroendokrin I hücrelerinden salgılanıp dolaşıma geçen CCK endokrin etkilerinin yanı sıra vagal duysal nöronlar üzerindeki CCK-1 reseptörleri üzerinden parakrin etkiler de göstermektedir. Sindirim sırasında bağırsaktaki mekanik ve kimyasal uyarılar ile oluşan sinyallerin beyine iletilmesinde CCK önemli rol oynamaktadır (Dockray, 2009). Doyma ve tokluk hissini oluşturan uyarılar beyin sapına GİS'den köken alan duysal vagal afferentler ile taşınmakta olup, NTS'ye iletilen bu girdiler oreksijenik ve anoreksijenik nöropeptitlerin sentezlendiği arkuat nükleusa iletilir (Woods ve D'Alessio, 2008). CCK besin alımının baskılanmasını vagal afferent nöronlardaki CCK-1 reseptörü aracılığıyla başlatılan vagovagal mekanizma ile

mide boşalımını inhibe ederek gerçekleştirir (Scarpignato ve ark., 1993; Moran ve Kinzig, 2004; Chandra ve Liddle, 2007). Ekzojen apelinin pankreasın ekzokrin fonksiyonlarına etkisinin incelediği bir çalışmada intra-duodenal apelin uygulamasının pankreas sekresyonunu uyardığı, bununla birlikte apeline bağlı bu cevabın CCKR-1 reseptör antagonisti ve kapsaisin uygulamaları ile ortadan kalktığı bildirilmiştir (Kapica ve ark., 2012). Bu sonuçlar apelinin pankreas üzerine uyarıcı etkisini CCK ve vagal afferent nöronlardaki CCKR-1 aracılığı ile gösterdiğini işaret etmektedir (Kapica ve ark., 2012). Bunun yanı sıra kemirgen entero-endokrin hücre kültürü (SCT-1) ve sıçanlar kullanılarak yapılan in-vitro ve in-vivo çalışmalarda apelinin CCK sekresyonunu uyardığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 2004; Flemstrom ve ark., 2011; Wattez ve ark., 2013). CCK'nın yanı sıra SCT-1 hücre hattında apelin-13, doza bağlı şekilde glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) seviyelerini artırmıştır (Wattez ve ark., 2013). GLP-1 reseptörlerinin CCK reseptörleri gibi vagal afferent sinir sonlanmalarında eksprese olduğu (Krieger ve ark., 2016) düşünüldüğünde, apelinin vagal afferent sinyalizasyonu üzerine olan etkilerine bu peptitler aracılık edebilir. Buna paralel olarak 2017 yılında yapılan bir çalışmada periferel apelin-13'ün gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine olan inhibitör etkisine CCK ve kapsaisin duyarlı vagal afferent nöronların aracılık ettiği bildirilmiştir (Bulbul ve ark., 2017).

B) Direkt Etkiler

APJ'nin vagal ve spinal afferent sinir gövdelerinin bulunduğu nodoz ganglion ve DRG hücrelerinde yaygın ekspresyonu bulunmaktadır (Wang ve ark., 2004; Fournel ve ark., 2017; Li ve ark., 2018; Bulbul ve ark., 2019). Literatürde ekzojen apelinin gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine inhibitör etkisi bilinmektedir (Lv ve ark., 2011; Bulbul ve ark., 2017; Bulbul ve Sinen, 2018; Bulbul ve ark., 2018). Santral apelinin gastroinhibitör etkisinin mide motor fonksiyonlarını kontrol eden vagal nöral devredeki kolinerjik yolun (tonik olarak aktif) etkinliğini yitirmesiyle ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Bulbul ve ark., 2018). Bunun yanı sıra, hem vagal parasempatik hem de sempatik yolların, apelin aracılı gelişen gastroinhibitör etkide rol oynadığı gösterilmiştir (Bulbul ve Sinen, 2018).

Li ve arkadaşlarının (Li ve ark., 2018) yaptıkları çalışmada apelinin gastrik vagal afferent sinyalizasyonu modüle ettiği gösterilmiştir. Apelin, aç bırakılmış kontrol farelerinde mide

mukozal vagal afferentlerin mukozal gerime tepkisini inhibe ederken, tok veya yağlı diyet ile beslenen farelerde ise bu etki görülmemiştir. Ayrıca apelin, gastrik gerim duyarlı afferentlerin duyarlılığını hem aç hem de tok hayvanlarda inhibe etmiştir. Çalışmada APJ mRNA'sı mide mukozasında ve nodoz gangliyonda tespit edilmiştir (Li ve ark., 2018). Bu bulgular, apelinin FD'ye bağlı gelişen vagal afferent disfonksiyonda rolü olabileceğini akla getirmiştir. Ayrıca apelinin DRG nöronlarındaki kalsiyum sinyalizasyonu üzerine bir etkisinin bulunmaması (Canpolat ve ark., 2016), apelinin daha çok vagal afferent sinyalizasyonun modülasyonunu sağladığını düşündürmektedir. Apelinin vagal afferent fonksiyonlara etkisini inceleyen başka bir çalışmada, apelin (2 mg/kg, i.v.), iskemi/reperfüzyon hasarına karşı mide mukozasını koruyucu etkisini; lezyon indeksi, miyeloperoksidaz aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve TNF- α miktarını azaltarak; mukozal kan akımını ise CGRP, nitrik oksit ve PGE2 miktarını artırarak gösterdiği ve apelinin mide koruyucu etkisinde, kapsaisine duyarlı duysal nöronlar ve n.vagus rol oynadığı ortaya konulmuştur (Birsen ve ark., 2020).

2.8. Amaç

Bu çalışmanın amacı, deneysel sıçan FD modeli oluşturularak apelinin bu etyopatogenezdeki rolünün ve etki gösterdiği beyin-bağırsak eksenindeki vagal afferent yollarının aydınlatılmasıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Biyofizik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (Protokol No: B.30.2.AKD.0.05.07.00/7) ile toplamda 70 adet erişkin erkek Sprague Dawley ırkı sıçanın kullanıldığı çalışmamızda, deneysel FD modeli oluşturularak apelinin afferent vagal disfonksiyondaki rolü nodoz gangliyon ve ESS seviyelerinde araştırılmıştır.

Toplam 70 adet erişkin erkek sıçan elde etmek amacıyla, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden, Sprague Dawley ırkı 20 adet erişkin dişi ve 7 adet erişkin erkek sıçan temin edilmiştir. Temin edilen dişi sıçan sayısı, anabilim dalımızda daha önce gerçekleştirdiğimiz çalışmalardaki bir batında doğan ortalama erkek yavru sayısına (3-4) göre belirlenmiştir. Sıçanlar tel kafeslerde ad libitum olarak standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslenmiş ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsüne ayarlanmış $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığındaki odalarda barındırılmıştır.

3.1. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılan hayvan sayılarının ölçülecek değişkenlere göre dağılımı aşağıdaki gibidir:

3.1.1. Deneysel FD Modelinin Doğrulanması: Kontrol (n=10) ve FD (n=10) grubu toplam 20 hayvanda vücut ağırlığı ve besin alımı takipleri ile birlikte mide boşalımı, yükseltilmiş artı labirent testi (EPM) ve açık alan testleri yapılmıştır.

3.1.2. Vagovagal Reflekslerin Değerlendirilmesi: Vagovagal refleksler, ÖGG ve GAR testleri ile toplamda 20 hayvanda gerçekleştirilmiştir.

1. Kontrol + salin (n=10)
2. Kontrol + apelin reseptör antagonisti F13A (n=10)
3. FD + salin (n=10)
4. FD + apelin reseptör antagonisti F13A (n=10)

3.1.3. İmmünohistokimyasal Yöntemler: Kontrol (n=15) ve FD (n=15) grubu toplam 30 hayvanda nodoz gangliyon ve enterik düzeyde immünohistokimyasal yöntemler gerçekleştirilmiştir.

Deneysel Protokoller

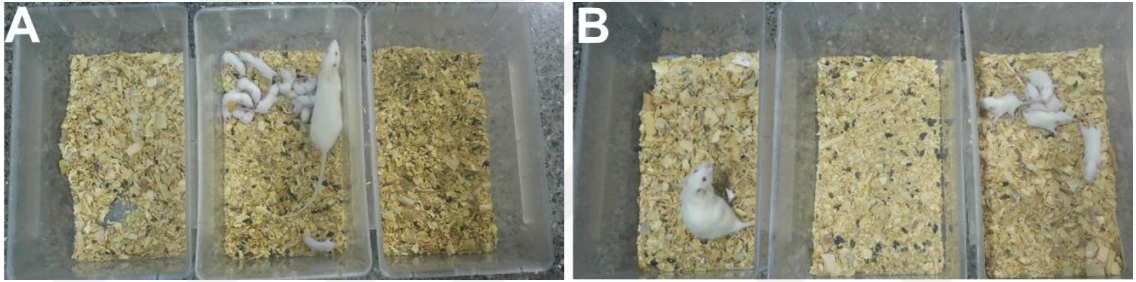
3.2. Deneysel Sıçan FD Modelinin Oluşturulması

İdeal bir hayvan modeli, hastalık koşullarını ve sonuçlarını insan durumuna mümkün olduğunca yakın taklit etmelidir. İdeal model, hastalık gelişimine yol açan ve yeni ilaçların geliştirilmesine yardımcı olan moleküler mekanizmaları anlama fırsatı sunabilir. Literatürdeki FD hayvan modelleri daha çok gecikmiş mide boşalımı, bozulmuş gastrik akomodasyon, visseral hipersensitivite ve psikolojik stres gibi özelliklere dayalı olarak oluşturulmuştur. Herhangi bir hayvan modelinin FD için tipik olan karmaşık rahatsızlıkların her yönünü taklit etmesini beklemek gerçekçi değildir. FD'yi incelemek için hangi modelin seçilmesi gerektiğine ilişkin karar, çalışmanın amaçlarına ve ilgi alanlarına bağlı olacaktır. FD gelişimine katkıda bulunan iki veya daha fazla faktör içeren bileşik hayvan modeli tercih edilebilmektedir. Bu amaçla çalışmamızda MS'ye maruz kalan sıçanlara, erişkin dönemde kronik homotipik stres (KHS) modeli uygulanmıştır (Abdel-Aziz ve ark., 2015; Jing ve ark., 2017).

Erkek:dişi oranı 1:3 olacak şekilde harem usulü ile barındırılarak erişkin damızlık sıçanların çiftleşmeleri sağlanmıştır. Dişi sıçanların gebelik tarihinin belirlenmesi amacıyla, çiftleşme sonrasındaki 12-24 saatlik diliminde meydana gelen vajinal tıkacın (plug) günlük olarak takibi gerçekleştirilmiş ve vajinal tıkacın gözleendiği gün 0. embriyonik gün (E0) olarak kabul edilmiştir. Deneysel sıçan FD modeli literatürde yayınlanmış metoda göre gerçekleştirilmiştir (Abdel-Aziz ve ark., 2015; Jing ve ark., 2017). Deneysel FD modeli, MS'ye maruz kalan sıçanlara, erişkin dönemde 7 gün ardışık şekilde KHS uygulanarak oluşturulmuştur. Tüm deneysel işlemler erişkin erkek (11-12 haftalık) sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Neonatal Maternal Separasyon (MS)

Neonatal MS uygulamak amacıyla anne sıçanlar postnatal 1. ve 21. günler arasında 3 saat/gün yavrularından ayrı kafeslerde tutulmuştur (Şekil 3.1). Protokol boyunca yavruların bulunduğu kafesler 37°C'lik ısı pedi üzerinde ayrı bir odada tutulmuştur. Ayrı tutma protokolünü takiben 21. günde süten kesilmeleri ile birlikte yavrular cinsiyetlerine göre ayrıldıktan sonra erişkin döneme kadar ayrı kafeslerde büyütülmüştür. Aynı dönemde diğer gebe sıçanlardan doğan yavrulara MS uygulanmamış olup, bunlar kontrol hayvanı olarak kullanılmak üzere anneleriyle birlikte büyütülmüştür. Bu hayvanlar, FD modeli oluşturulacak sıçanlara benzer şekilde 21. günde süten kesilerek annelerinden ayrılmıştır.



Şekil 3.1. Neonatal maternal separasyon (MS) uygulaması. MS uygulaması sırasında annelerin 180 dk boyunca yavrulardan ayrı kafeslerde bulunması sağlanırken (A: uygulama öncesi, B: uygulama sonrası), kontrol hayvanları anneleriyle beraber aynı kafeste tutulmuştur. MS uygulaması boyunca yavruları vücut ısılarının korunması amacıyla kafesler ısıtıcı düzenek üzerinde tutulmuştur.

3.2.2. Kronik Homotipik Stres (KHS) Protokolü

Erişkin yaşa (11-12 haftalık) gelen MS uygulanmış sıçanlara 7 gün süreyle 90 dk/gün HKS yüklemesi yapılarak KHS uygulanmıştır. Bu amaçla, sıçanların gövdeleri 90 dakika boyunca flaster bant yardımıyla ön ve arka bacakları hareket edecek şekilde 10x30 cm ölçülerindeki düz tahta platformlar üzerine sabitlenmiştir (Şekil 3.2). FD modeli oluşturulan erkek sıçanlara KHS uygulanırken, kontrol grubu sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmamıştır.



Şekil 3.2. Sıçanların 90 dakika boyunca düz bir platforma sabitlenmesi ile oluşturulan hareket kısıtlama stresi (HKS).

3.3. Deneysel Sıçan Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Doğrulması

Çalışmamız kapsamında geliştirilen hipotezlerin aydınlatılması için tasarlanan deneysel çalışmaların öncesinde, oluşturulan deneysel FD modelini doğrulamak amacıyla vücut ağırlığı ve besin alımı takipleri ile birlikte mide boşalımı, EPM ve açık alan testleri yapılmıştır. FD grubundaki hayvanlarda ortaya çıkması beklenen dispeptik semptomlar katı mide boşalımı ölçümü ile; anksiyete benzeri davranışlar ise EPM ve açık alan testi ile değerlendirilmiştir. FD bireyleri besin alımıyla tetiklenen postprandiyal ağrı ve erken tokluk gibi rahatsız edici semptomlar yaşamaları nedeniyle sağlıklı bireylere göre az miktarda besin tüketme; daha düşük enerji alımı nedeniyle de daha fazla ara öğün uygulama eğilimindedirler (Duboc ve ark., 2020). Buna bağlı olarak hastaların yarısından fazlasında vücut ağırlığında azalma görülmektedir. Çalışmamızda davranış deneyleri öncesinde sıçanların vücut ağırlıkları tartılırken, yem tüketimleri homotipik stres süresince (1 hafta) takip edilmiştir.

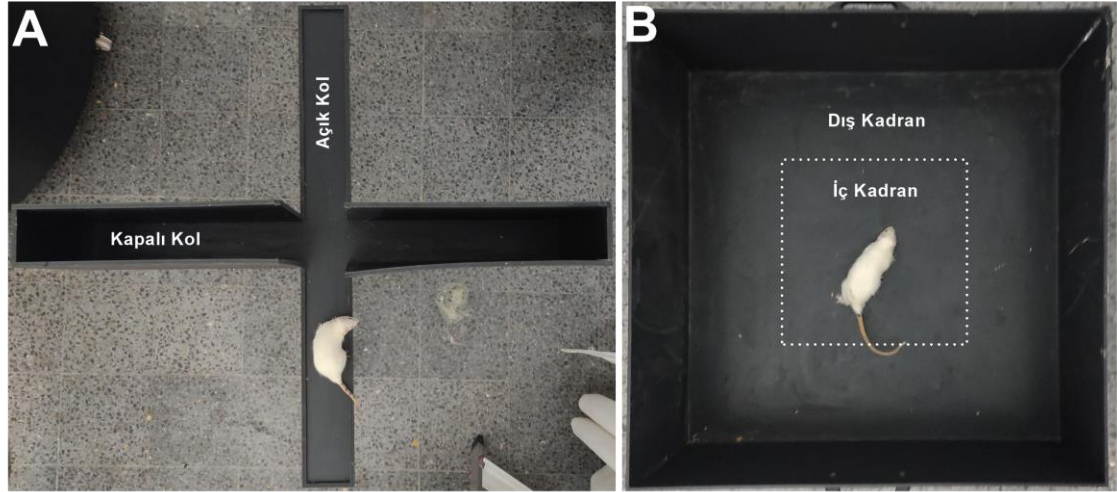
3.3.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (EPM)

Sıçanlarda EPM testi için, kol genişliği 10 cm, kol uzunluğu 50 cm, duvar yüksekliği 30 cm, yerden yüksekliği 55 cm olan artı şeklinde; iki kolun duvarlarla çevrili, diğer iki kolun ise çevresinin tamamen açık olduğu siyah mat zeminli düzenek kullanılmıştır (Şekil 3.3A). Her hayvan kolların çakışma noktası olan merkeze bırakılmış ve hayvanların davranışları 5 dakika boyunca kaydedilmiştir. Her denemeden sonra test alanı %30'luk etanol ile silinip kurulanmıştır. Kemirgenlerin test alanında donması/hareketsiz kalması veya açık kollara oranla kapalı kollarda daha fazla vakit geçirmesi anksiyete ile ilişkili davranışlar olarak nitelendirilmektedir (Lalonde ve Strazielle, 2008; Otsuka ve ark.,

2015). Hayvanın açık ve kapalı kollara giriş sayısı ve kollarda geçirdiği süre Ethovision XT (Noldus, 2009, Hollanda) video izleme sistemi ile değerlendirilmiştir.

3.3.2. Açık Alan Testi

Açık alan testi anksiyete benzeri davranışlar, lokomotor aktivite ve sedasyonun tespitinde sıklıkla kullanılan bir testtir. Bu test, duvar yüksekliği 40 cm, tabanı 80x80 cm ebatlarında kare şeklinde siyah mat tabanlı düzenekte yapılmıştır (Şekil 3.3B). Alan, 400 cm² büyüklüğünde birbirine eşit 16 küçük kareye bölünmüştür. Bu karelerden merkezdeki 4 tanesi test alanının iç kadranı olarak seçilirken, çevresindeki kareler ise test alanının dış kadranı olarak tanımlanmıştır. Deneyin başlangıcında sıçanlar tek tek bu alanın merkezine bırakılmış ve 5 dakika boyunca sıçanların hareketleri kaydedilmiştir. Her sıçan için iç ve dış kadranda geçirilen süre Ethovision XT video izleme sistemi ile kaydedilmiştir. Dış kadranda daha çok geçirilen süre anksiyete benzeri davranışları göstermektedir. FD hayvanlarında oluşması beklenen anksiyete seviyelerini ölçmek için test süresince hayvanların fekal çıkışları sayılmıştır. Her denemeden sonra test alanı %30'luk etanol ile silinip kurulanmıştır.



Şekil 3.3. Anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılan yükseltilmiş artı labirent (A) ve açık alan test düzenekleri (B).

3.3.3. Mide Boşalımı Ölçümü

Mide boşalımı ölçümü için 18-24 saat aç bırakılan sıçanlara önceden tartılmış 1,6 g ağırlığındaki pelet yemler verilmiştir. Pelet yemlerin tüketilmesini takiben geçen 90 dakika sonunda izofloran anestezisi altında eksanguinasyon ile feda edilen hayvanların

mideleri çıkarılmış ve mide içerikleri, ağırlığı önceden hesaplanmış tartım kaplarına alınıp oda ısısında 72 saat boyunca kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi sonunda mide içerikleri tartılıp, elde edilen değerler mide içeriklerinin başlangıç ağırlıklarına oranlanarak mideyi terk eden kısım yüzde (%) olarak ifade edilmiştir.

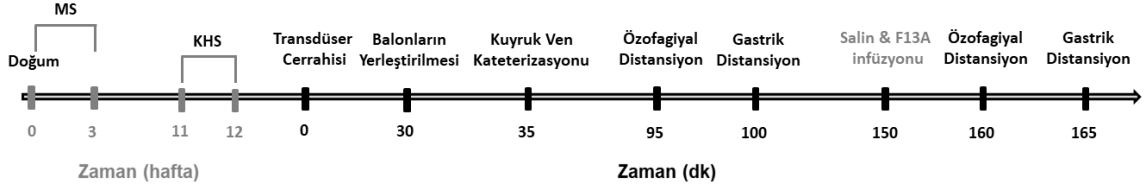
$$\text{Mide Boşalımı (\%)} = 1 - (\text{kurutulan içerik ağırlığı} / \text{tüketilen total pelet ağırlığı}) \times 100$$

3.4. Vagovagal Reflekslerin Değerlendirilmesi

Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesinde beslenmede rol alan ve mide rezervuar fonksiyonunu kontrol eden refleksler hedef alınmıştır. Vagovagal refleksler; ÖGG ve GAR refleks testleri ile değerlendirilmiştir. Bir gece önceden aç bırakılan sıçanlar ürethan ($1.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ile anestezi edilmiştir. Hayvanların karın bölgesi orta hat insizyonu ile açılarak mide ekspoze edilmiştir. Gastrik tonusu değerlendirmek amacıyla iki adet gerim ölçer (strain gauge) transdüser fundus ve korpuse serozal olarak 5.0 kalınlığındaki iplik ile dikilerek sabitlenmiştir (Şekil 3.5A). Motilite deney düzeneği strain gauge transdüserlerin bağlandığı wheatstone köprü devresi, amplifikatör, veri toplama ünitesi (PowerLab 8/35, Avustralya) ve bilgisayardan oluşmaktadır.

GAR testi için polivinil tüpe bağlanmış olan bir latex balon (maksimum hacim, 6 ml; maksimum çap, 25 mm), midenin pilor kısmından açılan bir insizyondan ilerletilerek proksimal mideye yerleştirilip sabitlenmiştir (Şekil 3.5A ve B). Ardından karın insizyonu 3.0 iplik ile kapatıldıktan sonra sıçanlar supin pozisyonda bir termal ped üzerine alınarak stabilizasyon için 1 saat süreyle bekletilmiştir.

Deneyel FD modeline bağlı gelişen afferent vagal disfonksiyonda apelinin rolünü incelemek amacıyla, intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulaması ($70 \text{ nmol}\cdot\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) yapılmıştır. Periferal apelin reseptör antagonisti F13A veya salin (serum fizyolojik, %0,9 NaCl) uygulamaları için kuyruk venine 24 G kalınlığındaki steril branül aracılığıyla giriş yapılmıştır. Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesinde gerçekleştirilen deneysel işlemler Şekil 3.4'te şematize edilmiştir.



Şekil 3.4. Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesinde gerçekleştirilen deneysel işlemlere ait akış diyagramı. Gri ve siyah renkte belirtilen yatay eksen başlıkları sırasıyla hafta ve dakika cinsinden zaman akışını belirtmektedir. MS: maternal separasyon, KHS: kronik homotipik stres

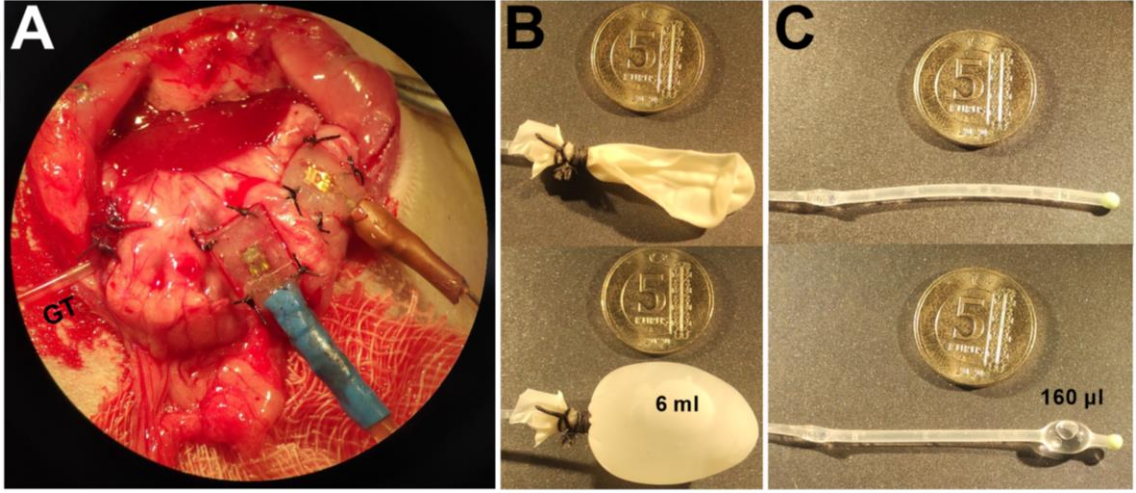
3.4.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG) Refleksinin Değerlendirilmesi

Yutma işleminin ardından alt özofagusa gelen besinin yarattığı şişkinliğin midenin proksimal kısmında gevşemeye yol açtığı bilinmektedir. Bu refleks mekanizmasını test etmek amacıyla özel hazırlanan bir balon aracılığıyla (Şekil 3.5C) özofagiya distansiyon oluşturulmuştur. Özofagiya distansiyonu sağlamak ve kompliyansı artırmak için 1,5 cm uzunluğunda, 1 mm dış çapa sahip silikon bir distansiyon balon, ağız yoluyla torasik özofagus seviyesine (özofagiya hiatusun 1 cm proksimaline) yerleştirilmiştir. Bazal mide motilitesi 5 dk süreyle kaydedildikten sonra özofagusa yerleştirilen balon 160 µL hacimde şişirilerek yaklaşık 14 mmHg değerinde bir transmural basınç artışı sağlanmıştır. Özofagiya transmural basınçta 14-15 mmHg seviyesindeki bir artışın, hücre gövdeleri nodoz gangliyonda bulunan vagal afferent nöronları aktive ederken, hücre gövdeleri DRG’de bulunan splanknik afferent nöronlarda herhangi bir aktivasyona neden olmadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Ferreria ve ark., 2006; Hermann ve ark., 2006). Distansiyona bağlı ortaya çıkan ÖGG yanıtı 1 dk süreyle kaydedildikten sonra balon içindeki sıvı geri alınarak distansiyon sonlandırılmıştır. Mide tonusunun başlangıç değerine dönmesinin ardından, kayıt sonlandırılarak ölçüm tamamlanmıştır. Özofagiya distansiyon sonucu gruplar arası fundus ve korpusun gevşeme yanıtları bazale göre % değişim olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan bu yöntem Ferreria, Hermann ve arkadaşlarının çalışmasından alınarak modifiye edilmiştir (Ferreria ve ark., 2006; Hermann ve ark., 2006).

3.4.2. Gastrik Akomodasyon Refleksinin (GAR) Değerlendirilmesi

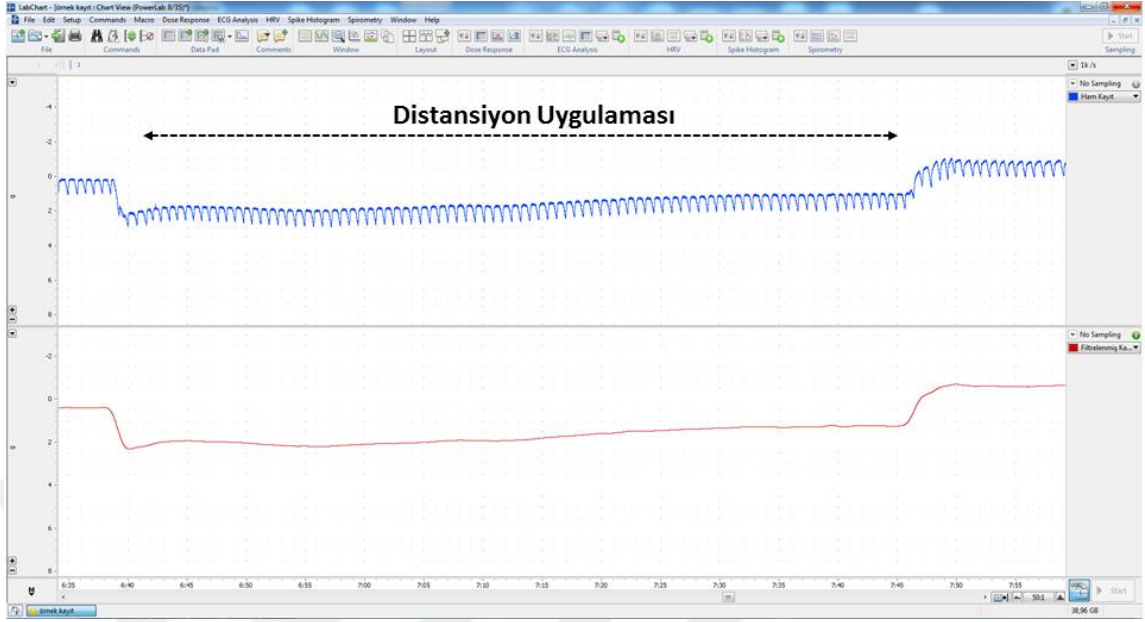
Gastrik akomodasyon, mide hacminde artışla birlikte mide kompliyansında azalma ile ilişkili vagovagal bir reflektir. Bu refleks mekanizmasını test etmek amacıyla proksimal mideye yerleştirilen balon (Şekil 3.5B), bir basınç transdüserine bağlanarak mide içi

basınçtaki değişiklikler kaydedilmiştir. Bazal basınç ölçümünün ardından balon 1 ml/dk hızda kademeli olarak 6 ml sıvı ile şişirilerek intragastrik basınç değişimleri kaydedilmiştir. Yüksek basınçlar, bozulmuş akomodasyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kontrol değerleri %100 olarak kabul edilmiş olup, uygulanan her distansiyon değerinde kaydedilen mide içi basınç kontrole göre % değişim olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan bu yöntem Takahashi ve arkadaşlarının (Takahashi ve Owyang, 1997) çalışmasından alınarak modifiye edilmiştir.



Şekil 3.5. Vagovagal reflekslerin değerlendirilmesi için gerçekleştirilen transdüser cerrahisi (A) ve distansiyon için kullanılan balon sistemleri (B ve C). A: iki adet gerim ölçer (strain gauge) transdüserin fundus ve korpusa serozal olarak yerleştirilmesi. B: GAR testinde kullanılan balon sistemi. C: ÖGG testinde kullanılan balon sistemi. GT: gastrik akomodasyon tüpü

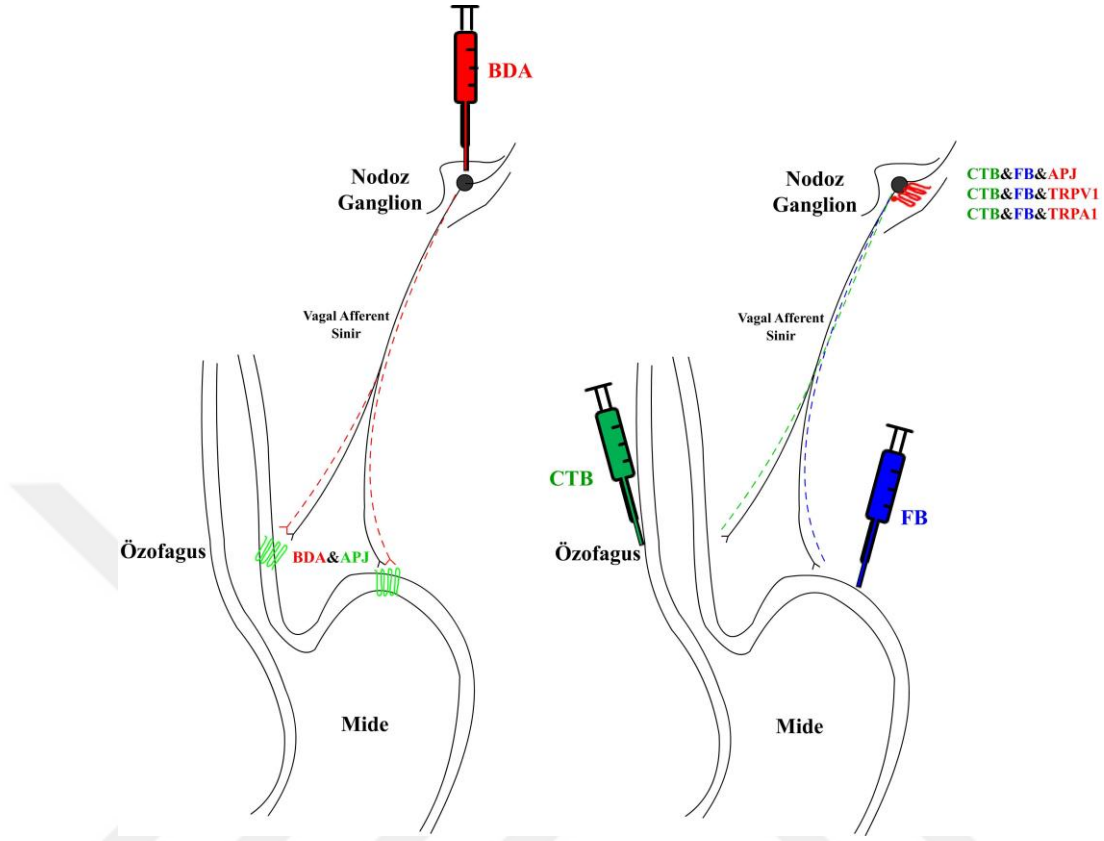
Özofagiyal ve gastrik distansiyona bağlı değişiklikler (bazal ölçümler) kaydedildikten sonra APJ antagonisti F13A ($70 \text{ nmol}\cdot\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$, i.v) enjeksiyonu branül aracılığıyla uygulanmış ve 10 dakika sonra distansiyonlar tekrar gerçekleştirilmiştir. Distansiyon sonrası değişiklikler gastrik bazal tonus normale dönene kadar kaydedilmiştir. Vagovagal reflekslerin değerlendirildiği testlere ait gastrik motilite kayıtlarının analizi “LabChart” yazılımı ile değerlendirilmiştir. Elde edilen gastrik motilite kayıtlarındaki solunum kaynaklı gürültünün elemine edilmesi için 0,1 Hz alçak-geçiren filtre uygulanarak hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Midenin fundus bölgesinden elde edilen ham ve filtrelenmiş bir örnek kayıt Şekil 3.6’da sunulmuştur.



Şekil 3.6. Midenin fundus bölgesinden elde edilen ham ve 0,5 Hz alçak-geçiren filtrelenmiş mide motilite kaydı.

3.5. İmmünohistokimyasal Yöntemler

Proje kapsamında, kontrol ve deneysel FD modeli uygulanmış sıçanlardan elde edilen nodoz gangliyon ve enterik doku örneklerinde immünohistokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Vagal afferent liflerin mide ve özofagusta APJ ile kolokalizasyonunu değerlendirmek amacıyla nodoz gangliyonuna anterograd nöronal tracer olan biotinlenmiş dextran amin (BDA, 10.000 MW, %10, Thermo Scientific, ABD) uygulanmıştır. Öte yandan, farklı bir hayvan grubunun nodoz gangliyonunda ise mide ve özofagusa ait vagal afferent nöronlarda APJ ve mekanosensitif reseptörlerle ilişkili kanallar olan TRPV1 ve TRPA1 varlığı değerlendirilmiştir. Bu amaçla mide ve özofagusa iki farklı retrograd nöronal tracer molekülü uygulanmıştır (Şekil 3.7). Uygulamalar ile ilgili ayrıntılı bilgilerleyen bölümlerde verilmiştir.



Şekil 3.7. Deney gruplarında immünohistokimyasal analizler için uygulanan işlemlerin şematik gösterimi. BDA: Biotinlenmiş Dextran Amin, CTB: Kolera Toksin B, FB: Fast Blue, APJ: apelin reseptörü, TRPV1: geçici reseptör potansiyeli vanilloid 1, TRPA1: geçici reseptör potansiyeli ankyrin 1.

3.5.1. Anterograd Nöronal Tracer Uygulaması

Vagal afferent liflerin APJ ile birlikte kolokalizasyonu özofagiyal ve gastrik myenterik nöronlarda immünofloresan yöntem ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla hayvanlar izofloran anestezisi altında anterograd nöronal bir tracer olan BDA, 33G kalınlığındaki enjeksiyon kanülüne polietilen tüp ile bağlı bir Hamilton şırıngası ile sol noduz gangliyonuna 1 µl hacimde enjekte edilmiştir. Enjeksiyon tamamlandıktan sonra enjeksiyon kanülü 1 dakika süre ile enjeksiyon alanında bekletilerek tracer molekülünün çevre alanlara yayılması engellenmiştir.

Uygulama sonrası hayvanlar 7 gün süreyle kafeslerinde barındırılmıştır. Deney gününde hayvanların mide ve özofagus dokuları izofloran anestezisi altında çıkarılmıştır. İçinde fosfat tamponlu tuz (PBS; pH: 7.2-7.4) solüsyonu bulunan agar kaplı petri kaplarına alınan dokular, gerildikten sonra %4'lük paraformaldehit solüsyonuna alınıp 1 gece boyunca 4 °C'de inkübe edilmiş, ardından dokular PBS çözeltisine tekrar alınıp, mikroskop altında

mikro cerrahi pensetler yardımıyla ayrılarak whole-mount düz kas-myenterik pleksus (LMMP) preparatları elde edilmiştir. Elde edilen doku örnekleri, %0.05 sodyum azide içeren PBS çözeltisine alınarak immünoboyama protokollerine kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.5.2. Retrograd Nöronal Tracer Uygulaması

Hayvanlara izofloran anestezisi altında uygulanan orta hat kesisini takiben mide ve özofagus açığa çıkarılmıştır. Fast Blue (FB, Polysciences, ABD) %5 konsantrasyonda mideye; kolera toksin B (CTB, Thermo Scientific, ABD) ise %2 konsantrasyonda özofagusa 5 µl hacim içerisinde, 33G kalınlığındaki enjeksiyon kanülüne polietilen tüp ile bağlı bir Hamilton şırıngası ile serozal olarak uygulanmıştır. Floresan kristallerin çevre dokulara yayılmaması için organların duvarı steril salin ile yıkandıktan sonra orta hat kesisi 3.0 ipek ile kapatılmıştır.

Uygulama sonrası 7 gün süren iyileşme periyodu sonunda izofloran anestezisi altında hayvanların boyun bölgesi orta hat insizyonu ile açılmış, kas dokuları ekarte edilerek vagus siniri tespit edilmiştir. Sinir takip edilerek her iki nodoz gangliyon tespit edilmiş ve immünohistokimyasal yöntemler için çıkarılmıştır. İçinde %4'lük paraformaldehit bulunan fiksatif solüsyonunda +4 °C'de 6 saat bekletildikten sonra gangliyonlar %30'luk sükröz içeren PBS solüsyonuna alınıp, immünoboyama protokollerine kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.5.3. İmmünofloresan Yöntem

Nodoz gangliyon dokularından alınan 40-50 µm kalınlığındaki frozen (freezing-mikrotom) kesitler ve elde edilen LMMP'ler superfrost (manyetik olarak statik) lamalar üzerine alınmıştır. Kesitler PBS içerisinde üç kez 10 dakika boyunca yıkanmıştır. Hidrofobik kalemle etrafı çizilen kesitler, spesifik olmayan immünooglobulin bağlanmalarını önlemek amacıyla %10 normal at serumu içeren bloklama solüsyonu ile 2 saat boyunca muamele edilmiştir. Bloklama solüsyonu uzaklaştırılarak primer antikorlar (APJ, Abcam, İngiltere; TRPV1 ve TRPA1, Santa Cruz Biotechnology, ABD) ile +4 °C'de iki gece boyunca inkübe edilen kesitler inkübasyon sonunda PBS ile üç defa onar dakika yıkanmıştır. Daha sonra, biyotinlenmiş anti-fare veya anti-tavşan floresan işaretli sekonder antikorlar (Thermo Scientific, ABD) ile gece boyu inkübe edilmiş ve 3 kez 10'ar

dakika PBS ile yıkamanın ardından, flouromont (Southern Biotech, ABD) kapatma solüsyonu ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlardaki immünoreaktiviteler floresan mikroskopunda (Olympus BX43, Japonya) tespit edilip incelenerek fotoğraflanmıştır. İmmüno-pozitif hücreler 20X veya 40X objektif büyütmesinde çekilmiş fotoğraflardan tespit edilerek sayılmıştır.

3.6. İstatistiksel Analiz

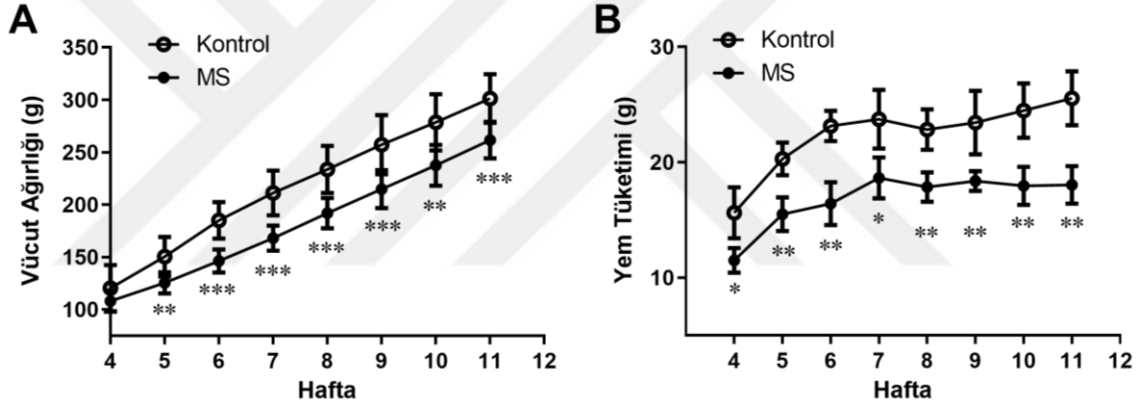
Sonuçlar ortalama±standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. İkili karşılaştırmalar için normal dağılıma uyan veriler Student-t testi; normal dağılıma uymayan veriler Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. İki den fazla grup içeren vagovagal reflekslerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc Tukey testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar, “GraphPad Prism 9” istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deneysel Sıçan Fonksiyonel Dispepsi Modelinin Doğrulanması

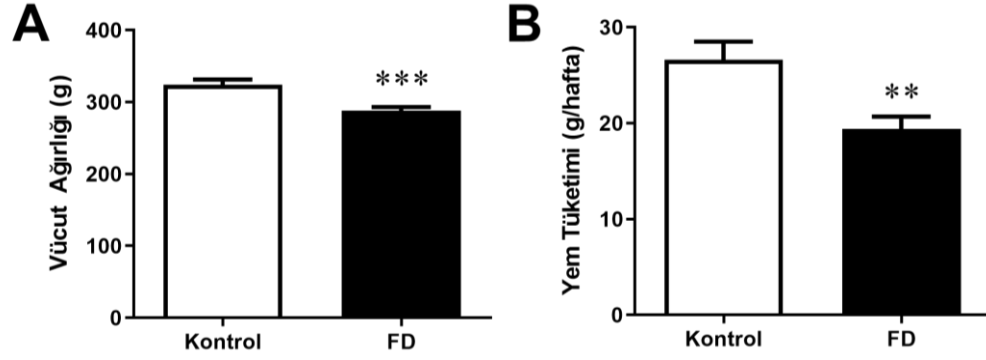
4.1.1. Vücut Ağırlığı ve Yem Tüketim Takibi

Deney gruplarındaki hayvanların yem tüketimi ve vücut ağırlıkları MS protokolünü takiben 21. günde sütten kesim sonrası erişkin döneme kadar olan periyotta haftalık olarak takip edilmiştir. Söz konusu değişkenler, erişkin dönemde FD modelinin oluşturulması için uygulanan homotipik stres sonrasında tekrar kaydedilmiş olup (Şekil 4.2), elde edilen veriler Şekil 4.1’de sunulmuştur. MS grubu hayvanların 4-11 haftalar arasındaki vücut ağırlıkları ve yem tüketimlerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma görülmüştür.



Şekil 4.1. Sıçanlarda neonatal maternal separasyonun (MS) adölesan, juvenil ve erişkin dönemlerde canlı ağırlık (A) ve yem tüketimine (B) etkileri. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=10$.

Homotipik stres uygulaması sonunda, kontrol hayvanlarına kıyasla (vücut ağırlığı: $324,1 \pm 7,3$ g; yem tüketimi: $24,7 \pm 1,9$ g) FD modeli uygulanmış sıçanların vücut ağırlığı ($288,2 \pm 4,9$ g, $p < 0,001$) ve yem tüketimlerinde ($19,4 \pm 1,3$ g, $p < 0,01$) anlamlı azalma gözlenmiştir (Şekil 4.2).



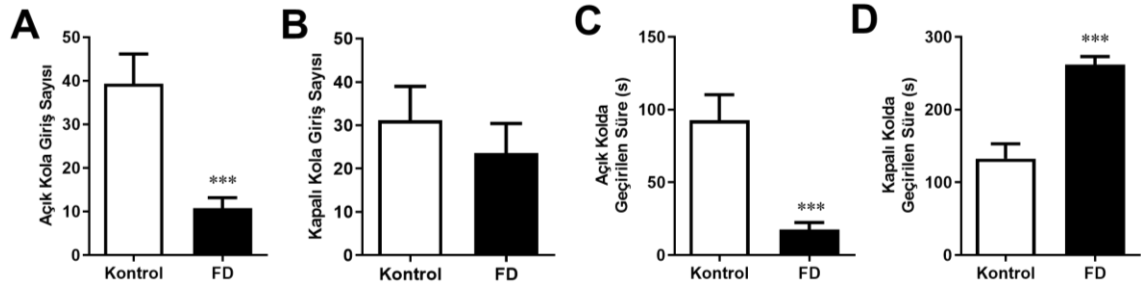
Şekil 4.2. 12 haftalık kontrol ve FD modeli sıçanların vücut ağırlığı (A) ve yem tüketimi (B) verileri. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=10$.

Anksiyetenin Değerlendirilmesi

Deney gruplarındaki hayvanların anksiyete durumu EPM ve açık alan testi ile değerlendirilmiştir.

4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Ölçümleri

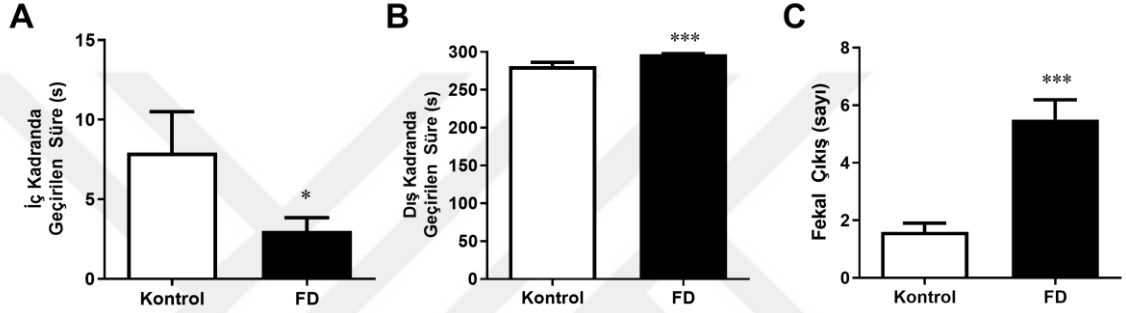
Anksiyete/depresyon değerlendirmesinde kullanılan EPM testinde, FD modeli uygulanmış hayvanların açık kola giriş sayıları ($10,8\pm 2,3$ sayı) ve açık kolda geçirdikleri süreler ($17,6\pm 4,7$ s) kontrol grubuna göre (açık kola giriş sayısı: $39,3\pm 6,8$ sayı; açık kolda geçirilen süre: $92,6\pm 17,6$ s) anlamlı ($p<0,001$) derecede az bulunmuştur. Buna paralel olarak, kontrol grubuna ($132,7\pm 20,4$ s) kıyasla FD modeli uygulanmış hayvanlar (262 ± 11 s) kapalı kolda anlamlı ($p<0,001$) şekilde daha fazla süre geçirirken, kapalı kola giriş sayıları açısından gruplar arası istatistiksel bir fark tespit edilememiştir ($p=0,73$), (Şekil 4.3). Bu bulgular FD modeli uygulanmış hayvanların anksiyete benzeri davranışlar sergilediğini göstermektedir.



Şekil 4.3. Yükseltilmiş artı labirent testi (EPM)'de; (A) açık kola giriş sayısı, (B) kapalı kola giriş sayısı, (C) açık kolda geçirilen süre ve (D) kapalı kolda geçirilen süre verileri. *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=10$.

4.1.3. Açık Alan Testi Ölçümleri

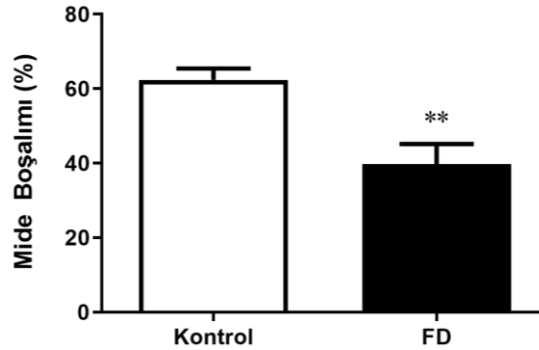
EPM sonuçlarına paralel olarak FD modeli uygulanmış sıçanlar, kontrol grubuna (iç kadranda: $3\pm 0,8$ s; dış kadranda: $281,2\pm 5$ s) kıyasla test alanının iç kadranda daha az ($7,9\pm 2,5$ s, $p<0,05$), dış kadranda daha çok ($297\pm 0,8$ s, $p<0,001$) süre geçirerek anksiyete benzeri davranış göstermişlerdir. Bunu destekleyen başka bir bulgu ise kontrol grubuna kıyasla ($1,6\pm 0,3$ sayı) FD grubu hayvanların test süresince artan fekal çıkış sayıları olmuştur ($5,5\pm 0,6$ sayı, $p<0,001$), (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Açık alan testinde (A) iç kadranda geçirilen süre, (B) dış kadranda geçirilen süre ve (C) test süresince hayvanların fekal çıkış verileri. * $p<0,05$; *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=10$.

4.1.4. Mide Boşalımı Ölçümleri

FD grubundaki hayvanlarda ortaya çıkması beklenen dispeptik semptomlar katı mide boşalımı ölçümü ile test edilmiştir. FD modeli oluşturulmuş sıçanlarda mide boşalım değerleri ($\%39,7\pm 5,4$) kontrol grubuna göre ($\%62,3\pm 3,1$) anlamlı ($p<0,01$) şekilde azalma göstermiştir (Şekil 4.5).

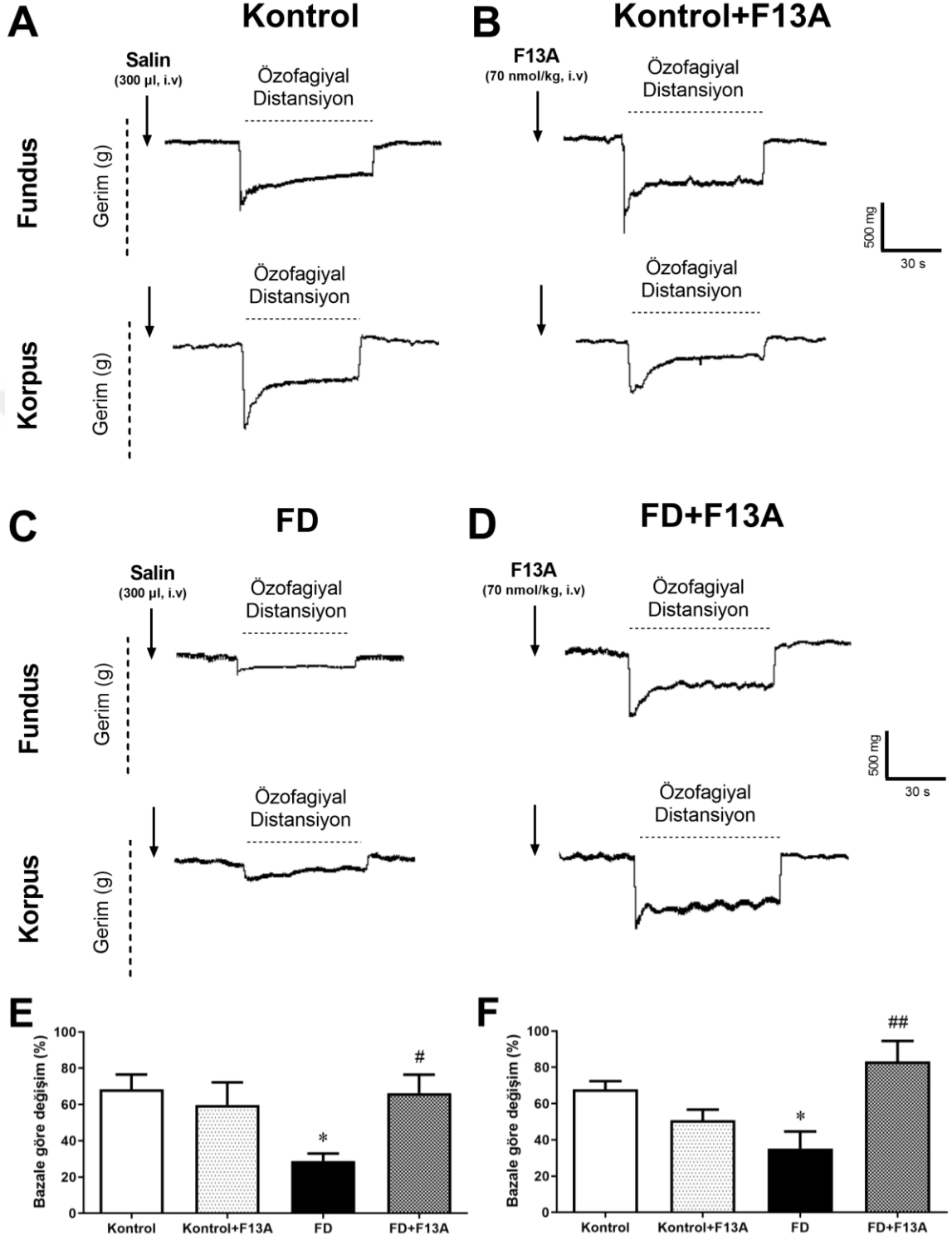


Şekil 4.5. Kontrol ve FD grubu sıçanlara ait mide boşalımı sonuçları. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=10$.

4.2. Vagovagal Refleks Ölçümleri

4.2.1. Özofago-gastrik Gevşeme (ÖGG) Refleksi Ölçümleri

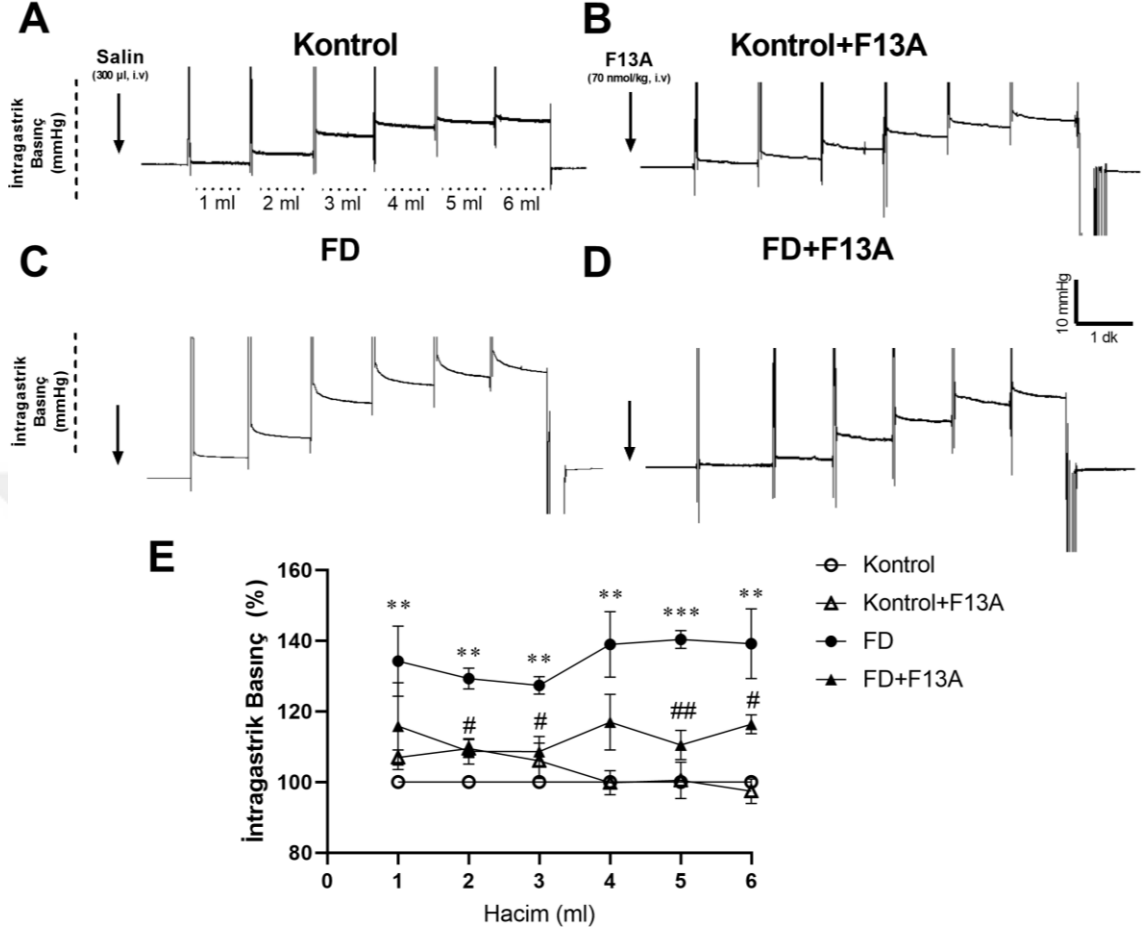
Şekil 4.6A’da görüldüğü gibi özofagustaki hafif şişkinlik (yemek bolusunun özofagustaki yarattığı gerimin taklit edilmesi), fundus (%68,3±8,1) ve korpus (%67,8±4,5) tonusunda bir azalmaya, yani midenin proksimal kısmının reseptif gevşemesine neden olmuştur. Kontrol grubu sıçanlarda apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması (70 nmol-ml-kg⁻¹, i.v) refleks cevabında istatistiksel bir farka sebep olmamıştır (fundus: %59,7±12,3; korpus: 50,8±5,8), (Şekil 4.6B). Öte yandan, kontrol grubuna kıyasla FD modeli oluşturulmuş sıçanların ÖGG yanıtlarının anlamlı (p<0,05) derecede bozulduğu tespit edilmiştir (fundus: %28,9±4; korpus: 35,1±9,4), (Şekil 4.6C). FD modeline bağlı bozulan ÖGG yanıtı, apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması ile (fundus: p<0,05; korpus: p<0,01) düzelme göstermiş ve kontrol seviyesinde değerler elde edilmiştir (fundus: 66,2±10,2; korpus: 83,3±11,2), (Şekil 4.6D). ÖGG refleksi ölçümlerinin istatistiksel değerlendirilmeleri Şekil 4.6E ve F’de sunulmuştur.



Şekil 4.6. Kontrol (A ve B) ve FD (C ve D) grubu sıçanların fundus (E) ve korpus (F) bölgelerinden kaydedilen ÖGG yanıtlarına intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulamasının (70 nmol-ml-kg-1, i.v) etkisi. * $p < 0,05$ kontrol grubuna göre; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ FD grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analizler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Tüm gruplarda $n=10$.

4.2.2. Gastrik Akomodasyon Refleks (GAR) Ölçümleri

Şekil 4.7A'da görüldüğü gibi kontrol sıçanlarında oluşturulan rampa tipi gastrik distansiyon, intragastrik basınçta lineer artışa neden olmuştur. Apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması ($70 \text{ nmol-ml-kg}^{-1}$, i.v) yapılmış kontrol sıçanlarında da benzer patern görülürken (Şekil 4.7B), FD modeli oluşturulmuş sıçanlarda ise intragastrik basınç artışı anlamlı olarak daha fazla görülmüştür (Şekil 4.7C). Bu durum bozulmuş gastrik akomodasyonun göstergesidir. Öte yandan, FD modeli oluşturulmuş sıçanlarda görülen yüksek intragastrik basınç artışları apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulamasıyla ($70 \text{ nmol-ml-kg}^{-1}$, i.v) mide içinin 2, 3, 5, ve 6 ml olduğu hacimlerde anlamlı olarak düşüş göstermiştir (Şekil 4.7D). Bu veriler, FD modeli oluşturulmuş sıçanlarda görülen bozulmuş gastrik akomodasyonun periferik F13A ön uygulamasıyla düzeldiğini göstermektedir. GAR ölçümlerine ait istatistiksel değerlendirmeler Şekil 4.7E'de sunulmuştur.

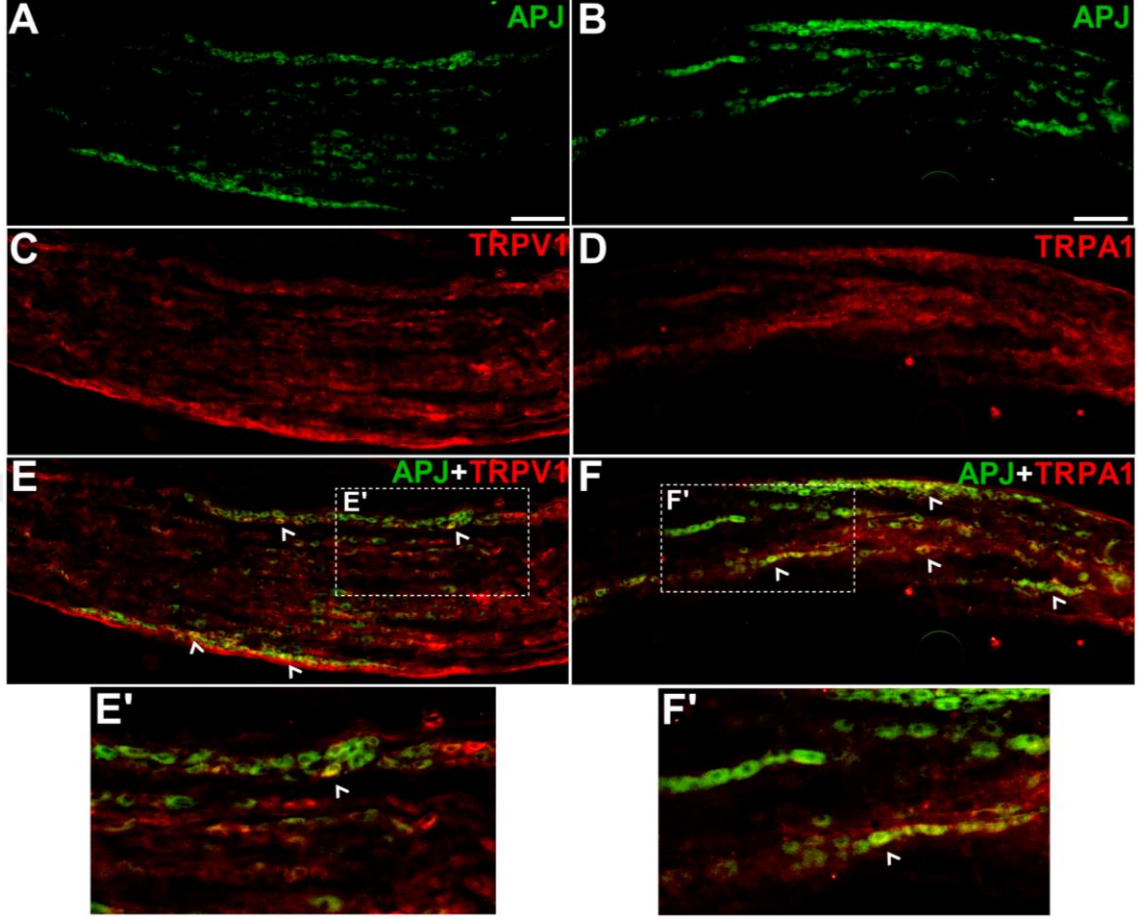


Şekil 4.7. Kontrol (A ve B) ve FD (C ve D) grubu sıçanlara ait intragastrik basınç değişimleri ve bu değişimlere intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulamasının (70 nmol-ml-kg-1, i.v) etkisi. Kontrol grubuna ait değerler %100 olarak kabul edilmiştir. Diğer gruplara ait veriler kontrole göre % değişim olarak ifade edilmiştir. **p<0,01, ***p<0,001 kontrol grubuna göre; #p<0,05, ##p<0,01 FD grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama±SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analizler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Tüm gruplarda n=10.

4.3. İmmünohistokimyasal Analizler

4.3.1. Noduz Gangliyon Histolojisi

Noduz gangliyon kesitlerinde yaptığımız immünohistokimyasal çalışmalarda APJ'nin TRPV1- ve TRPA1-pozitif hücrelerde varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

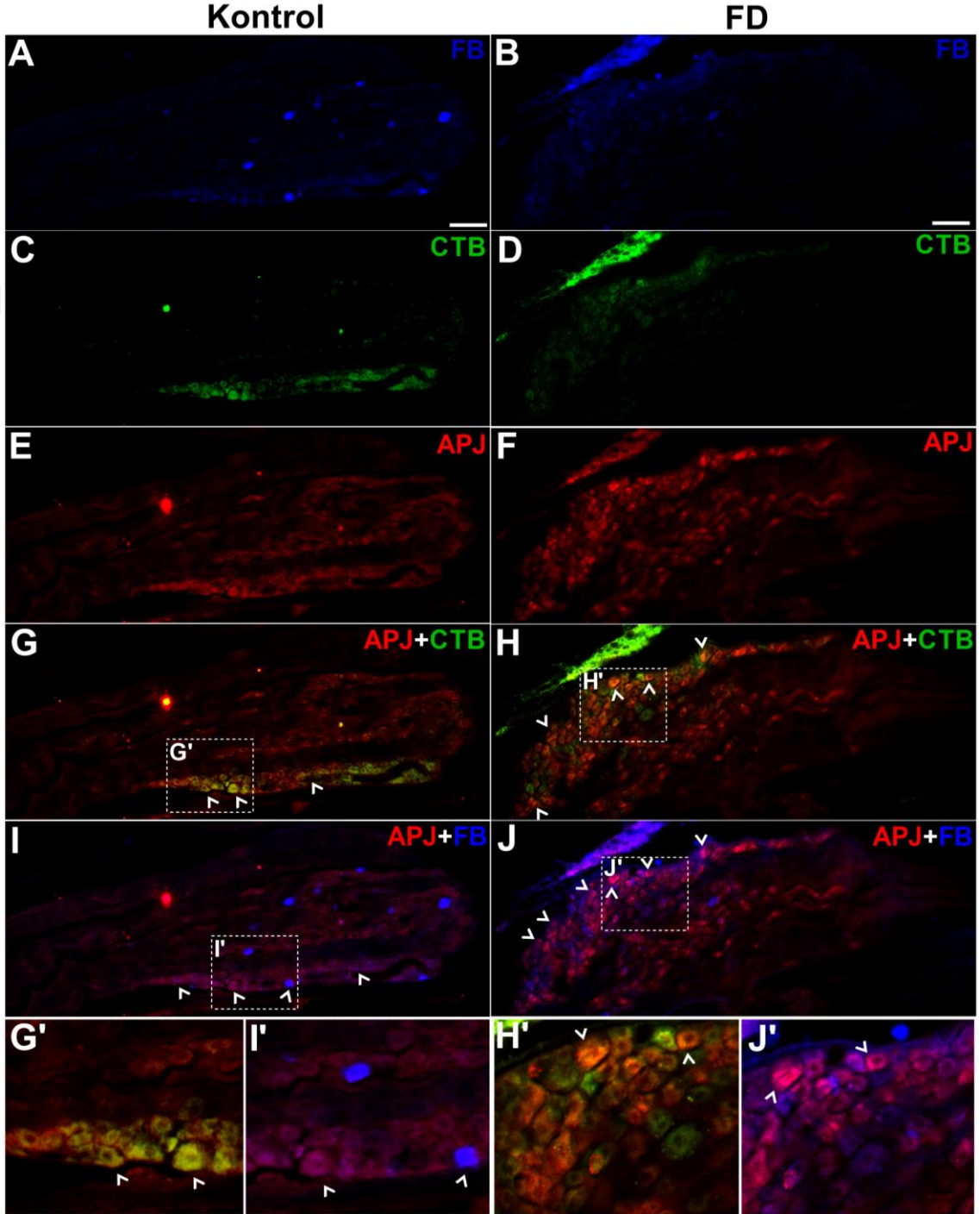


Şekil 4.8. Noduz gangliyon kesitlerinde APJ/TRPV1 (A, C, E) ve APJ/TRPA1 (B, D, F) immünoreaktif hücrelerin floresan yöntemle gösterimi. APJ eksprese eden TRPV1 veya TRPA1 pozitif nöronlar ok başları ile işaretlenmiştir. Skala bar: 200 μ m.

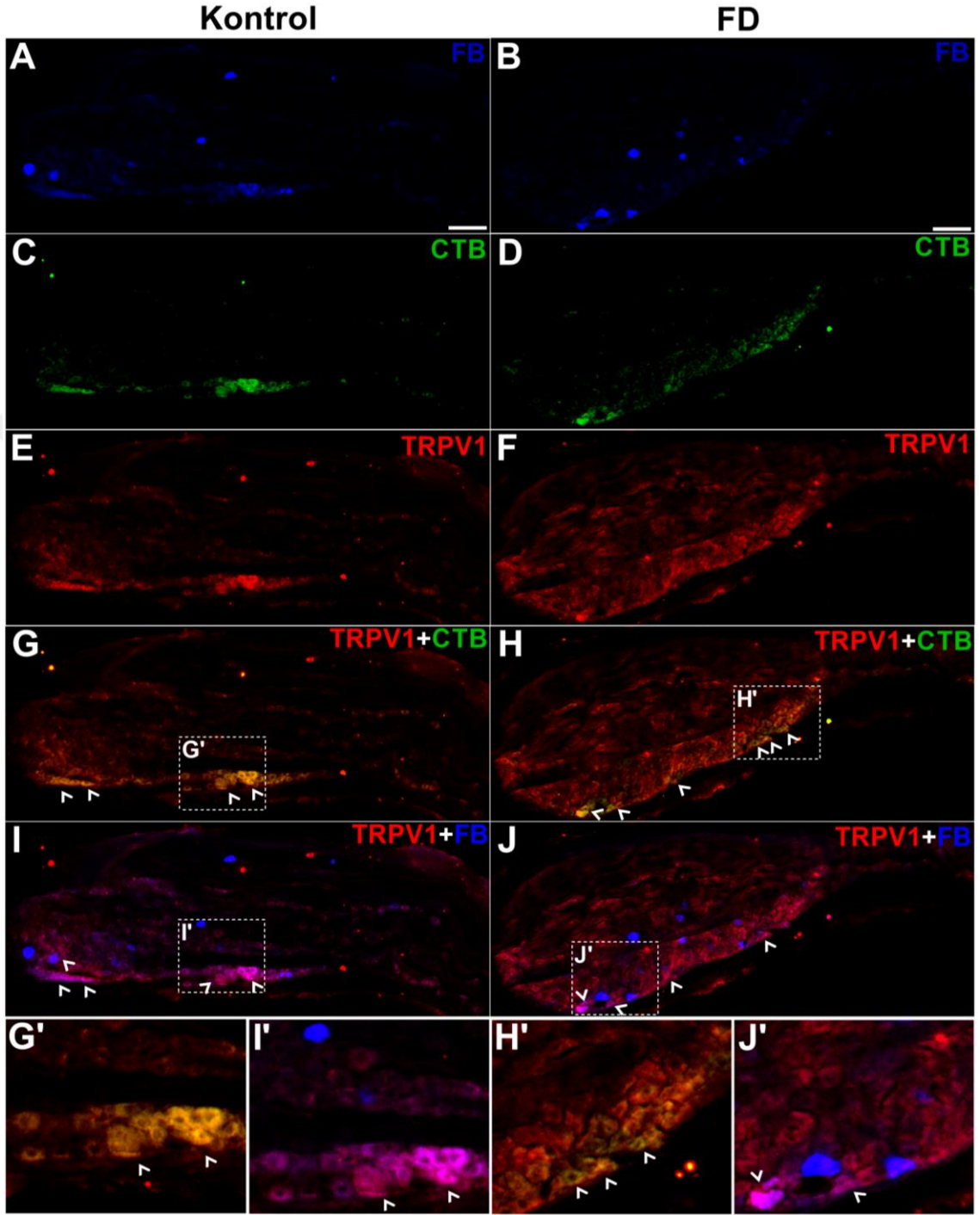
APJ, TRPA1 ve TRPV1 proteinlerinin, mide ve özofagusu innerve eden afferent vagal hücrelerdeki varlığı, retrograd floresan tracer uygulanan hayvanlardan elde edilen noduz gangliyon dokularında immünofloresan yöntemle araştırılmıştır. Mide ve özofagusu innerve eden vagal afferent hücrelerdeki APJ, TRPA1 ve TRPV1 ekspresyonunun gruplar arası değişimi Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de gösterilmektedir.

FD modeli oluşturulmuş sıçanların noduz gangliyon hücrelerindeki APJ (91 ± 4.5 hücre) ve TRPV1 (82 ± 5.1 hücre) immünoreaktivitesi gösteren hücrelerin sayısında kontrol grubuna (APJ: 51 ± 2.2 ; TRPV1: 54 ± 4.5 hücre) göre anlamlı (APJ: $p < 0,01$; TRPV1: $p < 0,05$) bir artış tespit edilirken, TRPA1 immünoreaktif hücreler açısından istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. Öte yandan, retrograd nöronal tracer molekülü FB ve CTB ile işaretlenmiş, mide ve özofagusu innerve eden afferent hücrelerdeki APJ, TRPA1 ve

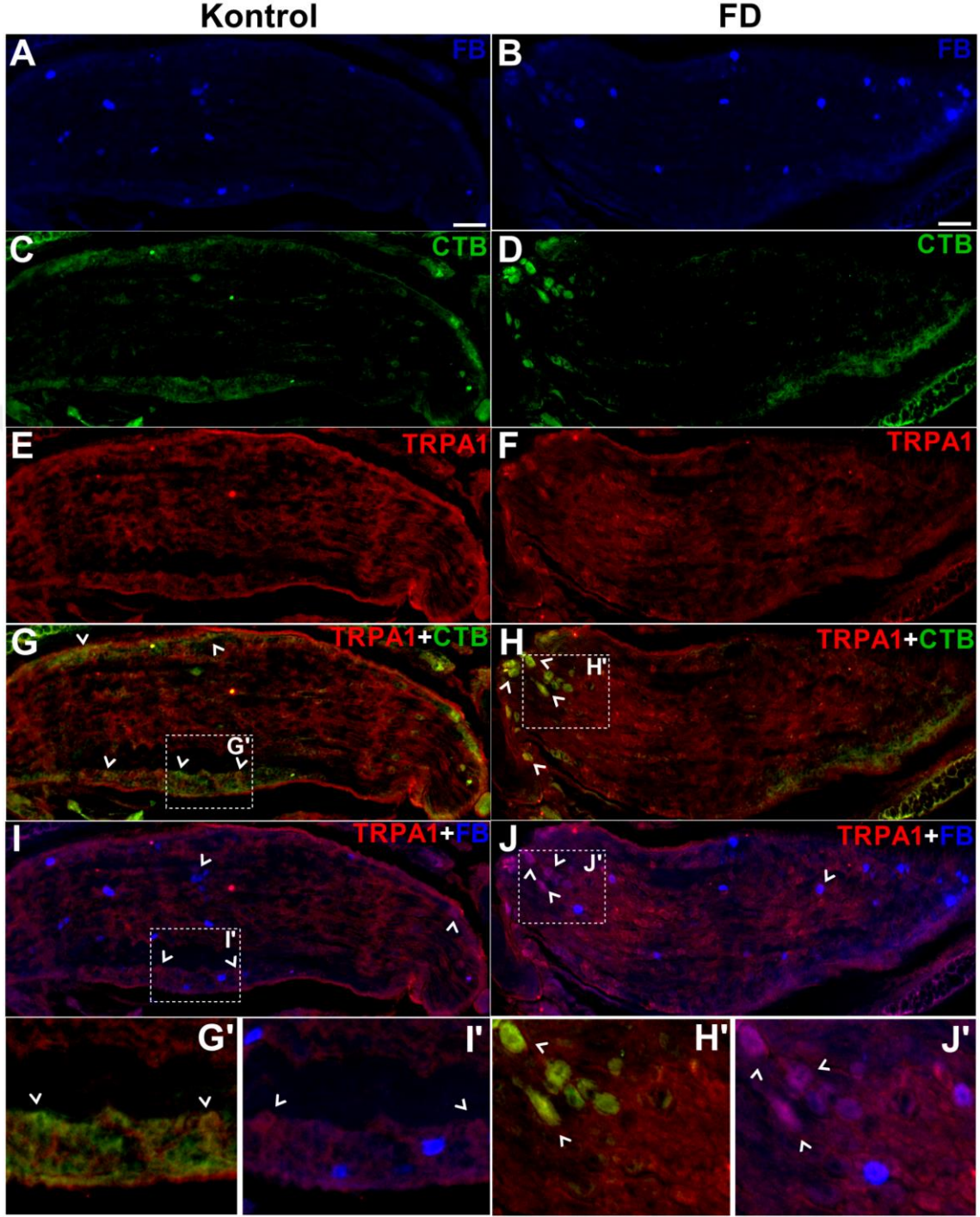
TRPV1 pozitif hücre sayıları yüzde olarak değerlendirilmiş olup, gruplar arası istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. Sonuçlar Tablo 4.1'de özetlenmiştir.



Şekil 4.9. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların nodoz gangliyonlarında mide (A, B) ve özofagusu (C, D) innerve eden afferent vagal nöronlar ve APJ (E, F) immünoaktif hücrelerin immüno Floresan yöntemle gösterimi. A, B: mideyi innerve eden afferent nöronlar. C, D: özofagusu innerve eden afferent nöronlar. APJ ekspres eden FB veya CTB ile işaretlenmiş afferent nöronlar ok başları ile işaretlenmiştir. Skala bar: 200 µm.



Şekil 4.10. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların nodoz gangliyonlarında mide (A, B) ve özofagusu (C, D) innerve eden afferent vagal nöronlar ve TRPV1 (E, F) immünoreaktif hücrelerin immüno Floresan yöntemle gösterimi. A, B: mideyi innerve eden afferent nöronlar. C, D: özofagusu innerve eden afferent nöronlar. TRPV1 eksprese eden FB veya CTB ile işaretlenmiş afferent nöronlar ok başları ile işaretlenmiştir. Skala bar: 200 μ m.



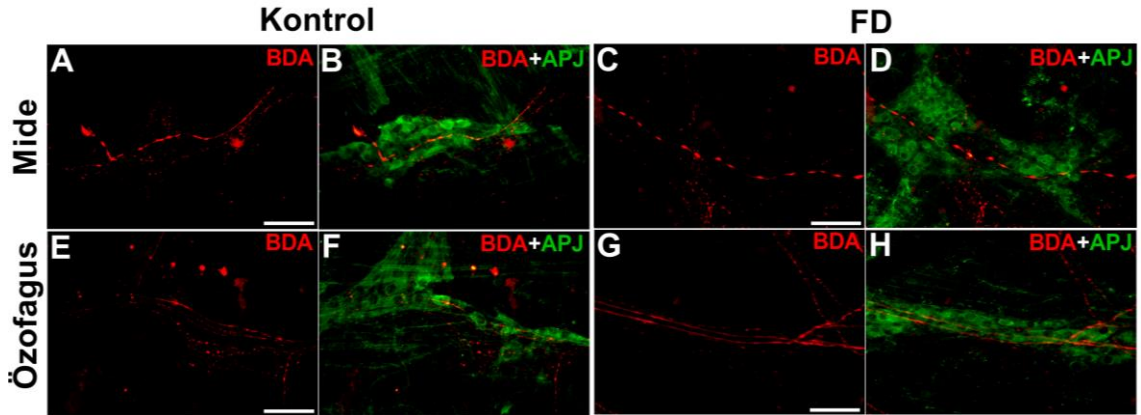
Şekil 4.11. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların nodoz gangliyonlarında mide (A, B) ve özofagusu (C, D) innerve eden afferent vagal nöronlar ve TRPA1 (E, F) immünoaktif hücrelerin immüno Floresan yöntemle gösterimi. A, B: mideyi innerve eden afferent nöronlar. C, D: özofagusu innerve eden afferent nöronlar. TRPA1 eksprese eden FB veya CTB ile işaretlenmiş afferent nöronlar ok başları ile işaretlenmiştir. Skala bar: 200 μ m.

Tablo 4.1. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların nodoz gangliyon hücrelerinde gerçekleştirilen immünohistokimyasal analizlerin sonuçları. Mideyi (FB⁺) veya özofagusu (CTB⁺) innerve eden vagal afferent hücrelerdeki APJ⁺, TRPA1⁺ ve TRPV1⁺ hücre varlığı yüzde olarak ifade edilmiştir. *p<0,05; **p<0,01 kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama±SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda n=5.

	APJ ⁺	FB ⁺ /APJ ⁺	CTB ⁺ /APJ ⁺
Kontrol	51±2.2	% 80±4	% 74±5.5
FD	91±4.5**	% 84±3.3	% 86±4.1
	TRPA1 ⁺	FB ⁺ /TRPA1 ⁺	CTB ⁺ /TRPA1 ⁺
Kontrol	47±6.3	% 84±6.5	% 79±7.4
FD	57±4.2	% 79±5.4	% 76±4.1
	TRPV1 ⁺	FB ⁺ /TRPV1 ⁺	CTB ⁺ /TRPV1 ⁺
Kontrol	54±4.5	% 81±4.5	% 85±5.2
FD	82±5.1*	% 86±4.8	% 88±4.9

4.3.2. Enterik Doku Histolojisi

Anterograd tracer ile işaretlenmiş gastrik ve özofagiyal myenterik nöronlarda APJ immünoreaktivitesi değerlendirilmiştir. Midenin fundus ve özofagus dokularından elde edilen LMMP whole mount preparatlarında vagal afferent sinir sonlanmalarıyla APJ immünoreaktif hücrelerin birlikte üretildiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12). FD modeli oluşturulmuş sıçanlara ait gastrik myenterik nöronlardaki APJ immünoreaktif hücre sayısı (38±5.2 hücre) kontrol grubuna göre (18±2.5 hücre) anlamlı (p<0,05) derecede artış gösterirken, özofagiyal preparatlarda gruplar arası istatistiksel bir fark tespit edilememiştir (Tablo 4.2).

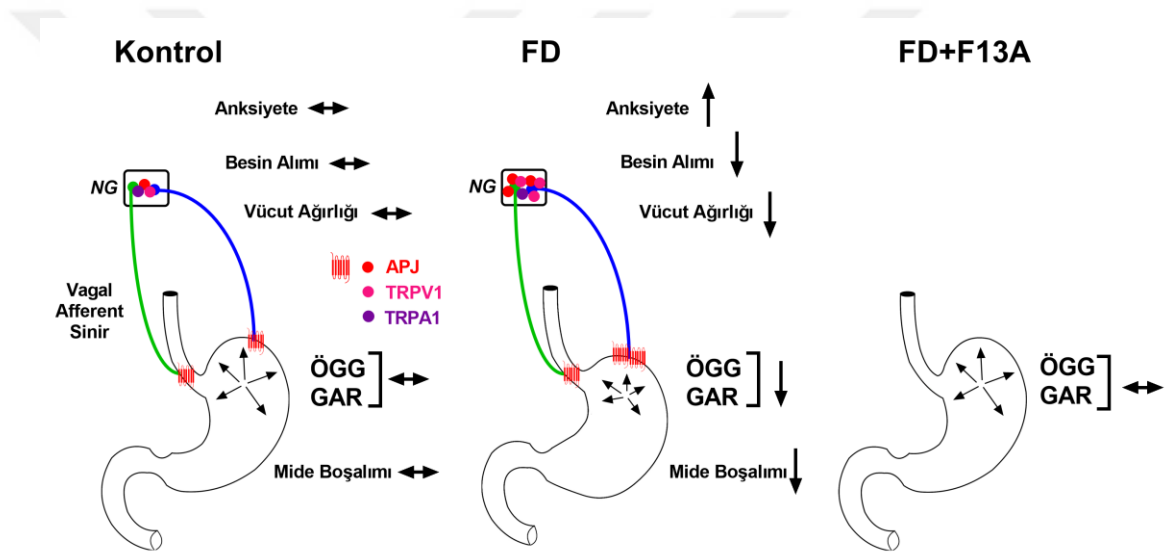


Şekil 4.12. Nodoz gangliyona anterograd nöronal tracer BDA (fluorocein ile konjuge yüksek molekül ağırlıklı dekstran; 10.000MW) uygulamasından 7 gün sonra elde edilen özofagiyal ve gastrik LMMP whole mount preparatlarında BDA ve APJ immünoreaktivitesinin immünofloresan yöntemle gösterimi. Kırmızı: floresan BDA, Yeşil: APJ. Skala bar: 50 µm.

Tablo 4.2. Kontrol ve FD modeli uygulanmış sıçanların gastrik ve özofagiyal LMMP whole mount preparatlarında bulunan APJ pozitif hücre sayısı. * $p < 0,05$ kontrol grubuna göre farkı işaret etmektedir. Veriler ortalama \pm SH olarak ifade edilmiş olup, istatistiksel analiz Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda $n=5$.

	Kontrol	FD
Mide	18 \pm 2.5	38 \pm 5.2*
Özofagus	22 \pm 3	25 \pm 3.5

Çalışmamızdan elde ettiğimiz yapısal ve fonksiyonel bulgular Şekil 4.13'te şematize edilerek özetlenmiştir.



Şekil 4.13. Çalışma kapsamında elde edilen bulguların şematik gösterimi. NG: nodöz gangliyon, FD: fonksiyonel dispepsi, ÖGG: özofago-gastrik gevşeme, GAR: gastrik akomodasyon refleksi, F13A: APJ reseptör antagonisti.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular FD modeli uygulanan sıçanlarda gelişen afferent vagal disfonksiyonda apelinin rolünü ortaya koymuştur. Bu sonuç, aşağıdaki bulgularla desteklenmektedir: (1) FD'ye bağlı bozulan ÖGG yanıtının apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması ile düzelme göstermesi; (2) FD'ye bağlı bozulan GAR yanıtının apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması ile toparlanma göstermesi; (3) TRPA1 ve TRPV1 üreten nodoz gangliyon hücreleri üzerinde APJ'nin üretilmesi; (4) özofagus ve mide etiketli afferent nöronlarda APJ, TRPV1 ve TRPA1 immünoreaktivitesinin saptanması; (5) FD'ye bağlı afferent nöronlarda APJ ve TRPV1; gastrik myenterik nöronlarda APJ üretiminin artması; (6) özofagiyal ve gastrik myenterik nöronlardaki vagal afferent sinir sonlanmalarıyla APJ immünoreaktif hücrelerin birlikte eksprese olması.

FD hastalarında açlık sırasında ve yemek sonrası dönemde mide distansiyonuna aşırı duyarlılığın önemli patofizyolojik faktörlerden biri olduğu gösterilmiştir (Farre ve ark., 2013; Duboc ve ark., 2020). Mide distansiyonunun, hastalarda kontrol bireylerine göre daha yoğun semptomlara neden olduğu ve spontan semptomları yeniden ürettiği gösterilmiştir. En yüksek semptom şiddeti skorları, yemek sonrası dolgunluk ve şişkinlik için elde edilirken, en düşük skor epigastrik yanma için alınmıştır (Farre ve ark., 2013). Aynı zamanda, öğünlerde bozulmuş gastrik akomodasyon ile de ilişkili olduğu bilinmektedir (Farre ve ark., 2013). Di Stefano ve arkadaşları (Di Stefano ve ark., 2014), sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında gastrik postprandiyal aşırı duyarlılığın ve semptom yoğunluğunun EPS hastalarında değil, sadece PDS hastalarında anlamlı olduğunu göstermişlerdir. Beslenme, dispeptik semptomların ortaya çıkmasında önemli bir faktör olduğundan, hastalar sıklıkla bu semptomları hafifletebilecek diyet önerileri talep ederler. FD hastalarında kilo kaybı (Tack ve ark., 2010; Jiang ve ark., 2016), tamamlayıcı muayenelere yol açan bir alarm işareti olarak kabul edilmektedir (Stanghellini ve ark., 2016). Bununla birlikte kilo kaybı dispeptik hastaların >%5'inde, EPS ve PDS hastalarının ise yaklaşık %40'ında görülmektedir (Karamanolis ve ark., 2006). Kilo kaybının, hastaların bilinçli veya bilinçsiz olarak semptom yoğunluğunu

azaltmak için besin alımlarını sınırlamaları nedeniyle meydana geldiği muhtemel gözükmektedir. FD hastalarının klinik takibinde, kilo kaybı ile birlikte bu kişilerde anoreksi gelişebilmekte ve sıklıkla bu kişilere yeme bozukluğu teşhisi konabilmektedir (Akamizu ve ark., 2008; Page ve Li, 2018). Bunun yanı sıra, literatürde yapılan deneysel kemirgen FD modellerinde de kilo kaybı (Liu ve ark., 2008; Ji ve ark., 2019) ve yem tüketiminde (Liu ve ark., 2008; Liang ve ark., 2018) azalma rapor edilmiştir. Literatürle uyumlu olarak, çalışmamızda oluşturduğumuz FD hayvanlarının kilo kaybı anlamlı olarak daha yüksek bulunurken, besin tüketimlerinin ise daha düşük olduğu görülmüştür.

FD hastaları arasında en yaygın semptomlardan biri olan anksiyete, klinikte yüksek (>%30) bir insidansa sahiptir (Jing ve Zhang, 2014). Semptomların algılanmasını artırabileceğinden dolayı bu tür rahatsızlıkları tespit ve tedavi etmek önemlidir. Çeşitli çalışmalar, anksiyetenin HPA eksenini, otonom sinir sistemi ve endojen ağrının modülasyonu aracılığıyla mide duyarlılığı, gastrointestinal motilite, mide boşalımı ve GİS'in nöroendokrin yanıtını etkileyebileceğini öne sürmektedir (Mayer, 2000; Jing ve ark., 2017). Ne yazık ki, anksiyete FD'yi tetikleyen veya şiddetlendiren önemli bir faktör olarak tanımlanmış olsa da, FD'nin etyopatogenezindeki rolü bilinmemektedir. Deneysel kemirgen FD modeli hayvanlarda da görülen anksiyete durumu (Jing ve ark., 2017; Cordner ve ark., 2021), çalışmamızda literatürde sıklıkla kullanılan EPM ve açık alan testleri ile değerlendirilmiştir (Carola ve ark., 2002; Otsuka ve ark., 2015). EPM testinde, FD modeli uygulanmış hayvanların açık kola giriş sayıları ve burada geçirdikleri süreler kontrol grubuna göre az bulunmuştur. Buna paralel olarak, FD modeli uygulanmış hayvanlar kapalı kolda daha fazla süre geçirirken, muhtemelen kontrol hayvanlarının keşfetme içgüdüleri sebebiyle kapalı kola giriş sayıları açısından gruplar arası bir fark tespit edilememiştir. Açık alan testinde, FD grubu hayvanlar test alanının iç kadranda daha az, dış kadranda daha çok süre geçirmişlerdir. Ayrıca, test süresince FD grubuna ait hayvanların fekal çıkışları kontrol grubuna göre daha fazla olmuştur. Tüm bu sonuçlar, çalışmamızda oluşturduğumuz FD modeli hayvanlarının literatüre paralel olarak anksiyete benzeri davranışlar sergilediğini göstermektedir.

FD'de en sık görülen motor bozukluk mide boşalımının yavaşlaması olarak karşımıza çıkmaktadır. Kemirgenlerde yaygın olarak uygulanan akut HKS, mide boşalımını

yavaşlatırken, söz konusu mekanizmadan santral CRF2 reseptörleri ve sempatik sinir sistemi rol aldığı bilinmektedir (Lenz ve ark., 1988; Monnikes ve ark., 1992; Babygirija ve ark., 2010). Ayrıca çalışmamızda uyguladığımız erken dönem neonatal MS, FD ve IBS gibi FGID'lar için bir risk faktörü olduğu bilinmekte olup, santral sinir sistemi ve beyin-bağırsak eksenini nörobiyolojisinde kalıcı değişikliklere neden olarak visseral duyarlılık artışı ve gastrointestinal motor disfonksiyon oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Gareau ve ark., 2006; O'Malley ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda, FD hastalarının yaklaşık %20-50'sinde mide boşalım bozukluğu tanımlanmıştır (Sarnelli ve ark., 2003; Kindt ve Tack, 2006). Yavaşlayan mide boşalımından antral hipomotilite sorumlu tutulmakla birlikte bozulmuş GAR, distansiyona karşı gastrik hipersensitivite ve H.pylori enfeksiyonu gecikmeden sorumlu diğer potansiyel FD anormallikleridir (Talley ve ark., 2006). Çalışmamızda, FD grubundaki hayvanlarda ortaya çıkması beklenen dispeptik semptomlar katı mide boşalımı ölçümü ile değerlendirilmiştir. Kemirgenlerde katı mide boşalımı dahil olmak üzere çeşitli ölçümlerde deneysel FD'ye bağlı mide boşalımının yavaşladığı tespit edilmiştir (Jing ve ark., 2017; Ji ve ark., 2019; Tang ve ark., 2020). Literatürle uyumlu olarak, oluşturduğumuz FD modeli hayvanların mide boşalım değerleri kontrole kıyasla düşük bulunmuştur.

Yavaşlayan mide boşalımının yanı sıra, FD'de görülen önemli üst gastrointestinal motor semptomlar arasında bozulan reseptif/adaptif gevşeme yanıtları yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda, FD hastalarının yaklaşık %40'ında bir adaptif gevşeme bozukluğu tanımlanmıştır (Sarnelli ve ark., 2003; Kindt ve Tack, 2006). Klinik bulgulara paralel olarak deneysel kemirgen FD modeli hayvanlarda da gastrik distansiyona yanıt olarak adaptif gevşeme yanıtlarının bozulduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2008; Asano ve ark., 2016; Zou ve ark., 2020). Öte yandan, literatürde FD hayvan modellerinde reseptif gevşeme yanıtlarını irdeleyen çalışma bulunmamaktadır. İlk kez, bu çalışmamız FD'ye bağlı bozulan reseptif gevşeme yanıtlarını ortaya koymuştur. Reseptif gevşeme veya ÖGG yanıtı, besin yutulduktan sonra özofagusun gerilmesiyle gastrik tonusun hızlı bir şekilde düşmesine yol açan vagovagal reflektir. Mide rezervuar fonksiyonunu kontrol eden diğer bir vagovagal refleks olan GAR, besin maddelerinin mide ve duodenuma gelmesiyle başlayan, midenin proksimal kısmının gevşemesine (gastrik tonusun azalmasına) neden olan ve basınç artışı olmadan besin için depolama kapasitesi sağlayan bir reflektir (Tack,

2006). ÖGG'nin amacı mideyi besin almaya hazırlamak iken, GAR'ın amacı ise mide içi basınçta ihmal edilebilir artışlarla midenin büyük miktarlarda besin kabul etmesini sağlamaktır (Desai ve ark., 1991). Çalışmamızda mide rezervuar fonksiyonunu kontrol eden vagovagal refleks yanıtlarını değerlendirmek amacıyla özofagiyal ve gastrik distansiyon oluşturulmuş olup, distansiyona bağlı gelişen gastrik tonus düşüşleri değerlendirilmiştir. FD grubu hayvanlarda refleks yanıtlarının bozulduğu tespit edilirken, intravenöz apelin reseptör antagonisti F13A uygulaması, FD'ye bağlı bozulan refleks yanıtlarını önemli ölçüde iyileştirmiştir. Bu sonuçlar, apelinin FD patogenezinin katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir. Apelinin vagovagal refleks yanıtındaki fizyolojik rolünün daha net olarak ortaya konabilmesi için (I) periferik dokulardaki apelin kaynağı ve FD'ye bağlı değişimi (II) apelin antagonistine yanıt olarak aktive/inhibe olan vagal postganglionik yolların aydınlatılması gerekmektedir.

2014 yılında yapılan bir çalışmada apelin konsantrasyonunun gastroözofageal kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Diakowska ve ark., 2014). Ayrıca, kolon tümörü olan bir hastada apelin ekspresyonu, tümöre komşu dokudaki miktarına kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Liu ve ark., 2015). Bu sonuçlar, apelinin gastrointestinal hastalıkların patogenezinin katkıda bulunabileceğini destekleyen diğer bulgulardır. Öte yandan, literatürde FD hastalarında veya FD hayvan modellerinde apelinin afferent vagal sinyalizasyon ile ilişkisini irdeleyen çalışma bulunmamaktadır. İlk kez, bu çalışmamız FD'ye bağlı gelişen afferent vagal disfonksiyonda apelinin rolünü ortaya koymuştur.

Strese maruz kalınmasının FD'nin klinik bulgularının oluşumunu hızlandırdığı ve mevcut bulguların alevlenmesine neden olduğu bilinmektedir. Yapılan Western Blot, Real-time PCR ve immünohistokimyasal çalışmalarda stres ile birlikte apelin üretiminin mide ve duodenum dokularında arttığı tespit edilmiştir (Izgut-Uysal ve ark., 2014; Bulbul ve ark., 2019). Ekzojen apelinin gastroinhibitör etkileri, stres koşullarında artan apelin üretiminin önlenmesinin strese ortaya çıkan gastrointestinal motor bozuklukların düzeltilmesine katkı sağlayacağını düşündürmüştür. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, HKS'ye bağlı yavaşlayan mide boşalımı ve intestinal transitin, apelin reseptör antagonisti F13A (100 µg, ip) ön uygulaması ile kısmi olarak ortadan kalktığı görülmüştür (Bulbul ve ark., 2019).

Bu sonuçlar, stres aracılı gelişen gastrointestinal motor bozukluklara apelinin periferik mekanizmalar ile kısmi katkıda bulunduğuna işaret etmektedir. FD'ye bağılı bozulan vagovagal refleks yanıtlarının APJ antagonisti F13A ile düzelme göstermesi, literatürde periferik apelinin gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine tespit edilmiş olan inhibitör etkisi ile uyumlu gözükmektedir (Bulbul ve ark., 2017; Bulbul ve ark., 2019).

Gastrointestinal vagal afferentler, besin alımının ve gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Laskiewicz ve ark., 2003). Hücre gövdeleri nodoz gangliyonda bulunan bu duysal sinirler, GİS'teki çeşitli uyarıları algılayarak beslenme davranışını ve gastrointestinal fonksiyonları düzenlemek için MSS'ye sinyaller gönderir. Üst gastrointestinal sistemi innerve eden vagal yol, mukozal darbeye cevap veren mukozal reseptörler ve distansiyona cevap veren gerim reseptörleri olarak adlandırılan iki farklı tür mekanoreseptif sona sahiptir (de Graaf ve ark., 2004; Travagli ve ark., 2006). Mukozal tabaka içinde bulunan mukozal reseptörler, besin parçacıklarının mekanik teması ile aktive olmaktadır. Alıcı alandan geçen besinlerin hafif vuruşlarını algıladıklarından, mekanosensitif mukozal reseptörlerin gastrik visseral hipersensitivite mekanizmalarının bir parçası oldukları düşünülmektedir. Mekanosensitif mukozal reseptörlerin rolleri net olmamakla birlikte, bu reseptörlerin mide içindeki besinlerin partikül büyüklüğünü tanıyabilecekleri ve besinlerin yeterince çalkalandığından emin olmak için mide boşalmasını önledikleri öne sürülmektedir. Gerim duyarlı reseptörler ise mide kas katmanları içinde yer alırken, üst gastrointestinal duvarın gerginliğini algırlar ve tokluk ve/veya mide fonksiyonunun kontrolündeki refleksi tetiklemek için MSS'ye sinyaller gönderirler (de Graaf ve ark., 2004; Travagli ve ark., 2006). Son yıllarda TRPV1 ve TRPA1 ile ilgili yapılan çalışmalar bu kanalların gastrointestinal sistemin mekanosensasyonuna katkıda bulunan en önemli kanallar olduğuna dikkat çekmektedir (Brierley, 2010). TRPA1 mukozal reseptör fonksiyonuna katkıda bulunurken (Brierley ve ark., 2009), TRPV1, özofagus ve mideyi innerve eden gerime duyarlı mekanoreseptörlerin mekanosensör işlevine katkıda bulunmaktadır (Bielefeldt ve Davis, 2008).

Literatürde apelinin vagal afferent sinyalizasyonun modülasyonu hakkında bilinenler kısıtlıdır. 2018 yılında yapılan bir çalışmada APJ reseptör mRNA'sı mide mukozasında ve nodoz gangliyonda tespit edilmiş ve apelin-13'ün farelerde gerime bağılı vagal afferent

duyarlılığı inhibe ettiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2018). Çalışmamızda FD'ye bağlı bozulan vagovagal refleks yanıtlarının apelin reseptör antagonisti F13A ile düzelme göstermesi, apelinin vagal afferent sinyalizasyon üzerine olan inhibitor etkileri ile uyumlu gözükmektedir. Öte yandan, literatürde nodoz gangliyon hücrelerinde APJ'nin varlığı gösterilmiş (Li ve ark., 2018) olmasına karşın buradaki TRPA1 ve TRPV1 üreten hücrelerde bu reseptörün eksprese olup olmadığı bilinmemektedir. Bu konuyu aydınlatmak üzere yaptığımız histolojik çalışmada nodoz gangliyonda TRPA1 ve TRPV1 üreten nöronlar üzerinde APJ'nin üretildiğine dair kanıtları çift etiketleme immünofloresan yöntemi ile elde ettik. Bunun yanı sıra APJ'nin, gastrik ve özofagiya myenterik nöronlarda vagal afferent sinir sonlanmalarında birlikte eksprese olduğu ve FD'ye bağlı gastrik APJ üretimini artırdığı tespit edilmiştir. APJ'nin, (I) vagal afferent sinir sonlanmalarında ko-eksprese olması, (II) gastrik myenterik nöronlarda ve nodoz gangliyon hücrelerinde FD'ye bağlı artışı ve son olarak, (III) gastrointestinal sistemin mekanosensasyonunda rolleri bilinen TRPV1 ve TRPA1 ile birlikte üretilmesi apelinin bu kanallar aracılığıyla afferent vagal sinyalizasyona etki edebileceğini düşündürmüştür. Apelinin vagal sinyalizasyondaki fizyolojik rolünün daha net ortaya konabilmesi için kalsiyum görüntüleme tekniği kullanılarak floresan ışımaya veren özofagus ve mide etiketli nodoz gangliyon hücrelerinde, APJ, TRPV1 ve TRPA1 antagonistlerine cevaben değişen hücre içi serbest kalsiyum düzeylerinin saptanması gerekmektedir.

Bağırsak duvarındaki vagal ve spinal duyu sinir terminallerinde eksprese olduğu bilinen TRPV1; düşük pH, yüksek sıcaklık ve ağrılı uyarılarla aktive edilir (Samanta ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada, TRPV1'in gastrik vagal afferent sinyalizasyon üzerine fonksiyonel rolünü gösterilmiş, araştırmacılar TRPV1 yoksun farelerin yabanıl tip farelere kıyasla daha fazla besin tükettiğini, besin tüketimindeki bu artışın gastrik vagal gerim reseptörlerinin etkinliğini yitirmesiyle ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (Kentish ve ark., 2015). Yüksek yağlı diyet, yabanıl tipte gerim reseptörlerinin tepkisini zayıflatırken, TRPV1 yoksun farelerde bu sonuçlar görülmemiştir. Bu veriler, TRPV1'in gastrik vagal mekanosensitiviteye aracılık etmede ve yüksek yağlı diyetle indüklenen obeziteye katkıda bulunmada potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Kentish ve ark., 2015). Literatürdeki bulgular, TRPV1'in FGID gelişimine katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir. Akbar ve arkadaşlarının (Akbar ve ark., 2008) yaptıkları çalışmada, IBS'li

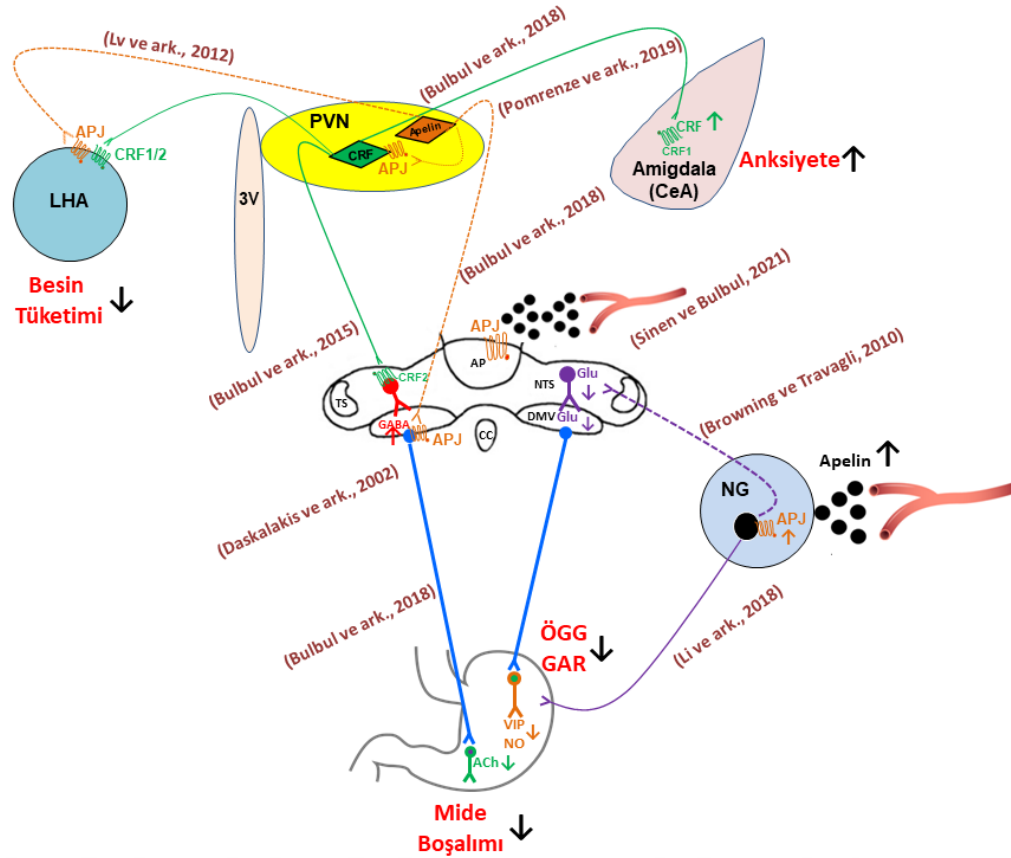
hastaların rektosigmoid kolonunda TRPV1 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. FD hastaları, bir TRPV1 agonisti olan kapsaisine karşı daha yüksek bir duyarlılığa sahiptir (Hammer ve ark., 2008). Öte yandan 2016 yılında yapılan bir çalışmada FD hastalarının duodenal biyopsi örneklerinde, TRPV1'i kodlayan nosiseptörle ilişkili genlerin aşırı artışı saptanmıştır (Choi ve ark., 2016). Ek olarak, özofagusta TRPV1 eksprese eden vagal afferentlerin, gastroözofageal reflü ile uyarılan öksürük oluşumuna katkıda bulunabileceği görülmektedir (Kollarik ve Brozmanova, 2009). Bu bozuklukların yanı sıra erozif olmayan reflü hastalığı (Bhat ve Bielefeldt, 2006), idiyopatik rektal hipersensitivite ve fekal inkontinans (Chan ve ark., 2003) durumlarında da TRPV1'nin ekspresyonu artmaktadır. FD hayvanlarının nodoz gangliyonundan elde ettiğimiz TRPV1-pozitif hücre sayısındaki artış, FD grubundaki distansiyon ile indüklenen refleks yanıtındaki azalma ile uyumlu gözükmektedir.

TRPA1 ekspresyonu, mide ve özofagus etiketli DRG ve nodoz nöronlarda ve mide duvarındaki afferent sinir terminallerinde RT-PCR ve immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (Kondo ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2010; Brozmanova ve ark., 2011). TRPA1 anti-sens oligodeoksinükleotidi ve TRPA1 inhibitörü HC030031'in intratekal enjeksiyonları, DRG nöronlarında gastrik distansiyonla indüklenen ERK1/2 ekspresyonunu inhibe ederken, visseral motor yanıtları da zayıflatmıştır (Kondo ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2010). Bu sonuçlar, TRPA1'in gastrik duysal transdüksiyona katıldığını, ancak FD gibi motor bozukluklardaki rolünün daha fazla açıklığa kavuşturulması gerektiğini göstermektedir. Çalışmamızda FD'ye bağlı nodoz gangliyon hücrelerinde görülen TRPV1 pozitif hücre artışının aksine, TRPA1 pozitif hücre sayısı açısından bir farklılık tespit edilememiştir. Üst gastrointestinal fonksiyonların kontrolündeki reflekslerin aktivasyonu daha çok gerime duyarlı reseptörler aracılığıyla olmaktadır (de Graaf ve ark., 2004; Travagli ve ark., 2006). TRPA1'in mukozal reseptör fonksiyonuna; (Brierley ve ark., 2009), TRPV1'in ise gerime duyarlı mekanoreseptörlerin işlevine katkıda bulunduğu (Bielefeldt ve Davis, 2008) göz önüne alındığında farklılığın bu durumdan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Tek hücreli RT-PCR sonuçlarına göre, özofagus etiketli DRG nöronlarının yaklaşık %70-95'inin TRPV1 pozitif olduğu (Surdenikova ve ark., 2012), mide etiketli nöronlarda

yapılan bir başka çalışmada ise, yaklaşık %80 nodoz ve %71 DRG nöronlarının TRPV1'e karşı immünoreaktif olduğu gösterilmiştir (Horie ve ark., 2005). Literatürle uyumlu olarak, çalışmamızda sırasıyla özofagus ve mideyi innerve eden nodoz gangliyon hücrelerinde %81 ve %85 oranında TRPV1 pozitif hücre sayısı tespit edilmiş olup, FD'ye bağlı anlamlı bir değişim saptanamamıştır. Güncel literatürde özofagus ve mide etiketli nodoz gangliyon hücrelerindeki TRPA1 pozitif hücre yüzdesi yaklaşık %95 ve %82 oranlarındadır (Zhao ve ark., 2010; Brozmanova ve ark., 2011). Çalışmamızda elde ettiğimiz özofagus ve mide etiketli TRPA1 pozitif hücre yüzdesi ise sırasıyla %84 ve %79 olmuştur.

FD, başlıca yemek sonrası şişkinlik, erken doyma, epigastrik ağrı ve yanma ile kendini gösteren yaygın bir FGID'dir. FD, mortalitenin neredeyse olmamasına rağmen, hastaların yaşam kalitesi ve sağlığı üzerine olumsuz etkiye sahiptir (El-Serag ve Talley, 2003). FD'nin patojenik mekanizmaları, yavaşlayan mide boşalması, bozulmuş gastrik akomodasyon, visseral hipersensitivite, duodenal inflamasyon ve psikososyal faktörleri içermektedir (Tack ve Lee, 2005). Stres, FD hastalarının büyük bölümünde semptomların başlamasına ve şiddetlenmesine katkıda bulunmaktadır (Deding ve ark., 2017; Nam ve ark., 2018). FD hastalarında MSS ve bağırsağın iki yönlü etkileşime girdiğini gösteren kanıtlar (Koloski ve ark., 2012; De Palma ve ark., 2014), klinik FD tedavisinde yeni stratejilerin geliştirebilmesi için beyin-bağırsak eksenindeki patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızdan elde edilen verilere dayanılarak apelin/APJ sisteminin FD patogenezindeki rolü ve etki mekanizmaları Şekil 5.1'de hipotetik olarak çizilmiştir.



Şekil 5.1. Fonksiyonel dispepsi patogenezinde apelin/APJ sisteminin rolü. ÖGG: özofago-gastrik gevşeme, GAR: gastrik akomodasyon, DMV: N.vagus'un dorsal motor çekirdeği, NTS: soliter trakt çekirdeği, CC: kanalis sentralis, AP: area postrema, TS: traktus solitarius, Glu: glutamat, NG: nodoz ganglion, ACh: asetilkolin, NO: nitrik oksit, VIP: vazoaaktif intestinal peptid, LHA: lateral hipotalamik alan, PVN: paraventriküler nükleus, 3V: üçüncü ventrikül, CRF: kortikotropin salgılatıcı faktör, CeA: santral amigdala.

Apelinin santral etkilerinin büyük bir bölümü, yoğun olarak üretildiği hipotalamik PVN tarafından düzenlenen homeostatik endokrin ve otonom yanıtlar üzerinedir. Apelin ve APJ reseptörünün hipotalamik PVN'de eksprese olması, akut ve kronik streste APJ mRNA ekspresyonunun artışı, apelinin stres yanıtında düzenleyici rolünü akla getirmektedir (Reaux ve ark., 2002; Reaux-Le Goazigo ve ark., 2007). Buna ilaveten, 2015 yılında sıçanlarda gerçekleştirilen bir çalışmada PVN'den toplanan mikrodializatlarda HKS'ye bağlı kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF) salınımindaki artışlara apelin seviyesindeki artışların eşlik ettiği gösterilmiştir (Bulbul ve ark., 2015). Beyinde CRF'nin etki bölgeleri CRF2 reseptörü eksprese eden nöronlar barındıran hipotalamik PVN ve DMV'dir (Bittencourt ve Sawchenko, 2000; Reaux ve ark., 2002; Reaux-Le Goazigo ve ark., 2007). Bu bölgeler ile mide motilitesinin düzenlendiği otonomik sinir cevabı regüle edilir. Öte yandan, CRF amigdalada yer alan ikinci tip

reseptörleri aracılığıyla da anksiyete oluşumuna; lateral hipotalamik alanda yer alan her iki reseptörü aracılığıyla da besin alımının regülasyonuna katkı sağlamaktadır (Lv ve ark., 2012; Pomrenze ve ark., 2019). Lv ve arkadaşları (Lv ve ark., 2012) santral apelin-13 enjeksiyonunun besin alımını CRF aracılı bir mekanizma ile inhibe ettiğini göstermişlerdir. FD grubu hayvanlarda görülen yem tüketimindeki azalmaya apelin, CRF aracılı bir mekanizma ile katkıda bulunabilir.

APJ'nin DMV'deki kolinerjik ve mideyi innerve eden vagal efferent hücrelerdeki varlığı (Bulbul ve ark., 2018) apelin nöropeptidinin mide motor fonksiyonlar üzerine düzenleyici rolü olabileceğini düşündürmüştür. Elde edilen histolojik veriler doğrultusunda yapılan çalışmada, DMV'ye apelin-13 mikroenjeksiyonu doza bağlı şekilde gastroinhibitör etki göstermiştir. Santral apelinin gastroinhibitör etkisinin mide motor fonksiyonlarını kontrol eden vagal nöral devredeki tonik olarak aktif olan kolinerjik yolun etkinliğini yitirmesiyle ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Bulbul ve ark., 2018). Çalışmamızda uyguladığımız FD modelinde hipotalamik apelin ve CRF seviyeleri artış göstererek gastroinhibitör etkilere aracılık edebilirler.

Ekibimiz tarafından yapılan çalışmada, dolaşımdaki apelinin, sirkümventriküler organlar aracılığıyla gastrointestinal motor fonksiyonları düzenleyebileceği gösterilmiştir (Sinen ve Bulbul, 2021). Periferal apelin uygulamasına bağlı beyin-omurilik sıvısı ve plazma apelin konsantrasyonunun artışı ve sirkümventriküler organlarda c-Fos pozitif hücrelerin aktivasyonu, apelinin kan-beyin bariyerini geçerek sirkümventriküler yapıların aktivasyonunu sağladığını göstermektedir. Ayrıca periferal apelin uygulamasına bağlı yavaşlayan katı mide boşalımı sempatektomi veya parasempatektomi ile kısmi zayıflama gösterirken, en dramatik restoratif etki her iki yaklaşımın kombinasyonu ile gözlenmiştir (Sinen ve Bulbul, 2021). Bu veriler, dolaşımdaki apelinin, ventriküler nörotransmisyon aracılığıyla gastrointestinal sistemin otonomik kontrolünü modüle edebileceğini göstermektedir.

Bazal koşullar altında NTS nöronları DMV'de mideyi innerve eden preotonomik kolinerjik nöronal hücreler üzerinde GABA–aracılı tonik inhibitör innervasyona sahiptir. Buna karşın, glutamat aracılı fazik sinyaller ise beslenme sırasında ve post-prandiyal fazda mide motor fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alır. Ayrıca, sindirim sisteminden

köken alan duysal girdileri ileten nodoz ganglion hücreleri de NTS'yi glutamat aracılığı ile uyarır (Browning ve ark., 2006; Travagli ve ark., 2006; Browning ve Travagli, 2014; Travagli ve Anselmi, 2016). Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda santral apelinin beyindeki glutamat sinyalizasyonunu zayıflattığına dair bulgular elde edilmiştir (O'Donnell ve ark., 2007; Cook ve ark., 2011). APJ ile birlikte hipokampal nöronlarda eksprese olan endojen apelin peptidinin bu hücreler üzerinde NMDA reseptörü-aracılı sinyalizasyonu zayıflatarak nöro-protektif etki gösterdiği saptanmıştır (O'Donnell ve ark., 2007). Öte yandan, NMDA reseptörü-aracılı glutamat sinyalizasyonunu NMDA reseptörünün aktivitesini bu reseptörün NR2B alt ünitesinde bulunan serine-1480'nin fosforilasyonu sonucu baskıladığı gösterilmiştir (Cook ve ark., 2011). Benzer şekilde, farelerde glutamatın NMDA-reseptörü aracılı retinal gangliyon hücreleri üzerindeki eksitotoksitesinin ekzojen ve endojen apelin ile APJ aracılığıyla baskılandığı gösterilmiştir (Ishimaru ve ark., 2017). Sonuç olarak, FD'de artan endojen apelinin, APJ aracılığıyla NTS'deki ekstra-sinaptik ve DVC devresindeki glutamat salınımını azaltarak post-prandiyal vagal afferent sinyalizasyonu bozması muhtemel gözükmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler periferal endojen apelinin FD aracılı gelişen afferent vagal disfonksiyonda rolü olabileceğini göstermektedir. Projemizden elde edilen veriler ışığında, FD tedavisinde endojen apelin antagonizmasının yeni bir tedavi hedefi olabileceği görülmektedir. Ayrıca, apelin ile ilgili nörofarmakolojik ve moleküler tekniklerin kullanıldığı daha ayrıntılı çalışmalar, FD'ye bağlı gelişen beyin-bağırsak eksenini bozuklukları ve bunlara aracılık eden yolların tam olarak aydınlatılabilmesine olanak sağlayacaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Çalışmamızda kullanılan deneysel FD modeli; hayvanlarda görülen kilo kaybı, besin alımında azalma, mide boşalımalarında gecikme ve anksiyete benzeri davranışlarla doğrulanmıştır.
2. Midenin rezervuar fonksiyonlarını kontrol eden vagovagal reflekslerin yanıtı FD grubu hayvanlarda bozulma göstermiş, periferel apelin reseptör antagonisti F13A ön uygulaması yanıtın bozulmasını engellemiştir.
3. Noduz gangliyon hücrelerinde apelin reseptörü APJ'nin TRPV1 ve TRPA1 kanallarıyla birlikte üretildiği immünohistokimyasal yöntem ile tespit edilmiştir.
4. FD'ye bağlı hem mide ve özofagus etiketli noduz gangliyon hücrelerinde hem de mideyi innerve eden vagal afferent sinir sonlanmalarında APJ ekspresyonu artmıştır.
5. FD'ye bağlı mide ve özofagus etiketli noduz gangliyon hücrelerinde TRPV1 üretimi artarken, TRPA1 ekspresyonu açısından bir farklılık tespit edilememiştir.
6. Bu çalışma, FD'de bozulmuş vagovagal refleks yanıtının patogenezi ve terapötik hedefi için yeni ipuçları sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Aziz, H., Wadie, W., Zaki, H. F., Muller, J., Kelber, O., Efferth, T., & Khayyal, M. T. Novel sequential stress model for functional dyspepsia: Efficacy of the herbal preparation stw5. *Phytomedicine*. 2015; 22 (5): 588-595.
- Aguilera, G., Rabadan-Diehl, C., & Nikodemova, M. Regulation of pituitary corticotropin releasing hormone receptors. *Peptides*. 2001; 22 (5): 769-774.
- Akamizu, T., Iwakura, H., Ariyasu, H., Hosoda, H., Murayama, T., Yokode, M., . . . Team, F. D. C. S. Repeated administration of ghrelin to patients with functional dyspepsia: Its effects on food intake and appetite. *Eur J Endocrinol*. 2008; 158 (4): 491-498.
- Akbar, A., Yiangou, Y., Facer, P., Walters, J. R. F., Anand, P., & Ghosh, S. Increased capsaicin receptor trpv1-expressing sensory fibres in irritable bowel syndrome and their correlation with abdominal pain. *Gut*. 2008; 57 (7): 923-929.
- Anand, U., Otto, W. R., Facer, P., Zebda, N., Selmer, I., Gunthorpe, M. J., . . . Anand, P. Trpa1 receptor localisation in the human peripheral nervous system and functional studies in cultured human and rat sensory neurons. *Neurosci Lett* 2008; 438 (2): 221-227.
- Asano, T., Aida, S., Suemasu, S., & Mizushima, T. Anethole restores delayed gastric emptying and impaired gastric accommodation in rodents. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 472 (1): 125-130.
- Babygirija, R., Zheng, J., Bulbul, M., Cerjak, D., Ludwig, K., & Takahashi, T. Sustained delayed gastric emptying during repeated restraint stress in oxytocin knockout mice. *J Neuroendocrinol*. 2010; 22 (11): 1181-1186.
- Barrett, K. E. *Gastrointestinal physiology* (2nd Edition ed.); McGraw Hill Professional 2006, p:
- Bartho, L., Benko, R., Holzer-Petsche, U., Holzer, P., Undi, S., & Wolf, M. Role of extrinsic afferent neurons in gastrointestinal motility. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2008; 12 Suppl 1: 21-31.

- Bautista, D. M., Jordt, S. E., Nikai, T., Tsuruda, P. R., Read, A. J., Poblete, J., . . . Julius, D. Trpa1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell*. 2006; 124 (6): 1269-1282.
- Berthoud, H. R., Patterson, L. M., Willing, A. E., Mueller, K., & Neuhuber, W. L. Capsaicin-resistant vagal afferent fibers in the rat gastrointestinal tract: Anatomical identification and functional integrity. *Brain Res*. 1997; 746 (1-2): 195-206.
- Bhat, Y. M., & Bielefeldt, K. Capsaicin receptor (trpv1) and non-erosive reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 18 (3): 263-270.
- Bhatia, V., & Tandon, R. K. Stress and the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 20 (3): 332-339.
- Bielefeldt, K., & Davis, B. M. Differential effects of asic3 and trpv1 deletion on gastroesophageal sensation in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294 (1): G130-138.
- Birsen, I., Gemici, B., Acar, N., Ustunel, I., & Izgut-Uysal, V. N. The role of apelin in the healing of water-immersion and restraint stress-induced gastric damage. *Journal Physiological Sci*. 2017; 67 (3): 373-385.
- Birsen, I., Izgut-Uysal, V. N., Soylu, H., & Ustunel, I. The effect of apelin-13 on gastric ischemia/reperfusion injury: The roles of sensory nerves and vagus nerve. *Can J Physiol Pharmacol*. 2020; 98 (5): 282-295.
- Bittencourt, J. C., & Sawchenko, P. E. Do centrally administered neuropeptides access cognate receptors?: An analysis in the central corticotropin-releasing factor system. *J. Neurosci*. 2000; 20 (3): 1142-1156.
- Black, C. J., Drossman, D. A., Talley, N. J., Ruddy, J., & Ford, A. C. Functional gastrointestinal disorders: Advances in understanding and management. *Lancet*. 2020; 396 (10263): 1664-1674.
- Blackshaw, L. A., Brierley, S. M., & Hughes, P. A. Trp channels: New targets for visceral pain. *Gut*. 2010; 59 (1): 126-135.
- Blackshaw, L. A., Brookes, S. J., Grundy, D., & Schemann, M. Sensory transmission in the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol. Motil*. 2007; 19 (1 Suppl): 1-19.

- Bortolotti, M., Coccia, G., Grossi, G., & Miglioli, M. The treatment of functional dyspepsia with red pepper. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; 16 (6): 1075-1082.
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigne, C., Mazzucotelli, A., Valet, P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology.* 2005; 146 (4): 1764-1771.
- Bouin, M., Lupien, F., Riberdy-Postras, M., & Postras, P. Tolerance to gastric distension in patients with functional dyspepsia: Modulation by a cholinergic and nitregeric method. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 18 (1): 63-68.
- Bouin, M., Lupien, F., Riberdy, M., Boivin, M., Plourde, V., & Postras, P. Intolerance to visceral distension in functional dyspepsia or irritable bowel syndrome: An organ specific defect or a pan intestinal dysregulation? *Neurogastroent Motil.* 2004; 16 (3): 311-314.
- Brierley, S. M. Molecular basis of mechanosensitivity. *Auton Neurosci.* 2010; 153 (1-2): 58-68.
- Brierley, S. M., Carter, R., Jones, W., 3rd, Xu, L., Robinson, D. R., Hicks, G. A., . . . Blackshaw, L. A. Differential chemosensory function and receptor expression of splanchnic and pelvic colonic afferents in mice. *J Physiol.* 2005; 567 (Pt 1): 267-281.
- Brierley, S. M., Hughes, P. A., Page, A. J., Kwan, K. Y., Martin, C. M., O'Donnell, T. A., . . . Blackshaw, L. A. The ion channel *trpa1* is required for normal mechanosensation and is modulated by algescic stimuli. *Gastroenterology.* 2009; 137 (6): 2084-2095 e2083.
- Browning, K. N., & Travagli, R. A. Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Compr Physiol.* 2014; 4 (4): 1339-1368.
- Browning, K. N., Zheng, Z., Gettys, T. W., & Travagli, R. A. Vagal afferent control of opioidergic effects in rat brainstem circuits. *J Physiol.* 2006; 575 (Pt 3): 761-776.
- Brozmanova, M., Ru, F., Surdenikova, L., Mazurova, L., Taylor-Clark, T., & Kollarik, M. Preferential activation of the vagal nodose nociceptive subtype by *trpa1* agonists in the guinea pig esophagus. *Neurogastroenterol. Motil.* 2011; 23 (10): e437-445.

- Bulbul, M., Izgut-Uysal, V. N., Sinen, O., Birsen, I., & Tanriover, G. Central apelin mediates stress-induced gastrointestinal motor dysfunction in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2015; *ajpgi* 00145 02015.
- Bulbul, M., & Sinen, O. Dual autonomic inhibitory action of central apelin on gastric motor functions in rats. *Auton Neurosci.* 2018; *212*: 17-22.
- Bulbul, M., Sinen, O., Bayramoglu, O., & Akkoyunlu, G. Acute restraint stress induces cholecystokinin release via enteric apelin. *Neuropeptides.* 2019; *73*: 71-77.
- Bulbul, M., Sinen, O., Birsen, I., & Izgut-Uysal, V. Peripheral apelin-13 administration inhibits gastrointestinal motor functions in rats: The role of cholecystokinin through cck1 receptor-mediated pathway. *Neuropeptides.* 2017; *63*: 91-97.
- Bulbul, M., Sinen, O., Gok, M., & Travagli, R. A. Apelin-13 inhibits gastric motility through vagal cholinergic pathway in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2018; *314* (2): G201-G210.
- Bulbul, M., Sinen, O., Izgut-Uysal, V. N., Akkoyunlu, G., Ozturk, S., & Uysal, F. Peripheral apelin mediates stress-induced alterations in gastrointestinal motor functions depending on the nutritional status. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2019; *46* (1): 29-39.
- Camilleri, M., & Stanghellini, V. Current management strategies and emerging treatments for functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; *10* (3): 187-194.
- Canpolat, S., Ozcan, M., Saral, S., Kalkan, O. F., & Ayar, A. Effects of apelin-13 in mice model of experimental pain and peripheral nociceptive signaling in rat sensory neurons. *J Recept Signal Transduct Res.* 2016; *36* (3): 243-247.
- Carbone, F., & Tack, J. Gastroduodenal mechanisms underlying functional gastric disorders. *Dig Dis.* 2014; *32* (3): 222-229.
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav Brain Res.* 2002; *134* (1-2): 49-57.
- Chan, C. L., Facer, P., Davis, J. B., Smith, G. D., Egerton, J., Bountra, C., . . . Anand, P. Sensory fibres expressing capsaicin receptor trpv1 in patients with rectal hypersensitivity and faecal urgency. *Lancet.* 2003; *361* (9355): 385-391.

- Chandra, R., & Liddle, R. A. Cholecystokinin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007; 14 (1): 63-67.
- Chapman, N. A., Dupre, D. J., & Rainey, J. K. The apelin receptor: Physiology, pathology, cell signalling, and ligand modulation of a peptide-activated class a gpcr. *Biochem Cell Biol.* 2014; 92 (6): 431-440.
- Charmandari, E., Tsigos, C., & Chrousos, G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol.* 2005; 67: 259-284.
- Chen, X., Luo, Q., Yan, X., Li, W., & Chen, S. Vagal transient receptor potential ankyrin 1 mediates stress-exacerbated visceral mechanonociception after antral cold exposure. *J Neurogastroenterol Motil.* 2019; 25 (3): 442-460.
- Cheng, L., de la Monte, S., Ma, J., Hong, J., Tong, M., Cao, W., . . . Harnett, K. M. Hcl-activated neural and epithelial vanilloid receptors (trpv1) in cat esophageal mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009; 297 (1): G135-143.
- Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., & Reversade, B. Elabela: A hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Dev Cell.* 2013; 27 (6): 672-680.
- Choi, Y. J., Kim, N., Kim, J., Lee, D. H., Park, J. H., & Jung, H. C. Upregulation of vanilloid receptor-1 in functional dyspepsia with or without helicobacter pylori infection. *Medicine.* 2016; 95 (19).
- Christianson, J. A., McIlwrath, S. L., Koerber, H. R., & Davis, B. M. Transient receptor potential vanilloid 1-immunopositive neurons in the mouse are more prevalent within colon afferents compared to skin and muscle afferents. *Neuroscience.* 2006; 140 (1): 247-257.
- Chu, B., Marwaha, K., Sanvictores, T., & Ayers, D. (2021). Physiology, stress reaction. In *Statpearls*. Treasure Island (FL).
- Cook, D. R., Gleichman, A. J., Cross, S. A., Doshi, S., Ho, W., Jordan-Sciutto, K. L., . . . Kolson, D. L. Nmda receptor modulation by the neuropeptide apelin: Implications for excitotoxic injury. *J Neurochem.* 2011; 118 (6): 1113-1123.
- Cordner, Z. A., Li, Q., Liu, L., Tamashiro, K. L., Bhargava, A., Moran, T. H., & Pasricha, P. J. Vagal gut-brain signaling mediates amygdaloid plasticity, affect, and pain in a functional dyspepsia model. *JCI Insight.* 2021; 6 (6).

- Cozma-Petrut, A., Loghin, F., Miere, D., & Dumitrascu, D. L. Diet in irritable bowel syndrome: What to recommend, not what to forbid to patients! *World J Gastroenterol.* 2017; 23 (21): 3771-3783.
- Cseko, K., Pecs, D., Kajtar, B., Hegedus, I., Bollenbach, A., Tsikas, D., . . . Helyes, Z. Upregulation of the trpa1 ion channel in the gastric mucosa after iodoacetamide-induced gastritis in rats: A potential new therapeutic target. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (16).
- de Graaf, C., Blom, W. A., Smeets, P. A., Stafleu, A., & Hendriks, H. F. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79 (6): 946-961.
- De Palma, G., Collins, S. M., & Bercik, P. The microbiota-gut-brain axis in functional gastrointestinal disorders. *Gut Microbes.* 2014; 5 (3): 419-429.
- De Schepper, H. U., De Man, J. G., Ruysers, N. E., Deiteren, A., Van Nassauw, L., Timmermans, J. P., . . . De Winter, B. Y. Trpv1 receptor signaling mediates afferent nerve sensitization during colitis-induced motility disorders in rats. *Am J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2008; 294 (1): G245-253.
- Deding, U., Torp-Pedersen, C., & Boggild, H. Perceived stress as a risk factor for dyspepsia: A register-based cohort study. *Eur J Gastroen Hepat.* 2017; 29 (5): 560-567.
- Defrees, D. N., & Bailey, J. Irritable bowel syndrome: Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Prim Care.* 2017; 44 (4): 655-671.
- Deng, C., Chen, H., Yang, N., Feng, Y., & Hsueh, A. J. Apela regulates fluid homeostasis by binding to the apj receptor to activate gi signaling. *J Biol Chem.* 2015; 290 (30): 18261-18268.
- Desai, K. M., Sessa, W. C., & Vane, J. R. Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid. *Nature.* 1991; 351 (6326): 477-479.
- Di Stefano, M., Miceli, E., Tana, P., Mengoli, C., Bergonzi, M., Pagani, E., & Corazza, G. R. Fasting and postprandial gastric sensorimotor activity in functional dyspepsia: Postprandial distress vs. Epigastric pain syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2014; 109 (10): 1631-1639.

- Diakowska, D., Markocka-Maczka, K., Szelachowski, P., & Grabowski, K. Serum levels of resistin, adiponectin, and apelin in gastroesophageal cancer patients. *Dis Markers*. 2014; 2014: 619649.
- Dockray, G. J. The versatility of the vagus. *Physiol Behav*. 2009; 97 (5): 531-536.
- Doihara, H., Nozawa, K., Kawabata-Shoda, E., Kojima, R., Yokoyama, T., & Ito, H. Molecular cloning and characterization of dog trpa1 and airc stimulate the gastrointestinal motility through trpa1 in conscious dogs. *Eur J Pharmacol*. 2009; 617 (1-3): 124-129.
- Drossman, D. A. Presidential address: Gastrointestinal illness and the biopsychosocial model. *Psychosom Med*. 1998; 60 (3): 258-267.
- Drossman, D. A. Functional gastrointestinal disorders: History, pathophysiology, clinical features and rome iv. *Gastroenterology*. 2016.
- Drossman, D. A., & Hasler, W. L. Rome iv-functional gi disorders: Disorders of gut-brain interaction. *Gastroenterology*. 2016; 150 (6): 1257-1261.
- Duboc, H., Latrache, S., Nebunu, N., & Coffin, B. The role of diet in functional dyspepsia management. *Front Psychiatry*. 2020; 11: 23.
- El-Serag, H. B., & Talley, N. J. Health-related quality of life in functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 18 (4): 387-393.
- El Messari, S., Iturrioz, X., Fassot, C., De Mota, N., Roesch, D., & Llorens-Cortes, C. Functional dissociation of apelin receptor signaling and endocytosis: Implications for the effects of apelin on arterial blood pressure. *J Neurochem*. 2004; 90 (6): 1290-1301.
- Enck, P., Aziz, Q., Barbara, G., Farmer, A. D., Fukudo, S., Mayer, E. A., . . . Spiller, R. C. Irritable bowel syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2: 16014.
- Enck, P., Azpiroz, F., Boeckxstaens, G., Elsenbruch, S., Feinle-Bisset, C., Holtmann, G., . . . Talley, N. J. Functional dyspepsia. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17081.
- Engel, G. L. The need for a new medical model: A challenge for biomedicine. *Psychodyn Psychiatry*. 2012; 40 (3): 377-396.
- Fang, Y. J., Liou, J. M., Chen, C. C., Lee, J. Y., Hsu, Y. C., Chen, M. J., . . . Wu, M. S. Distinct aetiopathogenesis in subgroups of functional dyspepsia according to the rome iii criteria. *Gut*. 2015; 64 (10): 1517-1528.

- Farre, R., Vanheel, H., Vanuytsel, T., Masaoka, T., Tornblom, H., Simren, M., . . . Tack, J. F. In functional dyspepsia, hypersensitivity to postprandial distention correlates with meal-related symptom severity. *Gastroenterology*. 2013; 145 (3): 566-573.
- Ferreria, M., Jr., Sahibzada, N., Verbalis, J. G., & Gillis, R. A. Comments on: "Esophageal-gastric relaxation reflex in rat: Dual control of peripheral nitrenergic and cholinergic transmission". *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006; 291 (3): R854-855; author reply R855-856.
- Fleming, I., & Busse, R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003; 284 (1): R1-12.
- Flemstrom, G., Makela, K., Purhonen, A. K., Sjoblom, M., Jedstedt, G., Walkowiak, J., & Herzig, K. H. Apelin stimulation of duodenal bicarbonate secretion: Feeding-dependent and mediated via apelin-induced release of enteric cholecystokinin. *Acta Physiol*. 2011; 201 (1): 141-150.
- Ford, A. C., Lacy, B. E., & Talley, N. J. Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med*. 2017; 376 (26): 2566-2578.
- Ford, A. C., Mahadeva, S., Carbone, M. F., Lacy, B. E., & Talley, N. J. Functional dyspepsia. *Lancet*. 2020; 396 (10263): 1689-1702.
- Ford, A. C., Sperber, A. D., Corsetti, M., & Camilleri, M. Irritable bowel syndrome. *Lancet*. 2020; 396 (10263): 1675-1688.
- Fournel, A., Drougard, A., Duparc, T., Marlin, A., Brierley, S. M., Castro, J., . . . Knauf, C. Apelin targets gut contraction to control glucose metabolism via the brain. *Gut*. 2017; 66 (2): 258-269.
- Fuchs, E., & Flugge, G. Chronic social stress: Effects on limbic brain structures. *Physiol Behav*. 2003; 79 (3): 417-427.
- Gareau, M. G., Jury, J., Yang, P. C., MacQueen, G., & Perdue, M. H. Neonatal maternal separation causes colonic dysfunction in rat pups including impaired host resistance. *Pediatr Res*. 2006; 59 (1): 83-88.
- Giustino, T. F., Ramanathan, K. R., Totty, M. S., Miles, O. W., & Maren, S. Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. *J Neurosci*. 2020; 40 (4): 907-916.

- Green, T., & Dockray, G. J. Characterization of the peptidergic afferent innervation of the stomach in the rat, mouse and guinea-pig. *Neuroscience*. 1988; 25 (1): 181-193.
- Greydanus, M. P., Vassallo, M., Camilleri, M., Nelson, D. K., Hanson, R. B., & Thomforde, G. M. Neurohormonal factors in functional dyspepsia: Insights on pathophysiological mechanisms. *Gastroenterology*. 1991; 100 (5 Pt 1): 1311-1318.
- Grundmann, O., & Yoon, S. L. Complementary and alternative medicines in irritable bowel syndrome: An integrative view. *World J Gastroenterol*. 2014; 20 (2): 346-362.
- Grundy, D., Al-Chaer, E. D., Aziz, Q., Collins, S. M., Ke, M., Tache, Y., & Wood, J. D. Fundamentals of neurogastroenterology: Basic science. *Gastroenterology*. 2006; 130 (5): 1391-1411.
- Hammer, J., Fuhrer, M., Pipal, L., & Matiasek, J. Hypersensitivity for capsaicin in patients with functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil*. 2008; 20 (2): 125-133.
- Hammer, J., & Vogelsang, H. Characterization of sensations induced by capsaicin in the upper gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil*. 2007; 19 (4): 279-287.
- Han, S., Wang, G., Qi, X., Lee, H. M., Englander, E. W., & Greeley, G. H., Jr. A possible role for hypoxia-induced apelin expression in enteric cell proliferation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008; 294 (6): R1832-1839.
- Herman, J. P. Neural pathways of stress integration: Relevance to alcohol abuse. *Alcohol Res*. 2012; 34 (4): 441-447.
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. Central mechanisms of stress integration: Hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol*. 2003; 24 (3): 151-180.
- Hermann, G. E., Travagli, R. A., & Rogers, R. C. Esophageal-gastric relaxation reflex in rat: Dual control of peripheral nitrenergic and cholinergic transmission. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006; 290 (6): R1570-1576.
- Holstege, G. The emotional motor system and micturition control. *NeuroUrol Urodyn*. 2010; 29 (1): 42-48.
- Holstege, G., Bandler, R., & Saper, C. B. The emotional motor system. *Prog Brain Res*. 1996; 107: 3-6.

- Holtmann, G., Goebell, H., & Talley, J. Impaired small intestinal peristaltic reflexes and sensory thresholds are independent functional disturbances in patients with chronic unexplained dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 1996; 91 (3): 485-491.
- Holzer, P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: Involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience.* 1988; 24 (3): 739-768.
- Holzer, P. Neural injury, repair, and adaptation in the gi tract. II. The elusive action of capsaicin on the vagus nerve. *Am J Physiol.* 1998; 275 (1): G8-13.
- Holzer, P. Trpv1: A new target for treatment of visceral pain in ibs? *Gut.* 2008; 57 (7): 882-884.
- Holzer, P. Trp channels in the digestive system. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011; 12 (1): 24-34.
- Horie, S., Michael, G. J., & Priestley, J. V. Co-localization of trpv1-expressing nerve fibers with calcitonin-gene-related peptide and substance p in fundus of rat stomach. *Inflammopharmacology.* 2005; 13 (1-3): 127-137.
- Huether, G. The central adaptation syndrome: Psychosocial stress as a trigger for adaptive modifications of brain structure and brain function. *Prog. Neurobiol.* 1996; 48 (6): 569-612.
- Huether, G., Doering, S., Ruger, U., Ruther, E., & Schussler, G. The stress-reaction process and the adaptive modification and reorganization of neuronal networks. *Psychiatry Res.* 1999; 87 (1): 83-95.
- Ishimaru, Y., Sumino, A., Kajioka, D., Shibagaki, F., Yamamuro, A., Yoshioka, Y., & Maeda, S. Apelin protects against nmda-induced retinal neuronal death via an apj receptor by activating akt and erk1/2, and suppressing tnf-alpha expression in mice. *J Pharmacol Sci.* 2017; 133 (1): 34-41.
- Izgut-Uysal, V. N., Gemici, B., Birsen, I., Acar, N., & Ustunel, I. The protective effect of apelin against water-immersion and restraint stress-induced gastric damage. *J Physiol Sci.* 2014; 64 (4): 279-289.
- Ji, E., Wang, T., Guo, F., Zhang, Y., Tang, C., Tang, D., . . . Xian, M. Xiaerfupi alleviates the symptoms of functional dyspepsia by regulating the htr3a and c-fos. *Biomed Pharmacother.* 2019; 120: 109442.

- Jiang, S. M., Jia, L., Liu, J., Shi, M. M., & Xu, M. Z. Beneficial effects of antidepressant mirtazapine in functional dyspepsia patients with weight loss. *World J Gastroenterol.* 2016; 22 (22): 5260-5266.
- Jing, F., & Zhang, J. Metabolic kinetics of 5-hydroxytryptamine and the research targets of functional gastrointestinal disorders. *Dig Dis Sci.* 2014; 59 (11): 2642-2648.
- Jing, F. C., Zhang, J., Feng, C., Nian, Y. Y., Wang, J. H., Hu, H., . . . Yin, X. R. Potential rat model of anxiety-like gastric hypersensitivity induced by sequential stress. *W J Gastroenterol.* 2017; 23 (42): 7594-7608.
- Jones, M. P., Tack, J., Van Oudenhove, L., Walker, M. M., Holtmann, G., Koloski, N. A., & Talley, N. J. Mood and anxiety disorders precede development of functional gastrointestinal disorders in patients but not in the population. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017; 15 (7): 1014-1020 e1014.
- Kang, Y. J., Kim, J. M., Anderson, J. P., Wu, J. X., Gleim, S. R., Kundu, R. K., . . . Chun, H. J. Apelin-apj signaling is a critical regulator of endothelial mef2 activation in cardiovascular development. *Circ Res.* 2013; 113 (1): 22-31.
- Kapica, M., Jankowska, A., Antushevich, H., Pietrzak, P., Bierla, J. B., Dembinski, A., & Zabielski, R. The effect of exogenous apelin on the secretion of pancreatic juice in anaesthetized rats. *J Physiol Pharmacol.* 2012; 63 (1): 53-60.
- Karamanolis, G., Caenepeel, P., Arts, J., & Tack, J. Association of the predominant symptom with clinical characteristics and pathophysiological mechanisms in functional dyspepsia. *Gastroenterology.* 2006; 130 (2): 296-303.
- Kato, S., Aihara, E., Nakamura, A., Xin, H., Matsui, H., Kohama, K., & Takeuchi, K. Expression of vanilloid receptors in rat gastric epithelial cells: Role in cellular protection. *Biochem Pharmacol.* 2003; 66 (6): 1115-1121.
- Kentish, S. J., Frisby, C. L., Kritas, S., Li, H., Hatzinikolas, G., O'Donnell, T. A., . . . Page, A. J. Trpv1 channels and gastric vagal afferent signalling in lean and high fat diet induced obese mice. *PloS one.* 2015; 10 (8): e0135892.
- Kim, D. Y., Delgado-Aros, S., Camilleri, M., Samsom, M., Murray, J. A., O'Connor, M. K., Burton, D. D. Noninvasive measurement of gastric accommodation in patients with idiopathic nonulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96 (11): 3099-3105.

- Kindt, S., & Tack, J. Impaired gastric accommodation and its role in dyspepsia. *Gut*. 2006; 55 (12): 1685-1691.
- Kleinz, M. J., & Davenport, A. P. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther*. 2005; 107 (2): 198-211.
- Knowles, C. H., & Aziz, Q. Basic and clinical aspects of gastrointestinal pain. *Pain*. 2009; 141 (3): 191-209.
- Kojima, R., Doihara, H., Nozawa, K., Kawabata-Shoda, E., Yokoyama, T., & Ito, H. Characterization of two models of drug-induced constipation in mice and evaluation of mustard oil in these models. *Pharmacology*. 2009; 84 (4): 227-233.
- Kollarik, M., & Brozmanova, M. Cough and gastroesophageal reflux: Insights from animal models. *Pulm Pharmacol Ther*. 2009; 22 (2): 130-134.
- Koloski, N. A., Jones, M., Kalantar, J., Weltman, M., Zaguirre, J., & Talley, N. J. The brain-gut pathway in functional gastrointestinal disorders is bidirectional: A 12-year prospective population-based study. *Gut*. 2012; 61 (9): 1284-1290.
- Koloski, N. A., Jones, M., & Talley, N. J. Evidence that independent gut-to-brain and brain-to-gut pathways operate in the irritable bowel syndrome and functional dyspepsia: A 1-year population-based prospective study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 44 (6): 592-600.
- Kondo, T., Obata, K., Miyoshi, K., Sakurai, J., Tanaka, J., Miwa, H., & Noguchi, K. Transient receptor potential a1 mediates gastric distention-induced visceral pain in rats. *Gut*. 2009; 58 (10): 1342-1352.
- Krieger, J. P., Arnold, M., Pettersen, K. G., Lossel, P., Langhans, W., & Lee, S. J. Knockdown of glp-1 receptors in vagal afferents affects normal food intake and glycemia. *Diabetes*. 2016; 65 (1): 34-43.
- Lalonde, R., & Strazielle, C. Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests as displayed by c57/bl6j and balb/c mice. *J Neurosci Methods*. 2008; 171 (1): 48-52.
- Laskiewicz, J., Krolczyk, G., Zurowski, G., Sobocki, J., Matyja, A., & Thor, P. J. Effects of vagal neuromodulation and vagotomy on control of food intake and body weight in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2003; 54 (4): 603-610.

- Le Pluart, D., Sabate, J. M., Bouchoucha, M., Hercberg, S., Benamouzig, R., & Julia, C. Functional gastrointestinal disorders in 35 447 adults and their association with body mass index. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 41 (8): 758-767.
- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., . . . O'Dowd, B. F. Characterization of apelin, the ligand for the apj receptor. *J Neurochem.* 2000; 74 (1): 34-41.
- Lee, K. J., Vos, R., & Tack, J. Effects of capsaicin on the sensorimotor function of the proximal stomach in humans. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 19 (4): 415-425.
- Lenz, H. J., Raedler, A., Greten, H., Vale, W. W., & Rivier, J. E. Stress-induced gastrointestinal secretory and motor responses in rats are mediated by endogenous corticotropin-releasing factor. *Gastroenterology.* 1988; 95 (6): 1510-1517.
- Levine, J. D., & Alessandri-Haber, N. Trp channels: Targets for the relief of pain. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1772 (8): 989-1003.
- Li, H., Kentish, S. J., Wittert, G. A., & Page, A. J. Apelin modulates murine gastric vagal afferent mechanosensitivity. *Physiol Behav.* 2018; 194: 466-473.
- Liang, Q., Li, Y., Yan, Y., Liang, J., Mao, L., Liu, J., Li, H. Pingwei capsules improve gastrointestinal motility in rats with functional dyspepsia. *J Tradit Chin Med.* 2018; 38 (1): 43-53.
- Lin, Y. J., Lin, R. L., Ruan, T., Khosravi, M., & Lee, L. Y. A synergistic effect of simultaneous trpa1 and trpv1 activations on vagal pulmonary c-fiber afferents. *J Appl Physiol (1985).* 2015; 118 (3): 273-281.
- Liu, L. S., Winston, J. H., Shenoy, M. M., Song, G. Q., Chen, J. D., & Pasricha, P. J. A rat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation. *Gastroenterology.* 2008; 134 (7): 2070-2079.
- Liu, Q. Z., Hu, T. Y., He, L. J., Huang, X. Z., Tian, X. Y., Zhang, H., . . . Zhou, B. Genetic targeting of sprouting angiogenesis using apln-creer. *Nat Commun.* 2015; 6.
- Loot, A. E., & Fleming, I. A novel apj signaling cascade that regulates cardiovascular development. *Circ Res.* 2013; 113 (1): 4-6.
- Loyd, R. A., & McClellan, D. A. Update on the evaluation and management of functional dyspepsia. *Am Fam Physician.* 2011; 83 (5): 547-552.

- Lv, S. Y., Cui, B., Chen, W. D., & Wang, Y. D. Apelin/apj system: A key therapeutic target for liver disease. *Oncotarget*. 2017; 8 (67): 112145-112151.
- Lv, S. Y., Yang, Y. J., Qin, Y. J., Mo, J. R., Wang, N. B., Wang, Y. J., & Chen, Q. Central apelin-13 inhibits food intake via the crf receptor in mice. *Peptides*. 2012; 33 (1): 132-138.
- Lv, S. Y., Yang, Y. J., Qin, Y. J., Xiong, W., & Chen, Q. Effect of centrally administered apelin-13 on gastric emptying and gastrointestinal transit in mice. *Peptides*. 2011.
- Maguire, J. J., Klein, M. J., Pitkin, S. L., & Davenport, A. P. [pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: Vasoactive mechanisms and inotropic action in disease. *Hypertension*. 2009; 54 (3): 598-604.
- Mahadeva, S., & Goh, K. L. Epidemiology of functional dyspepsia: A global perspective. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 (17): 2661-2666.
- Masri, B., Morin, N., Pedebnarde, L., Knibiehler, B., & Audigier, Y. The apelin receptor is coupled to gi1 or gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *J Biol Chem*. 2006; 281 (27): 18317-18326.
- Mayer, E. A. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut*. 2000; 47 (6): 861-869.
- Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y., . . . Darker, J. G. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the apj receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84 (5): 1162-1172.
- Miwa, H., Watari, J., Fukui, H., Oshima, T., Tomita, T., Sakurai, J., . . . Matsumoto, T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 26 Suppl 3: 53-60.
- Monnikes, H., Schmidt, B. G., Raybould, H. E., & Tache, Y. Crf in the paraventricular nucleus mediates gastric and colonic motor response to restraint stress. *Am J Physiol*. 1992; 262 (1 Pt 1): G137-143.
- Moran, T. H., & Kinzig, K. P. Gastrointestinal satiety signals ii. Cholecystokinin. *Am J Physiol Gastro. Liver Physiol*. 2004; 286 (2): G183-188.
- Myers, B., Mark Dolgas, C., Kasckow, J., Cullinan, W. E., & Herman, J. P. Central stress-integrative circuits: Forebrain glutamatergic and gabaergic projections to the

- dorsomedial hypothalamus, medial preoptic area, and bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Struct Funct.* 2014; 219 (4): 1287-1303.
- Nam, Y., Kwon, S. C., Lee, Y. J., Jang, E. C., & Ahn, S. H. Relationship between job stress and functional dyspepsia in display manufacturing sector workers: A cross-sectional study. *Ann Occup Environ Me.* 2018; 30.
- Nassenstein, C., Kwong, K., Taylor-Clark, T., Kollarik, M., Macglashan, D. M., Braun, A., & Udem, B. J. Expression and function of the ion channel *trpa1* in vagal afferent nerves innervating mouse lungs. *J Physiol.* 2008; 586 (6): 1595-1604.
- Nilius, B., Appendino, G., & Owsianik, G. The transient receptor potential channel *trpa1*: From gene to pathophysiology. *Pflugers Arch.* 2012; 464 (5): 425-458.
- Nozawa, K., Kawabata-Shoda, E., Doihara, H., Kojima, R., Okada, H., Mochizuki, S., . . . Ito, H. *Trpa1* regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells. *P Natl Acad Sci USA.* 2009; 106 (9): 3408-3413.
- Nozawa, Y., Nishihara, K., Yamamoto, A., Nakano, M., Ajioka, H., & Matsuura, N. Distribution and characterization of vanilloid receptors in the rat stomach. *Neurosci Lett.* 2001; 309 (1): 33-36.
- O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. The apelin receptor *apj*: Journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrin.* 2013; 219 (1): R13-35.
- O'Carroll, A. M., Selby, T. L., Palkovits, M., & Lolait, S. J. Distribution of mRNA encoding *b78/apj*, the rat homologue of the human *apj* receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1492 (1): 72-80.
- O'Connor, T. M., O'Halloran, D. J., & Shanahan, F. The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: From molecule to melancholia. *QJM.* 2000; 93 (6): 323-333.
- O'Donnell, L. A., Agrawal, A., Sabnekar, P., Dichter, M. A., Lynch, D. R., & Kolson, D. L. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury. *J Neurochem.* 2007; 102 (6): 1905-1917.
- O'Malley, D., Julio-Pieper, M., Gibney, S. M., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. Distinct alterations in colonic morphology and physiology in two rat models of enhanced

- stress-induced anxiety and depression-like behaviour. *Stress*. 2010; 13 (2): 114-122.
- Odowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H. Q., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., . . . Nguyen, T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome-11. *Gene*. 1993; 136 (1-2): 355-360.
- Odunsi-Shiyanbade, S. T., Camilleri, M., McKinzie, S., Burton, D., Carlson, P., Busciglio, I. A., . . . Zinsmeister, A. R. Effects of chenodeoxycholate and a bile acid sequestrant, colesevelam, on intestinal transit and bowel function. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010; 8 (2): 159-165.
- Otsuka, T., Nishii, A., Amemiya, S., Kubota, N., Nishijima, T., & Kita, I. Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety- and depressive-like behaviors in rats. *Behav Brain Res*. 2015; 298 (Pt B): 44-51.
- Oustamanolakis, P., & Tack, J. Dyspepsia: Organic versus functional. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46 (3): 175-190.
- Page, A. J., & Li, H. Meal-sensing signaling pathways in functional dyspepsia. *Front Syst Neurosci*. 2018; 12: 10.
- Penuelas, A., Tashima, K., Tsuchiya, S., Matsumoto, K., Nakamura, T., Horie, S., & Yano, S. Contractile effect of trpa1 receptor agonists in the isolated mouse intestine. *Eur J Pharmacol*. 2007; 576 (1-3): 143-150.
- Piessevaux, H., Tack, J., Walrand, S., Pauwels, S., & Geubel, A. Intra-gastric distribution of a standardized meal in health and functional dyspepsia: Correlation with specific symptoms. *Neurogastroenterol Motil*. 2003; 15 (5): 447-455.
- Pomrenze, M. B., Tovar-Diaz, J., Blasio, A., Maiya, R., Giovanetti, S. M., Lei, K., . . . Messing, R. O. A corticotropin releasing factor network in the extended amygdala for anxiety. *J Neurosci*. 2019; 39 (6): 1030-1043.
- Purhonen, A. K., Louhivuori, L. M., Kiehne, K., Kerman, K. E., & Herzig, K. H. Trpa1 channel activation induces cholecystokinin release via extracellular calcium. *FEBS Lett*. 2008; 582 (2): 229-232.

- Reaux-Le Goazigo, A., Alvear-Perez, R., Zizzari, P., Epelbaum, J., Bluet-Pajot, M. T., & Llorens-Cortes, C. Cellular localization of apelin and its receptor in the anterior pituitary: Evidence for a direct stimulatory action of apelin on acth release. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 292 (1): E7-15.
- Reaux, A., Gallatz, K., Palkovits, M., & Llorens-Cortes, C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience.* 2002; 113 (3): 653-662.
- Robinson, D. R., McNaughton, P. A., Evans, M. L., & Hicks, G. A. Characterization of the primary spinal afferent innervation of the mouse colon using retrograde labelling. *Neurogastroenterol Motil.* 2004; 16 (1): 113-124.
- Rogers, R. C., Hermann, G. E., & Travagli, R. A. Brainstem pathways responsible for oesophageal control of gastric motility and tone in the rat. *J Physiol.* 1999; 514 (Pt 2): 369-383.
- Samanta, A., Hughes, T. E. T., & Moiseenkova-Bell, V. Y. Transient receptor potential (trp) channels. *Subcell Biochem.* 2018; 87: 141-165.
- Sarnelli, G., Caenepeel, P., Geypens, B., Janssens, J., & Tack, J. Symptoms associated with impaired gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98 (4): 783-788.
- Scarpignato, C., Varga, G., & Corradi, C. Effect of cck and its antagonists on gastric emptying. *J Physiol, Paris.* 1993; 87 (5): 291-300.
- Selye, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1998; 10 (2): 230-231.
- Shin, K., Kenward, C., & Rainey, J. K. Apelinergic system structure and function. *Compr Physiol.* 2017; 8 (1): 407-450.
- Shivaji, U. N., & Ford, A. C. Prevalence of functional gastrointestinal disorders among consecutive new patient referrals to a gastroenterology clinic. *Frontline Gastroenterol.* 2014; 5 (4): 266-271.
- Simren, M., Tornblom, H., Palsson, O. S., van Tilburg, M. A. L., Van Oudenhove, L., Tack, J., & Whitehead, W. E. Visceral hypersensitivity is associated with gi symptom severity in functional gi disorders: Consistent findings from five different patient cohorts. *Gut.* 2018; 67 (2): 255-262.

- Sinen, O., & Bulbul, M. The role of autonomic pathways in peripheral apelin-induced gastrointestinal dysmotility: Involvement of the circumventricular organs. *Exp Physiol*. 2021; 106 (2): 475-485.
- Sperber, A. D., Bangdiwala, S. I., Drossman, D. A., Ghoshal, U. C., Simren, M., Tack, J., Palsson, O. S. Worldwide prevalence and burden of functional gastrointestinal disorders, results of rome foundation global study. *Gastroenterology*. 2021; 160 (1): 99-114 e113.
- Stanghellini, V., Chan, F. K., Hasler, W. L., Malagelada, J. R., Suzuki, H., Tack, J., & Talley, N. J. Gastrointestinal disorders. *Gastroenterology*. 2016; 150 (6): 1380-1392.
- Surdenikova, L., Ru, F., Nassenstein, C., Tatar, M., & Kollarik, M. The neural crest- and placodes-derived afferent innervation of the mouse esophagus. *Neurogastroenterol Motil*. 2012; 24 (10): e517-525.
- Suzuki, H., & Hibi, T. Overlap syndrome of functional dyspepsia and irritable bowel syndrome - are both diseases mutually exclusive? *J Neurogastroenterol Motil*. 2011; 17 (4): 360-365.
- Tack, J. Neurophysiologic mechanisms of gastric reservoir function. *Physiology of the Gastrointestinal Tract, Vols 1 and 2, 4th Edition*. 2006: 927-933.
- Tack, J., Caenepeel, P., Fischler, B., Piessevaux, H., & Janssens, J. Symptoms associated with hypersensitivity to gastric distention in functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 2001; 121 (3): 526-535.
- Tack, J., Jones, M. P., Karamanolis, G., Coulie, B., & Dubois, D. Symptom pattern and pathophysiological correlates of weight loss in tertiary-referred functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil*. 2010; 22 (1): 29-35, e24-25.
- Tack, J., & Lee, K. J. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *J Clin Gastroenterol*. 2005; 39 (5 Suppl 3): S211-216.
- Tack, J., Piessevaux, H., Coulie, B., Caenepeel, P., & Janssens, J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 1998; 115 (6): 1346-1352.

- Tahara, T., Shibata, T., Nakamura, M., Yamashita, H., Yoshioka, D., Hirata, I., & Arisawa, T. Homozygous *trpv1* 315c influences the susceptibility to functional dyspepsia. *J Clin Gastroenterol.* 2010; 44 (1): e1-7.
- Takahashi, T., & Owyang, C. Characterization of vagal pathways mediating gastric accommodation reflex in rats. *J Physiol.* 1997; 504 (Pt 2): 479-488.
- Talley, N. J., & Ford, A. C. Functional dyspepsia. *N Engl J Med.* 2015; 373 (19): 1853-1863.
- Talley, N. J., Locke, G. R., 3rd, Lahr, B. D., Zinsmeister, A. R., Tougas, G., Ligozio, G., Tack, J. Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. *Gut.* 2006; 55 (7): 933-939.
- Talley, N. J., Walker, M. M., & Holtmann, G. Functional dyspepsia. *Curr Opin Gastroenterol.* 2016; 32 (6): 467-473.
- Tan, L. L., Bornstein, J. C., & Anderson, C. R. Neurochemical and morphological phenotypes of vagal afferent neurons innervating the adult mouse jejunum. *Neurogastroenterol Motil.* 2009; 21 (9): 994-1001.
- Tang, L., Zeng, Y., Li, L., Wang, J., Peng, D., Zhang, T., . . . An, X. Electroacupuncture upregulated ghrelin in rats with functional dyspepsia via *ampk/tsc2/rheb*-mediated *mtor* inhibition. *Dig Dis Sci.* 2020; 65 (6): 1689-1699.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., . . . Fujino, M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human *apj* receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 251 (2): 471-476.
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., & Fujimiya, M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept.* 2001; 99 (2-3): 87-92.
- Testoni, P. A., Bagnolo, F., & Tittobello, A. Interdigestive antro-duodenal motor disorders in functional dyspepsia. Associated chronic gastritis correlates with a further motor impairment. *Ital J Gastroenterol.* 1992; 24 (8): 440-445.
- Tian, Y., Chen, R., Jiang, Y., Bai, B., Yang, T., & Liu, H. The protective effects and mechanisms of apelin/*apj* system on ischemic stroke: A promising therapeutic target. *Front Neurol.* 2020; 11: 75.

- Travagli, R. A., & Anselmi, L. Vagal neurocircuitry and its influence on gastric motility. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; 13 (7): 389-401.
- Travagli, R. A., Hermann, G. E., Browning, K. N., & Rogers, R. C. Brainstem circuits regulating gastric function. *Annu Rev Physiol.* 2006; 68: 279-305.
- Urbain, J. L., Vekemans, M. C., Parkman, H., Van Caeteren, J., Mayeur, S. M., Van den Maegdenbergh, V., . . . De Roo, M. Dynamic antral scintigraphy to characterize gastric antral motility in functional dyspepsia. *J Nucl Med.* 1995; 36 (9): 1579-1586.
- van den Wijngaard, R. M., Welting, O., Bulmer, D. C., Wouters, M. M., Lee, K., de Jonge, W. J., & Boeckxstaens, G. E. Possible role for *trpv1* in neomycin-induced inhibition of visceral hypersensitivity in rat. *Neurogastroenterol Motil.* 2009; 21 (8): 863-e860.
- Van Oudenhove, L., & Aziz, Q. The role of psychosocial factors and psychiatric disorders in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10 (3): 158-167.
- Van Oudenhove, L., Crowell, M. D., Drossman, D. A., Halpert, A. D., Keefer, L., Lackner, J. M., . . . Levy, R. L. Biopsychosocial aspects of functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology.* 2016.
- Vanheel, H., & Farre, R. Changes in gastrointestinal tract function and structure in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10 (3): 142-149.
- Vanner, S., & Surprenant, A. Neural reflexes controlling intestinal microcirculation. *Am J Physiol.* 1996; 271 (2 Pt 1): G223-230.
- Venkatachalam, K., & Montell, C. Trp channels. *Annu Rev Biochem.* 2007; 76: 387-417.
- Wang, G., Anini, Y., Wei, W., Qi, X., AM, O. C., Mochizuki, T., . . . Greeley, G. H., Jr. Apelin, a new enteric peptide: Localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology.* 2004; 145 (3): 1342-1348.
- Wang, G., Kundu, R., Han, S., Qi, X., Englander, E. W., Quertermous, T., & Greeley, G. H., Jr. Ontogeny of apelin and its receptor in the rodent gastrointestinal tract. *Regul Pept.* 2009; 158 (1-3): 32-39.

- Wang, Z., Yu, D., Wang, M., Wang, Q., Kouznetsova, J., Yang, R., . . . Gong, D. W. Elabela-apelin receptor signaling pathway is functional in mammalian systems. *Sci Rep.* 2015; 5: 8170.
- Wattez, J. S., Ravallec, R., Cudenec, B., Knauf, C., Dhulster, P., Valet, P., . . . Lesage, J. Apelin stimulates both cholecystokinin and glucagon-like peptide 1 secretions in vitro and in vivo in rodents. *Peptides.* 2013; 48: 134-136.
- Woods, S. C., & D'Alessio, D. A. Central control of body weight and appetite. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93 (11 Suppl 1): S37-50.
- Yang, P., Read, C., Kuc, R. E., Buonincontri, G., Southwood, M., Torella, R., . . . Davenport, A. P. Elabela/toddler is an endogenous agonist of the apelin apj receptor in the adult cardiovascular system, and exogenous administration of the peptide compensates for the downregulation of its expression in pulmonary arterial hypertension. *Circulation.* 2017; 135 (12): 1160-1173.
- Ye, Y., Wang, X. R., Zheng, Y., Yang, J. W., Yang, N. N., Shi, G. X., & Liu, C. Z. Choosing an animal model for the study of functional dyspepsia. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2018; 2018: 1531958.
- Yu, Y. B., Yang, J., Zuo, X. L., Gao, L. J., Wang, P., & Li, Y. Q. Transient receptor potential vanilloid-1 (trpv1) and ankyrin-1 (trpa1) participate in visceral hyperalgesia in chronic water avoidance stress rat model. *Neurochem Res.* 2010; 35 (5): 797-803.
- Zhang, A. Z., Wang, Q. C., Huang, K. M., Huang, J. G., Zhou, C. H., Sun, F. Q., . . . Wu, F. T. Prevalence of depression and anxiety in patients with chronic digestive system diseases: A multicenter epidemiological study. *World J Gastroenterol.* 2016; 22 (42): 9437-9444.
- Zhao, H., Sprunger, L. K., & Simasko, S. M. Expression of transient receptor potential channels and two-pore potassium channels in subtypes of vagal afferent neurons in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010; 298 (2): G212-221.
- Zou, X., Wang, Y., Wang, Y., Yang, J., Guo, H., & Cai, Z. Paeoniflorin alleviates abnormalities in rats with functional dyspepsia by stimulating the release of acetylcholine. *Drug Des Devel Ther.* 2020; 14: 5623-5632.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Osman	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Sinen	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	700.Yıl Süper Lisesi	2008
Lisans	Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2013
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2017
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2021

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi	2014-

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YDS	73,75

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Yüksek Yağlı Diyete Bağlı Gelişen Vagal Otonomik Disfonksiyonda Apelinin Rolünün Araştırılması	Tübitak-1001	2018-2020
Nöropeptit-S'in Parkinson Hastalığındaki Tedavi Edici ve Koruyucu Etkilerinin Araştırılması	Tübitak-1003	2016-2018

Strese Bağlı Bozulan Gastrointestinal Motilitede Apelin ve Kolesistokinin İlişkisinin Beyin-Bağırsak Ekseninde Araştırılması	Tübitak-1001	2015-2017
Deneysel Fonksiyonel Dispepsiye Bağlı Afferent Vagal Disfonksiyonda Apelinin Rolünün Araştırılması	BAP	2020-
Yüzme Egzersizinin Yaşlı Beynine Etkisinde Adropinin Rolü ve Etki Mekanizması	BAP	2018-
Santral Nöropeptit-S'in Bazal ve Stres Koşullarında Gastrik Motiliteye Etkisi	BAP	2018-2021
Periferel Ekzojen Apelin'in Kolonik Motor Fonksiyonlara Etkisi	BAP	2019-2020
Deneysel Parkinson Modelinde Sirinjik Asitin Koruyucu Etki Mekanizmasının Araştırılması	BAP	2019-2020
Santral Nesfatin-1'in Gastroinhibitör Etkisinin Araştırılması	BAP	2019-2020
Deneysel Parkinson Modelinde Adropinin Etki ve Mekanizması	BAP	2018-2020
Hipotalamik Oreksin-A ve Kortikotropin Salgılatıcı Faktör İlişkisinin Araştırılması	BAP	2017-2018
Maternal Separasyon ile Oluşturulan Deneysel İrritabl Bağırsak Sendromu Modelinde Santral Nöropeptit-S'in Rolünün Araştırılması	BAP	2016-2018
Strese Bağlı Bozulan Mide Motilitesinde Santral Oreksin-A'nın Rolü	BAP	2015-2017

Burslar-Ödüller:

Sinen O., Bülbül M., "**En İyi Poster Ödülü**, 4th International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society, Kasım 2020

Özkan A., Sinen O., Bülbül M., Derin N., Akçay G., Aydın Aslan M., Ağar A. , "**Poster Sunumu İkincilik Ödülü**, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Kasım 2019

Bülbül B., Sinen O., Aslan M, Özkan A, Ağar A., "**Sözlü Sunum İkincilik Ödülü**, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Kasım 2018

Bülbül M., Sinen O., İzgüt-Uysal NV., "**Poster Sunumu Üçüncülük Ödülü**, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Eylül 2015

Yayımlar ve Bildiriler:

SCI,SSCI,AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

- Gemici, A., **Sinen O.**, Bülbül M. "Sexual dimorphism in rats exposed to maternal high fat diet: alterations in medullary sympathetic network.", Metab Brain Dis., Vol., pp.-, 2021
- **Sinen O.**, Özkan A., Ağar A., Bülbül M. "Neuropeptide-S prevents 6-OHDA-induced gastric dysmotility in rats.", Brain Research, Vol. 1762, pp.-, 2021
- Guzelad O., Özkan A., Parlak H., **Sinen O.**, Afşar E., Ögüt E., et al., "Protective mechanism of Syringic acid in an experimental model of Parkinson's disease", METABOLIC BRAIN DISEASE, 2021
- **Sinen O.**, Bülbül M., "The role of autonomic pathways in peripheral apelin-induced gastrointestinal dysmotility: involvement of the circumventricular organs", Experimental Physiology, 2021
- Kaya S.D., **Sinen O.**, Bülbül M., "Gastric motor dysfunction coincides with the onset of obesity in rats fed with high-fat diet", Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology, 2021
- **Sinen O.**, Bülbül M., Derin N., Özkan A., Akçay G., Aydın Aslan M., et al., "The effect of chronic neuropeptide-S treatment on non-motor parameters in experimental

model of Parkinson's disease.", INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROSCIENCE, vol.-, no.-, pp.1-10, 2020

- Bülbül M., **Sinen O.**, Bayramoğlu O., "Central neuropeptide-S administration alleviates stress-induced impairment of gastric motor functions through orexin-A.", TURKISH JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, vol.31, no.1, pp.65-72, 2020
- Bülbül M., **Sinen O.**, Bayramoğlu O., Akkoyunlu G., "Enteric apelin enhances the stress-induced stimulation of colonic motor functions", STRESS-THE INTERNATIONAL JOURNAL ON THE BIOLOGY OF STRESS, 2019
- Bülbül M., **Sinen O.**, Özkan A., Aydın Aslan M., Açar A., "Central neuropeptide-S treatment improves neurofunctions of 6-OHDA-induced Parkinsonian rats.", EXPERIMENTAL NEUROLOGY, vol.317, pp.78-86, 2019
- Bülbül M., **Sinen O.**, Bayramoğlu O., Akkoyunlu G., "Acute restraint stress induces cholecystokinin release via enteric apelin", NEUROPEPTIDES, vol.73, pp.71-77, 2019
- Bülbül M., **Sinen O.**, İzgüt-Uysal V., Akkoyunlu G., Öztürk S., Uysal F., "Peripheral apelin mediates stress-induced alterations in gastrointestinal motor functions depending on the nutritional status.", CLINICAL AND EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY AND PHYSIOLOGY, vol.-, 2018
- Bülbül M., **Sinen O.**, Gok M., Travagli R.A., "Apelin-13 inhibits gastric motility through vagal cholinergic pathway in rats", AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-GASTROINTESTINAL AND LIVER PHYSIOLOGY, vol.314, pp.G201-G210, 2018
- Bülbül M., **Sinen O.**, "Dual autonomic inhibitory action of central Apelin on gastric motor functions in rats", AUTONOMIC NEUROSCIENCE-BASIC & CLINICAL, vol.212, pp.17-22, 2018
- Bülbül M., **Sinen O.**, Abueid L., Akkoyunlu G., Özsoy Ö., "Central apelin administration and restraint stress induce hypothalamic cholecystokinin release through APJ receptor.", JOURNAL OF NEUROENDOCRINOLOGY, vol.-, pp.e12635-e12635, 2018

- Bülbül M., **Sinen O.**, Birsen I., Izgut-Uysal V.N., "Peripheral apelin-13 administration inhibits gastrointestinal motor functions in rats: The role of cholecystokinin through CCK1 receptor-mediated pathway", *NEUROPEPTIDES*, vol.63, pp.91-97, 2017
- Bülbül M., **Sinen O.**, Gemici B., Uysal V.N., "Opposite effects of central oxytocin and arginine vasopressin on changes in gastric motor function induced by chronic stress.", *PEPTIDES*, vol.87, pp.1-11, 2016
- Bülbül M., Izgut-Uysal V.N., **Sinen O.**, Birsen I., Tanriöver G., "Central apelin mediates stress-induced gastrointestinal motor dysfunction in rats", *AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-GASTROINTESTINAL AND LIVER PHYSIOLOGY*, vol.310, pp.G249-G261, 2016

HAKEMLİ KONGRE / SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

- Sinen O., Bülbül M., "Central Autonomic Pathways Contribute to Delayed Colonic Transit Induced by Peripheral Apelin-13", 4th International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society, İSTANBUL, TÜRKİYE, 26-28 Kasım 2020, pp.72-73
- Sinen O., Bülbül M., Özkan A., Derin N., Akçay G., Parlak H., et al., "Nöropeptid-S'in Deneysel Parkinson Modelinde Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Nöroprotektif Etkisi", 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi, AYDIN, TÜRKİYE, 31 Ekim - 3 Kasım 2019, ss.93-93
- Özkan A., Bülbül M., Sinen O., Derin N., Akçay G., Aydın Aslan M., et al., "Santral Nöropeptid-S'in Farelerde MPTP ile İndüklenen Davranışsal Değişikliklere Etkisi", 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi, AYDIN, TÜRKİYE, 31 Ekim - 3 Kasım 2019, ss.92-92
- Bülbül M., Sinen O., Abueid L., Akkoyunlu G., "Strese Bağlı Oluşan Gastrointestinal Dismotilitede Enterik Nöronal Apelinin Rolü ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.74-74
- Bülbül M., Ülker Karadamar P., Abdullayeva G., Sinen O., Abueid L., "İrritabl Bağırsak Sendromunda Yeni Bir İndikatör: Eritrosit Agregasyonu", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.94-94

- Bülbül M., Bayramoğlu O., Abueid L., Sinen O., "Santral Nöropeptit-S'nin Mide Motor Fonksiyonları zerine Etkisi: Stres-İlişkili Etkiler ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.76-76
- Bülbül M., Akkoyunlu G., Sinen O., Abueid L., "Kolonik Nöronal Apelin ve CRF'de Strese Bağlı Değişimler ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.100-100
- Bülbül M., Derin N., Sinen O., Akçay G., zkan A., Ağar A., "Sıçanlarda 6-OHDA ile Oluşturulan Bilişsel ve Davranışsal Değişiklikler zerine Santral Ekzojen Nöropeptit-S'in Etkisi ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.63-63
- Bülbül M., Sinen O., Abueid L., "Hipotalamik Apelin Otonomik Çıkışı Paraventriküler Çekirdekten Kolesistokinin Salgısını Uyararak Düzenler ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.34-34
- Bülbül M., Sinen O., Bayramoğlu O., "Hipotalamik Oreksin-A CRF-aracılı Oluşan Mide Dismotilitesine Katkıda Bulunur ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.75-75
- Bülbül M., Abueid L., Sinen O., zkan A., Ağar A., "Sıçanlarda Santral Ekzojen Nöropeptit-S'in 6-OHDA ile Oluşturulan Gastrointestinal Disfonksiyona Etkisi ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.74-74
- Bülbül M., Birsen İ. , Sinen O., "Periferal Uygulanan Apelinin Mide Boşalımı zerine Dual Etkisi: Santral Otonomik Yolakların Katkısı ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.73-73
- Bülbül M., Abueid L., Sinen O., "Kemirgenlerde Yaygın Kullanılan ç Farklı Stres Modelinin Karşılaştırılması: Sempato-Vagal Denge ve Mide Motor Fonksiyonları zerine Farklı Etkiler ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.40-40
- Bülbül M., Sinen O., Aydın Aslan M., zkan A., Ağar A., "Sıçanlarda Deneysel Parkinson Modelinin Santral Nöropeptit-S ile Tedavisi: Koruyucu ve İyileştirici zellikler ", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 1-4 Kasım 2018, ss.29-29

- Bülbül M., Sinen O., Abueid L., "Maternal Separasyon Beyindeki Nöropeptit-S üretimini ve otonomik ıkışı Etkiler: Kronik Homotipik Stresteki Değişiklikler", 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANTALYA, TÜRKIYE, 1-4 Kasım 2018, ss.56-56
- Sinen O., Bülbül M., "Reciprocal Interaction between Hypothalamic Orexin-A and Corticotropin-releasing Factor under Stressed Condition", Experimental Biology 2018, San Diego, ABD, 21-26 Nisan 2018, pp.47-47
- Akkoyunlu G., Bülbül M., Sinen O., Gök M., "Central exogenous Apelin-13 and restraint stress stimulates hypothalamic cholecystokinin via APJ receptor.", 13th Multinational Congress on Microscopy, Rovinj, HIRVATISTAN, 24-29 Eylül 2017, pp.330-331
- Sinen O., Bülbül M., "The Role of Central Orexin-A in Restraint Stress-induced Gastric Dysmotility in Rats", Experimental Biology 2017, Chicago, ABD, 22-26 Nisan 2017, pp.471-471
- Bülbül M., Sinen O., "Maternal Separasyon Uygulanan Sıçanlarda Kronik Stres ile Oluşturulan Gastrointestinal Disfonksiyondaki Cinseyete Bağlı Farklılıklar", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKIYE, 7-10 Eylül 2017, ss.1-1
- Bülbül M., Sinen O., "Hipotalamik Oreksin-A Strese Bağlı Artan Fekal ıkışa Katkıda Bulunmaktadır", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKIYE, 7-10 Eylül 2017, ss.2-2
- Bülbül M., Sinen O., Uysal V.N., zsoy ., Akkoyunlu G., Parlak H., et al., "Santral Ekzojen Nöropeptit-S'in Parkinson Hastalığı'na Karşı Koruyucu Etkisi", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKIYE, 5-8 Eylül 2016, ss.107-107
- Sinen O., Bülbül M., Birsen İ. , Uysal V.N., "Kronik Homotipik Strese Bağlı Gelişen Gastrik Motor Adaptasyonda Santral Oksitosin'in Rolü", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKIYE, 5-9 Eylül 2016, ss.45-45
- Bülbül M., Sinen O., Uysal V.N., "Central Exogenous Neuropeptide-S Ameliorates Stress-Induced Impaired Gastric Emptying through Orexin- Mediated Pathway in Rats", Experimental Biology 2016, San Diego, ABD, 2-6 Nisan 2016, pp.34-34

- Birsen İ. , Bülbül M., Sinen O., Özsoy Ö., Akkoyunlu G., Uysal V.N., "Santral Apelin Gastrik Motiliteyi APJ Reseptörü-aracılı Vagal Efferent Yolak Üzerinden İnhibe Eder", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, ss.45-45
- Akkoyunlu G., Bülbül M., Özsoy Ö., Sarikcioğlu L., Sinen O., "Neuronal Expression of Apelin Receptor APJ May Mediate the Inhibitory Effect of Apelin on Gastric Motility", 12th International Congress of Cell Biology, Prag, CEK CUM., 21-25 Temmuz 2016, pp.260-260
- Sinen O., Bülbül M., Uysal V.N., "Peripheral Apelin Inhibits Gastrointestinal Motor Functions via CCK-dependent Pathway", Experimental Biology 2016, San Diego, ABD, 2-6 Nisan 2016, pp.34-34
- Bülbül M., Sinen O., Birsen İ. , Uysal V.N., "Kronik Heterotipik Stres Modeliyle Oluşturulan Kolonik Motor Maladaptasyonda Santral Arjinin Vazopressin'in Rolü ", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, ss.95-95
- Bülbül M., Sinen O., İzgüt-Uysal V.N., "Santral Nöropeptit-S'in Maternal Separasyona Bağlı Oluşan Gastrointestinal Motor Disfonksiyona Etkisi", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 41.Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015, ss.135-135
- Sinen O., Bülbül M., İzgüt-Uysal V.N., "Sıçanlarda Endojen Santral Oreksin-A'nın Mide Boşalımındaki Rolü", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 41.Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015, ss.59-59