



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANA BİLİM DALI



**MERKEZİ YOLLA UYGULANAN ÜRİDİN VE ÜRİDİN
NÜKLEOTİDLERİNİN NÖROENDOKRİN VE METABOLİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

CANSU KOÇ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2024

CANSU KOÇ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2024



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANA BİLİM DALI



**MERKEZİ YOLLA UYGULANAN ÜRİDİN VE ÜRİDİN
NÜKLEOTİDLERİNİN NÖROENDOKRİN VE METABOLİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cansu KOÇ

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Mehmet CANSEV

TOA-2021-684 B.U.Ü. BAP

BURSA-2024

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum “**Merkezi Yolla Uygulanan Üridin ve Üridin Nükleotidlerinin Nöroendokrin ve Metabolik Etkilerinin Araştırılması**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Cansu KOÇ
Tarih ve İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

Adı Soyadı: Cansu KOÇ

Anabilim Dalı: Tıp-Tıbbi Farmakoloji ABD

Tez Konusu: Merkezi Yolla Uygulanan Üridin ve Üridin Nükleotidlerinin
Nöroendokrin ve Metabolik Etkilerinin Araştırılması

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN</u>		<u>AÇIKLAMA</u>
		<u>DEĞİLDİR</u>		
Tezin Boyutları	☒	☐		
Dış Kapak Sayfası	☒	☐		
İç Kapak Sayfası	☒	☐		
Kabul Onay Sayfası	☒	☐		
Sayfa Düzeni	☒	☐		
İçindekiler Sayfası	☒	☐		
Yazı Karakteri	☒	☐		
Satır Aralıkları	☒	☐		
Başlıklar	☒	☐		
Sayfa Numaraları	☒	☐		
Eklerin Yerleştirilmesi	☒	☐		
Tabloların Yerleştirilmesi	☒	☐		
Kaynaklar	☒	☐		

DANIŞMAN ONAYI

Prof. Dr. Mehmet CANSEV

İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	II
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA	
HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Pirimidinler.....	3
2.1.1 Üridin biyosentezi	5
2.1.2. Üridin katabolizması	7
2.1.3. Pirimidin taşıyıcıları.....	9
2.1.4. Pirimidin reseptörleri.....	10
2.1.5. P2Y reseptör aracılı sinir sistemi etkileri	12
2.1.6. Pirimidinlerin periferik uygulanması ile gözlenen P2Y reseptör aracılı yanıtlar	13
2.1.7. Pirimidinlerin merkezi yolla uygulanması ile gözlenen P2Y reseptör aracılı yanıtlar ve MSS etkileri	15
2.2. Enerji Metabolizmasının Düzenlenmesinde MSS'nin Rolü.....	15
2.2.1. Hipotalamus.....	17
2.2.1.2. Paraventriküler nükleus (PVN).....	21
2.2.1.3. Ventromedial nükleus (VMN)	21
2.2.1.4. Dorsomedial nükleus (DMN)	21
2.2.1.5. Lateral hipotalamus (LH)	22
2.2.2. Nükleus traktus solitarius (NTS).....	22
2.2.3. Mezolimbik sistem	23
2.2.5. Besin alımının düzenlenmesinde görevli peptitler	26
2.3. Glukoz Homeostazı	27
2.3.1. Karaciğerin rolü	28
2.3.2. Kas dokusunun rolü.....	30
2.3.3. Yağ dokusunun rolü	31
2.3.4. Pankreasın rolü.....	31
2.3.4.1. İnsülin	33
2.3.4.2. Glukagon.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanları	36
3.2. Arteriyel Kateter ve İntraserebroventriküler Kanül İmplantasyonu	36
3.3. İntraserebroventriküler İlaç Uygulaması	38
3.4. Kullanılan İlaçlar	39
3.5. Deney Grupları	40
3.6. Kan Şekeri Ölçümü ve Kan Örneklerinin Toplanması	40
3.7. ELISA Kit Ölçümleri	40
3.8. İmmünohistokimya	41
3.8.1. Dokuların perfüzyon fiksasyon işlemi ile hazırlanması	41
3.8.2. İmmünohistokimyasal yöntemlerde uygulanan genel kurallar	42

3.8.3. Aktive olan nöronlarda pirimidinerjik reseptörlerin belirleneceği immünohistokimyasal boyamaların yapılması	43
3.8.4. UTP'nin aktivasyon sağladığı P2Y ₂ reseptörü eksprese eden nöronlarda ortaya çıkan nöronal aktivasyonun belirlenmesi	43
3.8.5. Preparatların incelenmesi ve hücre sayımı	44
3.9. İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Açlık Kan Şekeri Üzerine Etkileri	46
4.1.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin açlık kan şekeri üzerine etkileri	46
4.2. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Leptin Düzeyleri Üzerine Etkileri	49
4.2.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum leptin düzeyleri üzerine etkileri	49
4.2.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum leptin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	50
4.2.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum leptin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	51
4.3. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Ghrelin Düzeyleri Üzerine Etkileri	52
4.3.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum ghrelin düzeyleri üzerine etkileri	52
4.3.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum ghrelin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	53
4.3.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum ghrelin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	54
4.4. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum İnsülin Düzeyleri Üzerine Etkileri	55
4.4.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum insülin düzeyleri üzerine etkileri	55
4.4.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum insülin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	56
4.4.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum insülin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	57
4.5. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Glukagon Düzeyleri Üzerine Etkileri	58
4.5.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum glukagon düzeyleri üzerine etkileri	58
4.5.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum glukagon düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	59
4.5.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum glukagon düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri	60
4.6. Histolojik Bulgular	61
4.6.1. UTP'nin aktivasyon sağladığı P2Y ₂ reseptör eksprese eden nöronlarda ortaya çıkan nöronal aktivasyonun araştırılması	61
4.6.1.1. ARC'de P2Y ₂ reseptörünü eksprese eden nöronlarda c-Fos aktivasyonu	61
4.6.1.2. PVN'de P2Y ₂ reseptörünü eksprese eden nöronlarda c-Fos aktivasyonu	63
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
6. KAYNAKLAR	78
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	95
8. EKLER	97
9. TEŞEKKÜR	99

10. ÖZGEÇMİŞ	100
---------------------------	------------



TÜRKÇE ÖZET

Üridin, kan dolaşımında, dokularda ve anne sütünde bulunan önemli bir pirimidin nükleozitidir. Vücutta serbest formda bulunabilen üridin; mono-, di- ve trifosfatlı nükleotidlerin, nükleotid şekerlerin (örneğin UDP-glukoz, UDP-galaktoz) ve nükleik asitlerin (RNA ve DNA) yapısına katılarak, glikojen sentezi ile protein ve lipidlerin glikozilasyonunda rol oynar.

Bu çalışmanın amacı, üridin ve türevlerinin MSS üzerinden periferik metabolik ve nöroendokrin sistemler üzerindeki etkilerini incelemek ve bu etkilerde P2Y reseptörlerinin muhtemel rolünü araştırmaktır. Ayrıca hipotalamik çekirdeklerin bu süreçteki rolü de değerlendirildi.

Çalışmada, 4-6 aylık Sprague Dawley türü erkek sıçanlar kullanıldı. Deney gruplarına SF, üridin, UMP, UDP ve UTP intraserebroventriküler yolla uygulandı. P2Y reseptörlerinin rolünü anlamak için antagonist gruplarına P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür verildi. Enjeksiyonlardan sonra belirli aralıklarda kan örnekleri alınarak kan şekeri ölçümleri yapıldı. Uygulamalardan 90 dakika sonra hayvanlar perfüze edildi ve beyin kesitlerinde P2Y₂ içeren nöronlarda c-Fos aktivitesi ikili indirekt immünoperoksidaz yöntemi ile incelendi.

Sonuçlara göre; üridin ve UMP, açlık kan şekeri ile leptin, ghrelin, insülin ve glukagon seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadi. Ancak UDP, açlık kan şekerini ve glukagon düzeylerini yükseltirken, leptin ve insülin seviyelerini düşürdü. PPTN hidroklorür ve MRS2578 uygulamaları, açlık kan şekeri, leptin, insülin ve glukagon seviyelerini artırırken, ghrelin düzeylerini düşürdüğü bulundu. UTP uygulaması ise benzer şekilde açlık kan şekeri, leptin, insülin ve glukagon seviyelerini artırırken, ghrelin seviyelerini azalttı. ARC-118925XX, UTP'nin bu etkilerini kısmen baskıladı.

Bu bulgular, diyabet ve obezite gibi yaygın metabolik hastalıkların mekanizmalarını daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir ve pirimidin bileşiklerinin bu hastalıkların tedavisinde potansiyel kullanımına yönelik yeni yaklaşımlara katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: üridin, UDP, UTP, metabolizma, obezite

İNGİLİZCE ÖZET

INVESTIGATION OF NEUROENDOCRINE AND METABOLIC EFFECTS OF CENTRALLY ADMINISTERED URIDINE AND URIDINE NUCLEOTIDES

Uridine is a major pyrimidine nucleoside found in human blood circulation, tissues, and breast milk. Uridine can exist in free form within the body and plays roles in physiological functions such as glycogen biosynthesis and protein and lipid glycosylation by incorporating into nucleotides (mono-, di-, and tri-phosphorylated forms), nucleotide sugars (UDP-glucose and UDP-galactose), and nucleic acids (RNA and DNA).

The aim of this study was to investigate the potential metabolic and neuroendocrine effects of uridine and its nucleotides in the periphery via the central nervous system, the possible mechanisms involving P2Y receptor signaling in these effects, and the role of hypothalamic nuclei.

For this purpose, 4-6-month-old male Sprague Dawley rats were used in the study. Saline, uridine, UMP, UDP, and UTP were administered intracerebroventricularly to the experimental animals. In the antagonist groups, P2Y₂ receptor antagonist ARC-118925XX, P2Y₆ receptor antagonist MRS2578, and P2Y₁₄ receptor antagonist PPTN hydrochloride were applied. Blood samples were collected at specific time intervals after the injections, and blood glucose levels were measured. Ninety minutes after the injections, the animals were perfused, and brain sections were analyzed for c-Fos labeling in P2Y₂-containing neurons using a double indirect immunoperoxidase method.

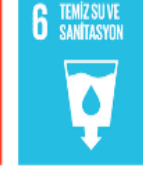
As a result, uridine and UMP did not show any significant effect on fasting blood glucose and levels of leptin, ghrelin, insulin, or glucagon. However, UDP increased fasting blood glucose and glucagon levels while reducing leptin and insulin levels, with no significant effect observed on glucagon. PPTN hydrochloride and MRS2578 increased fasting blood glucose, leptin, insulin, and glucagon levels, while reducing ghrelin levels. Similarly, UTP increased fasting blood glucose, leptin, insulin, and glucagon levels but decreased ghrelin levels. ARC-118925XX partially inhibited these effects of UTP.

These findings may contribute to understanding the pathophysiology of common metabolic disorders such as diabetes and obesity and support the potential use of pyrimidine compounds for the treatment of these diseases.

Keywords: uridine, UDP, UTP, metabolism, obesity

BUÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ

					
☐	☐	☒	☐	☐	☐
					
☐	☐	☐	☐	☐	☐
					
☐	☐	☐	☐	☐	☐

Doktora tezi olarak sunduğum “Merkezi Yolla Uygulanan Üridin ve Üridin Nükleotidlerinin Nöroendokrin ve Metabolik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez 3. Küresel Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri ile ilişkilidir.

1. GİRİŞ

Üridin bir pirimidin nükleozitidir. Yapısına fosfat gruplarının eklenmesiyle üridin monofosfat (UMP), üridin difosfat (UDP), üridin trifosfat (UTP) gibi nükleotid formlarına dönüşür. Nükleotidler, metabolik düzenlemeyi içeren çeşitli hücresel süreçlerde merkezi bir rol oynamaktadırlar (Zhang, Guo, Xie & Fang, 2020). Üridin nükleotidlerinin metabolizması, glutamin aminoasiti ile başlayan de novo sentez yolağı ve nükleozit öncülü ile başlayan kurtarma sentez yolağı ile düzenlenir (Yamamoto ve ark., 2011). Karaciğer ve yağ dokuda sentezlenen üridin kan ile taşınarak beyine geçer. Bu kan-beyin bariyerinde taşınma iki farklı taşıyıcı protein ailesi olan konsantre edici nükleozit taşıyıcısı (Concentrative Nucleoside Transporter-CNT) ve dengeleyici nükleozit taşıyıcısı (Equilibrative Nucleoside Transporter-ENT) ile gerçekleşir (Redzic ve ark., 2005). Daha önce yapılan çalışmalarda, dışarıdan verilen üridinin beyinde üridin seviyelerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Cansev, Watkins, Van Der Beek & Wurtman, 2005; Peters ve ark., 1987). Beyin hücrelerine alınan pirimidin nükleozitlerinin fosfolipid sentezi gibi önemli beyin fonksiyonlarına aracılık etmesinin yanı sıra beyinde pirimidin nükleotidlerine duyarlı P2Y reseptörlerinin keşfi ve pirimidin nükleotidlerinin kültür ortamında glial hücreler tarafından salgılanmasının ortaya koyulması, pirimidin nükleotidlerinin de ATP gibi ekstrasellüler sinyal molekülleri olabileceğini düşündürmüştür (Cansev ve ark., 2015).

Üridin nükleotidleri metabotropik P2Y reseptörleri için ligandlardır. UTP'nin P2Y₂, P2Y₄ üzerinden, UDP'nin ise P2Y₆ ve P2Y₁₄ reseptörleri üzerinden aktivasyon sağladığı bildirilmiştir. P2Y₂, P2Y₄ ve P2Y₆ reseptörlerinin UTP ve UDP tarafından uyarılması ile fosfolipaz C (PLC) aktivasyonunu takiben hücre içi Ca⁺² salıverilmesi indükleyen ve protein kinaz C'yi (PKC) aktive eden ikincil haberciler, inositol 1,4,5-trisfosfat (IP₃) ve diaçilgliserol (DAG) oluşturmaktadır (Abbracchio ve ark., 2006; Erb, Liao, Seye & Weisman, 2006). Üridin ve UMP'nin henüz tanımlanmış reseptörleri bulunmamaktadır. Ancak sistemik olarak uygulanan üridinin UTP sentez ve salıverilmesini artırarak beyinde P2Y₂ reseptörleri aracılığıyla kolinerjik nörotransmisyonun uyarıldığı gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2015). Bunun yanında kronik oral yolla uygulanan UMP'nin de beyinde asetilkolin ve dopamin salıverilmesini uyardığı önceki yıllarda bildirilmiştir (Wang ve ark., 2005, 2007).

Dolayısıyla üridin ve UMP'nin henüz reseptörleri gösterilmemiş olsa da farklı mekanizmalar aracılığıyla kolinerjik ve dopaminerjik nörotransmisyonu teşvik ettiği bilinmektedir. Bu nedenle, üridin ve UMP'nin merkezi yolla uygulandıklarında merkezi sinir sistemi (MSS) aracılığıyla periferde çeşitli etkilere yol açma ihtimalleri bulunmaktadır.

Beyinde endokrin sistemi koordine eden bölge olan hipotalamus, su-besin alımı, biyolojik sirkadiyen ritim, vücut ısısı, kan basıncı, emzirme, öğrenme ve hafıza, cinsel aktivite, duygusal ifade ve otonom sinir sistemi kontrolü dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik süreci düzenleme amacıyla beyine ve vücudun diğer bölgelerine doğrudan sinyaller gönderir.

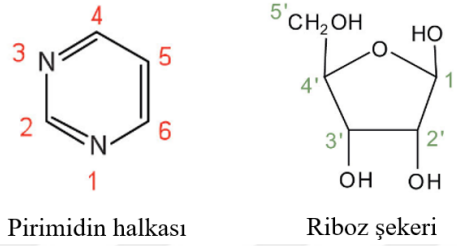
Merkezi P2Y reseptörlerinin endokrin ve metabolik düzenlemede oynadıkları role ilişkin yakın zamanlı iki çalışma göze çarpmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, obezite oluşturulan deney hayvanlarında kandaki üridin konsantrasyonlarının yüksek olmasına bağlı olarak hipotalamik UDP miktarının arttığı, merkezi yolla uygulanan UDP'nin P2Y₆ reseptörleri aracılığıyla oreksijenik agouti-ilişkili peptit (AgRP) nöronlarını uyararak besin alımını teşvik ettiği ve bu etkinin farmakolojik veya genetik inhibisyon ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (Steculorum ve ark., 2015). Aynı grubun takip eden bir diğer çalışmasında ise obezitede P2Y₆ reseptör delesyonunun vücut yağ kütlesini azaltarak insülin duyarlılığını artırdığı ve bu etkinin AgRP nöronlarına spesifik olduğu bildirilmiştir (Steculorum ve ark., 2017). Bu çalışmaların haricinde literatürde merkezi yolla uygulanan üridin ve üridin nükleotidlerinin hipotalamik nöronlar üzerine etkisi bilinmemektedir.

Bu bulgular pirimidinerjik nörotransmisyonun beyinde etkileri olduğuna kanıt olarak düşünüldüğünde, bu çalışmada olduğu gibi intraserebroventriküler (isv) yolla uyguladığımız üridin ve üridin nükleotidlerinin merkezi ve periferik etkileri olması muhtemeldir. Sunulan bu çalışmada üridin ve üridin nükleotidlerinin merkezi uygulanmasının metabolik ve nöroendokrin etkileri incelenmiş ve bu muhtemel etkilerdeki P2Y reseptör uyarımının aracılığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

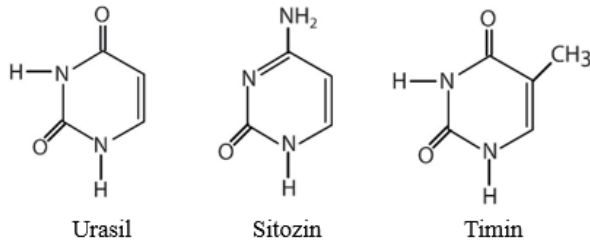
2.1. Pirimidinler

Pirimidin bileşikleri, oxopirimidin halkası (bir altıgen yapı, içinde iki azot atomu bulunan aromatik halka) temel alınarak oluşturulan organik bileşiklerdir (Şekil 1). Bu bileşikler biyokimyada ve hücre metabolizmasında kritik öneme sahiptir.



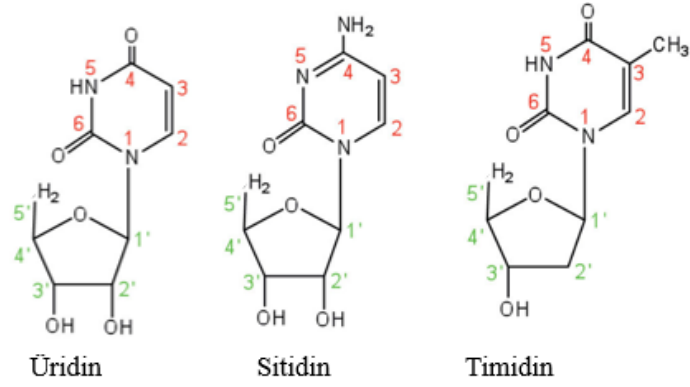
Şekil 1. Pirimidin bileşiklerinin yapı taşları.

Doğal pirimidin bazları, deoksi ribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asitin (RNA) yapı taşları olarak görev yapar. Bunlar urasil, sitozin ve timin bazlarıdır (Şekil 2). Urasil bazı sadece RNA'da bulunur, DNA'da yer almaz. Sitozin bazı hem DNA'da hem de RNA'da bulunur. Timin bazı ise sadece DNA'da bulunur.



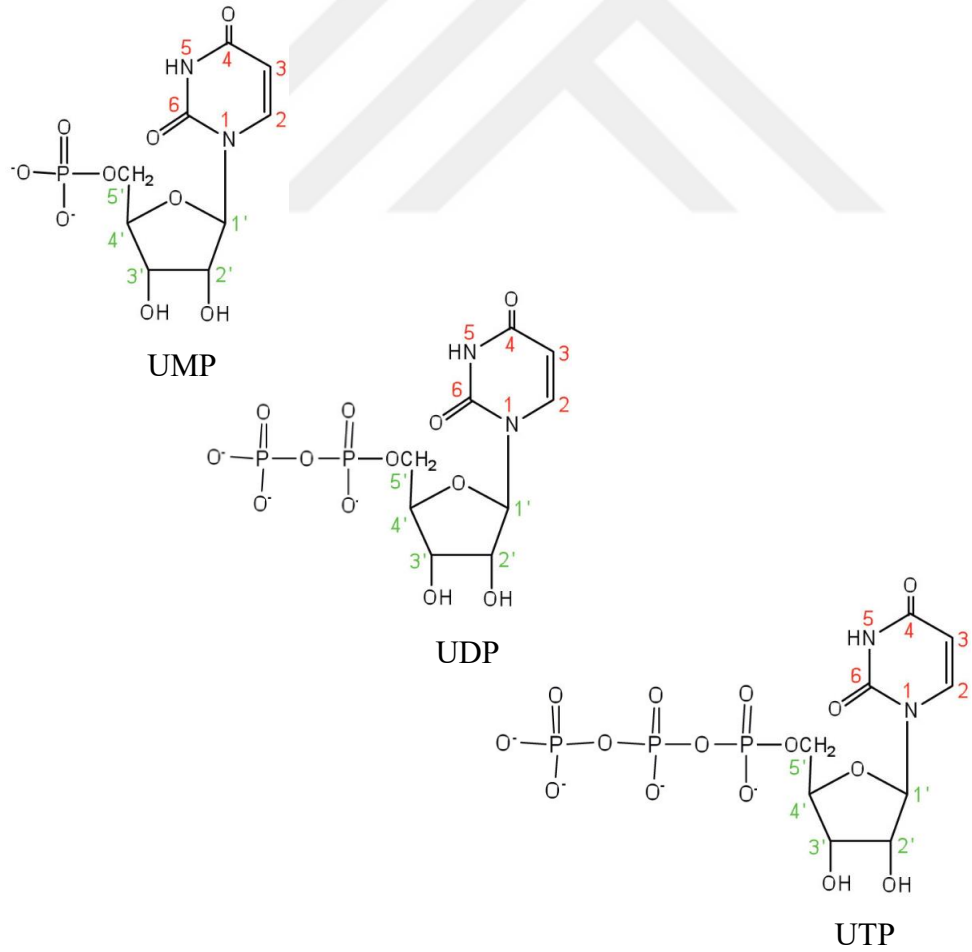
Şekil 2. Pirimidin bazları.

Pirimidin bazlarının şeker molekülüyle birleşmesi sonucu nükleozitler oluşur. RNA'nın yapısında yer alan pirimidin nükleozitleri üridin (U) ve sitidin (C) iken DNA'da deoksitimidin (dT) ve deoksisitidin (dC) bulunur (Şekil 3).



Şekil 3. Pirimidin nükleozitleri.

Pirimidin nükleozitlerine fosfat (P) gruplarının eklenmesiyle pirimidin nükleotitleri oluşur. Nükleozite eklenen fosfat sayısına göre isimlendirilirler ve üridin monofosfat (UMP), üridin difosfat (UDP) ve üridin trifosfat (UTP) şeklinde yazılırlar (Şekil 4).



Şekil 4. Pirimidin nükleotitleri.

Üridin ve sitidin hem serbest formda kanda ve dokularda bulunabildiği gibi nükleotid şekerler (örneğin UDP-glukoz ve UDP-galaktoz) ve fosfolipid ara ürünleri (örneğin CDP-kolin) gibi moleküllerin yapısında da yer alabilir (Traut, 1994). Bu nükleozitler glikojen biyosentezi, protein ve lipid glikolizasyonu ile pirimidinerjik nörotransmisyon gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde önemli roller üstlenir (Lecca & Ceruti, 2008). Sıçanlarda kan dolaşımındaki major pirimidin nükleoziti sitidin olarak tanımlanırken (Traut, 1994), insanlarda bu rolü üridin üstlenir (Wurtman, Regan, Ulus & Yu, 2000). Ayrıca vücuda dışarıdan alınan sitidin, sitidin deaminaz enzimi aracılığıyla büyük ölçüde üridine dönüşür (Wurtman, Regan, Ulus & Yu, 2000).

2.1.1 Üridin biyosentezi

Üridin insan kan dolaşımı, dokular ve anne sütünde bulunan temel pirimidin nükleozitlerinden biridir (Thorell, Sjöberg & Hernell, 1996). Plazmadaki konsantrasyonu genellikle 3-5 μM arasında değişmektedir (Traut, 1994). Üridin aynı zamanda Kennedy yolu üzerinden membran fosfolipid sentezi için önemli bir öncü moleküldür. Bu yolda hız kısıtlayıcı adım olarak kabul edilen CDP-kolin sentezini hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda artırdığı gösterilmiştir.

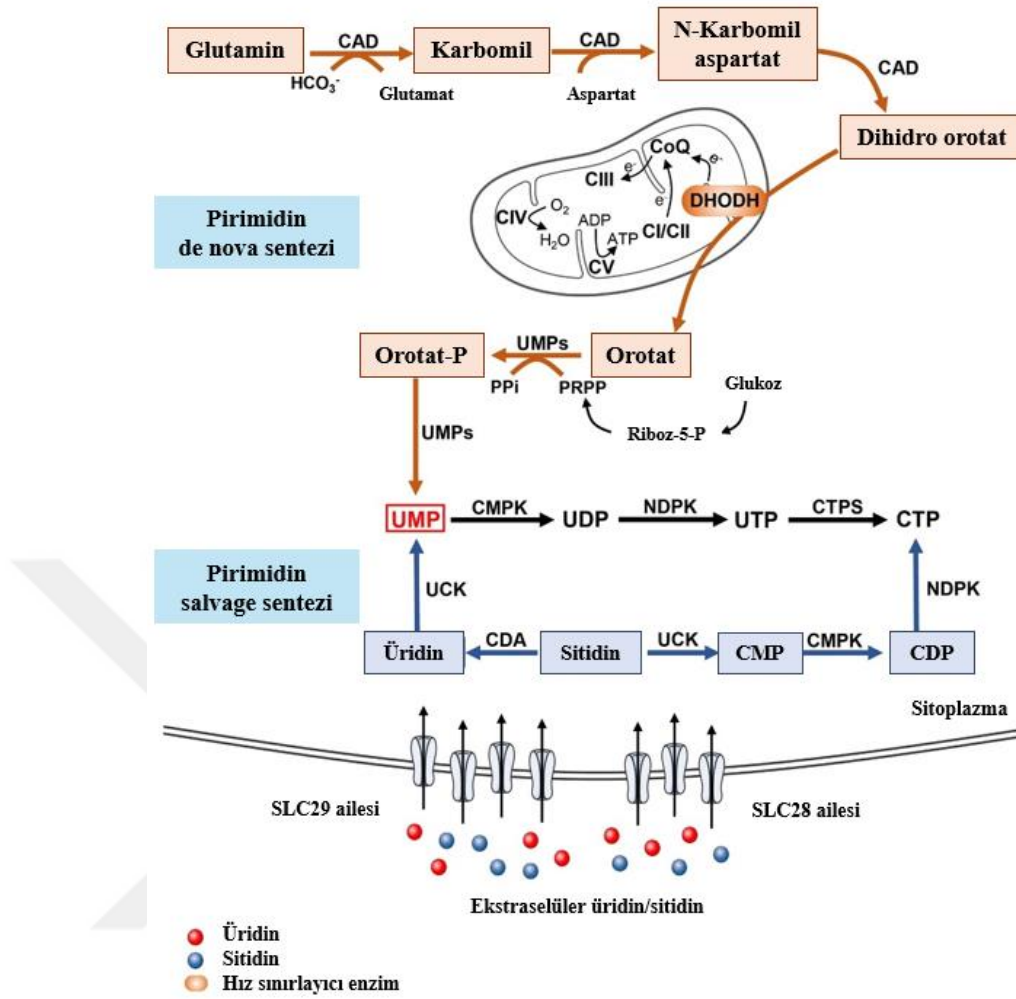
Hücre içindeki pirimidin nükleotidlerinin kaynağı iki major biyokimyasal yoldur; *de novo* biyosentez yolağı ve kurtarma (*salvage*) yolağı. İlk biyosentez yolağında pirimidin sentezi amino asit ön maddelerinden itibaren başlar ve bu yolk karaciğerde ve epitel hücreleri gibi aktif olarak proliferen olan hücrelerde pirimidin nükleotidlerinin en önemli kaynağıdır (Kékesi ve ark., 2006) (Şekil 5). Erişkin beyinde ise hücre içi pirimidin nükleotidlerinin en önemli kaynağı pirimidin nükleozitleridir. Kurtarma yolağı adı verilen bu yolk sayesinde beyin hücreleri nükleozitleri kandan alır ve geri dönüşüm yöntemiyle nükleotid biyosentezi yapar (Evans & Guy, 2004) (Şekil 5).

Plazma üridin konsantrasyonunun belirli fizyolojik süreçlerin sağlıklı işleyişi için kritik bir role sahip olduğu bilinmektedir. Hem insanlarda hem de kemirgenlerde, beslenme davranışları plazma üridin seviyesini etkilerken, yağ dokusu bu dengeyi korumada önemli bir rol oynar. Ayrıca adenosin trifosfat (ATP), tüketimi üridin biyosentezini teşvik ederek konsantrasyonunun sıkı bir şekilde düzenlenmesine katkıda bulunur (Zhang ve ark., 2020a).

Beyindeki UTP salvage sentez yolunun ilk enzimi üridin kinazdır. Beyine sağlanan üridin, UTP seviyelerinde bir artışa neden olur. UTP, CTP ve diğer primidin salvage sentez ürünleri, üridin kinaz enzimini geri besleme mekanizmasıyla inhibe eder. Bu durum, düşük UTP ve CTP seviyelerinde üridin nükleotidlerine dönüşümünü, yüksek seviyelerde ise enzim inhibisyonu sonucu fosforilasyona yönlendirilmesini sağlar (Zhang ve ark., 2020a).

Üridinin diğer önemli metabolik yolu, UDP-glukoz ve galaktoz gibi UDP şekerlerinin sentezidir. Bu şekerler ya glikojen sentezi için kullanılır ya da protein ve lipid glikolizasyonu amacıyla endoplazmik retikulumla taşınır. Son çalışmalar, bu UDP şekerlerinin ekstrasellüler alana salınıp burada çeşitli membran reseptörleri üzerinde etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Ban ve ark., 2009). Beyin metabolizmasında, üridin ve türevlerinin işlevindeki bozuklukların önemli nörolojik sonuçlara yol açabileceği düşünülmekte ve bu hipotez, yapılan araştırmalarla desteklenmiştir (Baumel ve ark., 2021).

Beyindeki glikojen sentezi de üridinle ilişkili önemli bir anabolik yoldur. Beyin kendi glikojenini sentezleyebilir; glikojen sentezinin varlığı astrositlerde ve nöronlarda gösterilmiştir. Glikojen sentezi, UDP-glukoz pirofosforilaz aracılığıyla UTP ve glukoz-1 fosfat (glukoz 1-P) kullanılarak yapılır. Glikojen zincirinin uzaması, UDP-UTP döngüsü ile yönetilir. Bu döngüde, zincir uzamasını sağlayan enzim glikojen sentazdır ve her bir glukozil biriminin eklenmesiyle bir UDP molekülü salınır. Salınan bu UDP, nükleozit difosfo kinaz aracılığıyla tekrar UTP'ye dönüştürülür ve zincir uzamaya devam ettikçe bu döngü sürdürülebilir (Wang, Cui, Ma, Lu, & Huang, 2021).



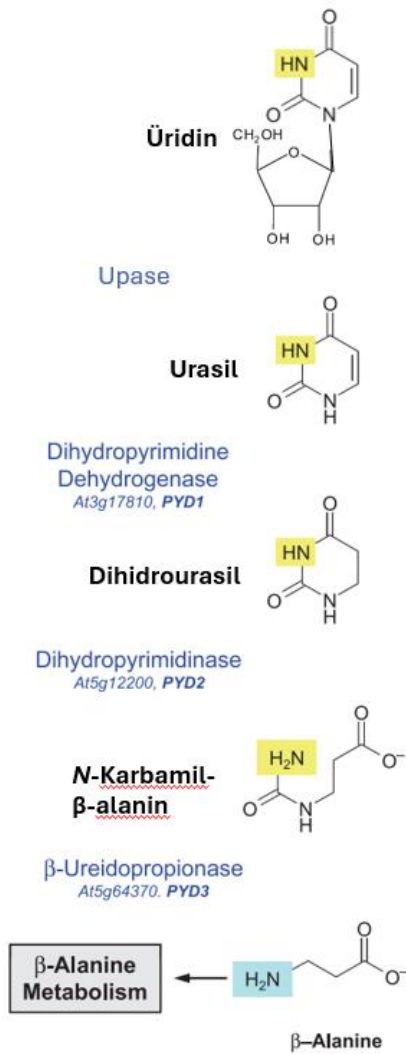
Şekil 5. De novo ve salvage yolağı (Wang ve ark., 2021).

2.1.2. Üridin katabolizması

Üridin vücutta urasil ve β -alanin gibi ürünlere metabolize edilir. Bu süreç, özellikle protein asetilasyonunu artırarak çeşitli hücrel işlevlere katkıda bulunur. Üridin katabolizmasında ilk adım üridinin, üridin fosforilaz (UPase) enzimi tarafından urasile parçalanmasıdır (Şekil 6). UPP1 geni tarafından kodlanan UPase1, üridin homeostazını düzenler ve tüm dokularda ifade edilir. UPase1'in enzimatik aktivitesinin inhibisyonu veya bu genin devre dışı bırakılması, plazma ve dokularda üridin seviyelerinin artmasına neden olur. UPP2 geni tarafından kodlanan UPase2, karaciğerde spesifik olarak bulunan bir proteindir ve pirimidin kurtarma yolağı için kritik öneme sahiptir. UPase2'nin inhibisyonu, karaciğerdeki endojen üridin seviyesini

artırarak ilaca bağlı lipid birikimine karşı karaciğeri koruyabilir (Zhang ve ark., 2020; Zrenner ve ark., 2009).

Urasil, dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) enzimi tarafından dihidrourasile dönüştürülür. Dihidrourasil, hidropirimidin hidrataz (dihidropirimidinaz olarak da bilinir) enzimi tarafından N-karbamoyl- β -alanine parçalanır. Son olarak, β -ureidopropionaz enzimi, N-karbamoyl- β -alanini β -alanine çevirir. β -Alanin, üridin katabolizmasının önemli bir son ürünüdür ve iki temel yolla değerlendirilir: Ekstrahepatik dokulara (örneğin, beyin ve kaslar) taşınabilir ya da fazlası vücuttan atılır. Katabolizmanın bir diğer ürünü olan asetil-CoA, hücresel enerji üretiminde ve protein asetilasyonunda kullanılır. Asetilasyon, özellikle epigenetik düzenleme ve hücresel homeostaz için önemli bir biyolojik süreçtir.

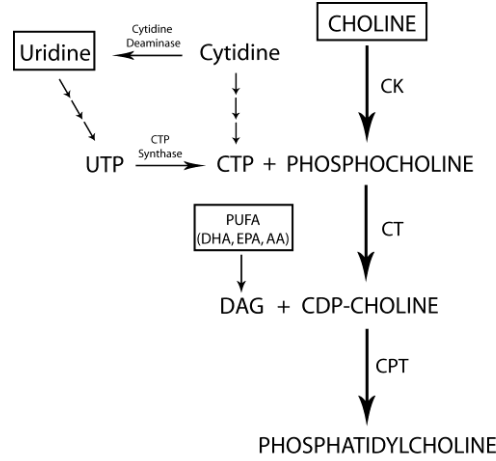


Şekil 6. Üridin katabolizması (Zrenner ve ark., 2009).

2.1.3. Pirimidin taşıyıcıları

Pirimidin nükleozitleri, hücelere iki ana taşıyıcı protein ailesi olan CNT (Gray, Owen & Giacomini, 2004) ve ENT (Baldwin ve ark., 2004) aracılığıyla alınır. CNT ailesi, sodyum-bağımlı ve yüksek afiniteli taşımadan sorumlu iken ENT ailesi sodyumdan bağımsız ve düşük afiniteli taşıma yapar. Dışarıdan alınan pirimidin nükleotidleri, fosfat gruplarını kaybederek üridin ve sitidin formunda kana geçer (Wurtman ve ark., 2000). Beyin hücelerine ulaşabilmeleri için üridin ve sitidinin öncelikle kan-beyin bariyerinde (KBB) bulunan taşıyıcı proteinler aracılığıyla ekstrasellüler sıvıya, ardından hücre zarındaki taşıyıcı proteinler yoluyla hücre içine alınması gerekir. CNT ve ENT ailelerine ait taşıyıcılar hem KBB hem de hücelerin zarlarında yer aldığından, kandaki serbest nükleozitlerin beyin hücelerine taşınması mümkün hale gelir. Dışarıdan vücuda alınan sitidin ve üridinin beyin düzeylerini artırdığı deneysel olarak gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2005; Peters ve ark., 1987). Ayrıca literatür, insanda fizyolojik koşullarda üridinin sitidine kıyasla beyine daha kolay geçebildiğine işaret etmektedir (Cansev, 2006). CNT2'nin afinitesi sitidine göre üridin için çok daha yüksektir bu sebeple beyin ana primidin kaynağı, sitidin plazma düzeylerinin yüksek olduğu sıçanlar da dahil olmak üzere üridindir (Wurtman ve ark., 2000).

Beyin hücelerine alınan pirimidin nükleozitleri önemli beyin fonksiyonlarına aracılık etmektedirler. Bunların en başında fosfolipid sentezi gelmektedir. Üridin ve sitidinin sinir hücelerinde CTP'ye dönüşmek suretiyle (Cansev, 2006; Cansev ve ark., 2005; Pooler, Guez, Benedictus & Wurtman, 2005; Richardson, Watkins, Perre, Ulus & Wurtman, 2003; Savci & Wurtman, 1995) Kennedy yolağı üzerinden beyinde fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin gibi major fosfolipidlerin sentezine katıldıkları deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır (G.-Coviella & Wurtman, 1992; Savci & Wurtman, 1995) (Şekil 7).



Şekil 7. Kennedy yolu (Cansev & Wurtman, 2007).

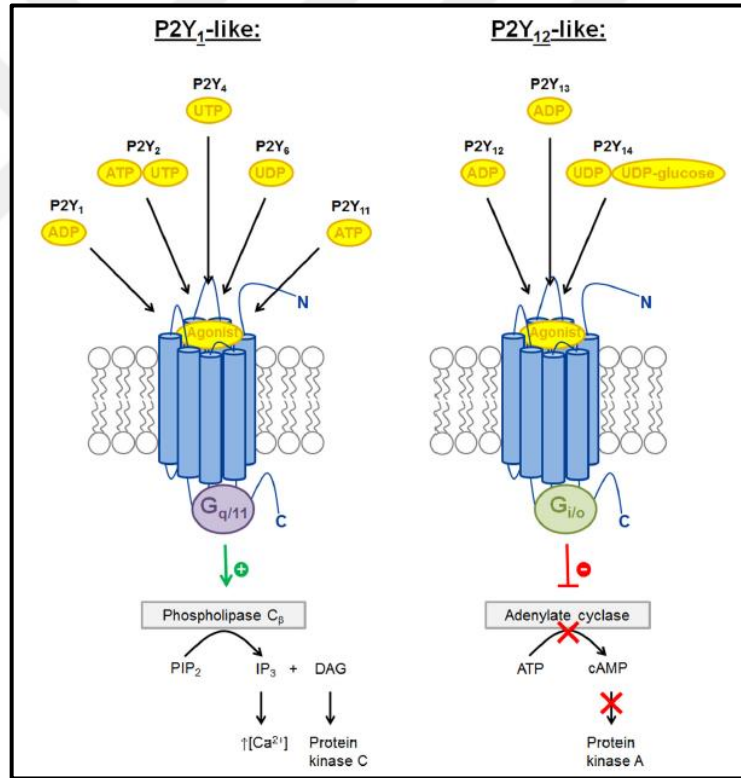
2.1.4. Pirimidin reseptörleri

Pirimidinler fosfolipid sentezine katılmalarının yanı sıra, reseptör aktivasyonu yoluyla da çeşitli beyin fonksiyonlarında rol oynayabilirler. 1970’lerde, ATP’nin klasik nörotransmitterlerle birlikte depolanıp salındığını gösteren bulgular (Burnstock, 1972), “pürinerjik transmisyon” kavramının ortaya çıkmasına yol açmıştır (Burnstock & Geoffrey, 2006). Beyinde pirimidin nükleotidlerine duyarlı reseptörlerin (P2Y reseptörleri) tanımlanması (Abbracchio ve ark., 2006) ve pirimidin nükleotidlerinin kültürdeki glial hücrelerden salındığının gösterilmesi (Lazarowski, Homolya, Boucher & Harden, 1997), bu moleküllerin ekstrasellüler sinyal taşıyıcıları olabileceğini ve MSS’de bir pirimidinerjik transmisyon mekanizmasının var olabileceğini düşündürmektedir. İlgili çalışmalarda, üridinin nöronal hücrelere alınarak pirimidin nükleotid sentezinde kullanıldığı (Cansev, 2006), üretilen bu nükleotidlerin hem bazal koşullarda (Lazarowski ve ark., 1997) hem de stres altında (Lazarowski, Boucher & Harden, 2000) glial hücrelerden salındığı deneysel olarak gösterilmiştir. Bu bulgular, pirimidin nükleotidlerinin MSS’de önemli bir sinyal işlevi üstlenebileceğine işaret etmektedir.

Bugüne kadar, P2Y reseptör ailesinin insanda 8 alt-tipi (P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ ve P2Y₁₄) klonlanmış ve karakterize edilmiştir (Jacobson ve ark., 2020). Bu reseptörlerden P2Y₁, P2Y₁₁, P2Y₁₂ ve P2Y₁₃, sadece adenosin nükleotidlerini tanıırken, P2Y₂ ve P2Y₄ reseptörleri ATP ve UTP’nin her ikisi ile de aktive edilebilir. Üridin nükleotidlerinden, UDP, UDP-glukoz ve UTP, P2Y₂, P2Y₄,

P2Y₆ ve P2Y₁₄ reseptörlerini aktive etme kapasitesine sahiptir. P2Y₂, P2Y₄ ve P2Y₆ reseptörlerinin UDP ve UTP ile aktive edilmesi, PLC'yi harekete geçirerek hücre içinde DAG ve IP₃ üretimine, ardından hücre içi Ca²⁺ düzeyinin artışına yol açar (Albert ve ark., 1997; Arslan ve ark., 2000). Buna karşılık UDP, UDP-glukoz ve diğer UDP-şekerleri tarafından aktive edilen P2Y₁₄ reseptörleri, Gi protein aracılığıyla adenilat siklaz aktivitesini baskılayarak hücre içi siklik AMP (sAMP) seviyesini düşürür (Chambers ve ark., 2000). Bu farklı mekanizmalar, P2Y reseptörlerinin hücrel sinyalizasyon üzerinde çok çeşitli etkiler göstermesini sağlar.

P2Y reseptörleri ikincil habercilerinin özelliklerine göre P2Y₁-benzeri ve P2Y₁₂-benzeri P2Y reseptörleri olarak sınıflandırılmaktadırlar (Rafehi & Müller, 2018). Bu sınıflama Şekil 8'de gösterilmiştir.



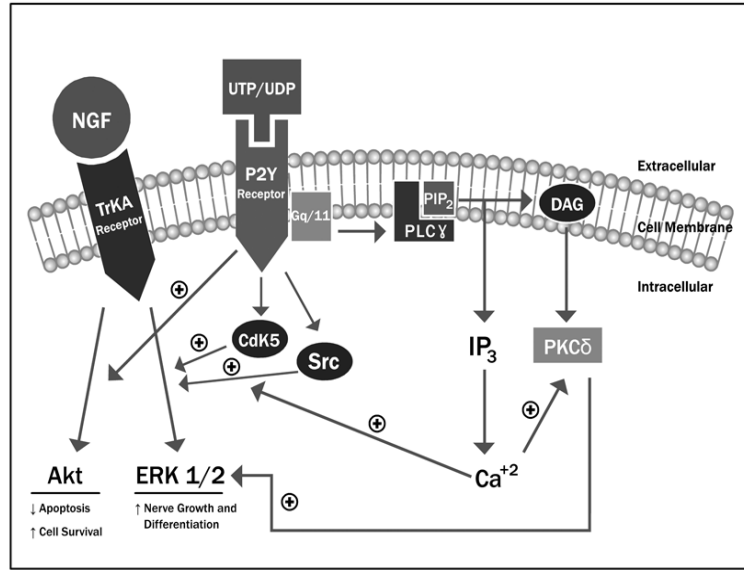
Şekil 8. P2Y₁-benzeri ve P2Y₁₂-benzeri P2Y reseptörleri ve ikincil habercilerinin görsel ifadesi (Rafehi & Müller, 2018).

P2Y reseptörlerinin beyin dahil olmak üzere hemen hemen tüm doku ve organlardaki ekspresyonu önceki bir çalışmada detaylı olarak incelenmiştir (Moore ve ark., 2001). Bu çalışmada P2Y₂, P2Y₄ ve P2Y₆ reseptörlerinin MSS'nin amigdala, kaudat nükleus, serebellum, singulat nükleus, globus pallidus, hipokampus,

hipotalamus, lokus seruleus, medial frontal girus, medulla oblongata, nükleus akumbens, parahipokampal girus, putamen, striatum, substantia nigra, superior frontal girus, talamus ve spinal kord gibi incelenen tüm bölgelerinde eksprese edildiği RT-PCR analizleri ile gösterilmiştir (Moore ve ark., 2001). Bu çalışmada P2Y₁₄ reseptörleri incelenmemiş olsa da P2Y₁₄ reseptörlerinin ilk tanımlandığı ve karakterize edildiği makalede bu reseptörlerin de MSS'nin üstte belirtilen tüm bölgelerinde eksprese edildiği bildirilmiştir. P2Y reseptörlerinin ilgili alt tipleri MSS'de lokalize olduğu nöronlarda immünohistokimyasal olarak da gösterilmiştir (Amadio, Montilli, Picconi, Calabresi & Volonté., 2007; Steculorum ve ark., 2017). Dolayısıyla UDP ve UTP'nin reseptörlerini uyarmak suretiyle sinir sisteminde çeşitli etkiler gösteriyor olması son derece muhtemeldir.

2.1.5. P2Y reseptör aracılı sinir sistemi etkileri

P2Y reseptörlerinin MSS'deki çeşitli fonksiyonlara katılımı çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla kanıtlanmıştır. P2Y reseptörlerinin uyarılması nöronların proliferasyonu, farklılaşması ve büyümesi gibi süreçlere katkıda bulunur. Bunun yanı sıra, hücreler arası sinyalleşme, nörotransmisyon ve uzun süreli potansiyasyon (long-term potentiation, LTP) gibi nöronal mekanizmalarda da önemli bir rol oynar (Cansev, 2007). Bunun yanı sıra P2Y reseptörlerinin nöroproteksiyon sağladığı, böylece hücrelerin yaşam süresinin uzatılmasına destek olduğu gösterilmiştir (Cansev, 2007). Bu bulgular, P2Y reseptörlerinin MSS'deki kritik düzenleyici işlevlerini vurgulamaktadır (Şekil 9).



Şekil 9. Üridin nükleotidlerince uyarılan P2Y reseptör aktivasyonunun bazı beyin fonksiyonlarındaki rolü (Cansev, 2007).

Üridin ve UMP'nin henüz tanımlanmış reseptörleri olmasa da sistemik yolla uygulanan üridinin UTP sentez ve salıverilmesini artırarak beyinde kolinerjik nörotransmisyonu artırdığı daha önce gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2015). Kronik oral yolla uygulanan UMP'nin de beyinde asetilkolin (Wang, Albrecht & Wurtman, 2007) ve dopamin (Wang, Pooler, Albrecht & Wurtman, 2005) salıverilmesini uyardığı önceki yıllarda bildirilmiştir. Dolayısıyla üridin ve UMP'nin henüz reseptörleri gösterilmemiş olsa da farklı mekanizmalar aracılığıyla kolinerjik ve dopaminerjik nörotransmisyonu teşvik ettiği bilinmektedir. Bu nedenle, üridin ve UMP'nin merkezi yolla uygulandıklarında MSS aracılığıyla periferde çeşitli etkilere yol açma ihtimalleri bulunmaktadır.

2.1.6. Pirimidinlerin periferik uygulanması ile gözlenen P2Y reseptör aracılı yanıtlar

Periferik uygulamalar sonucu pirimidin bileşiklerinin P2Y reseptör aracılı çeşitli etkileri gösterilmiştir. P2Y reseptörlerinin vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde ifade edildiği ve bu reseptörlerin uyarılmasıyla damar fonksiyonlarının düzenlendiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Wang ve ark., 2002). Örneğin UTP'nin P2Y₂ reseptörlerini ve UDP'nin P2Y₆ reseptörlerini uyarması sonucunda, insanlarda endotel kaynaklı vazodilatasyon meydana geldiği rapor edilmiştir (Wihlborg ve ark., 2003). P2Y reseptörlerinin, endotel kaynaklı vazodilatasyon

yoluyla hipertansiyona karşı koruyucu bir rol oynayabileceği de öne sürülmektedir. Bu doğrultuda, endotelial stres durumlarında P2Y₂ reseptörlerinin uyarılmasıyla vazodilatasyona aracılık ettiği (Wang ve ark., 2015), P2Y₂ reseptörlerinin genetik olarak çıkarıldığı (knock-out; KO) deney hayvanlarında hipertansiyonun ortaya çıktığı (Rieg ve ark., 2007) ve bu reseptörlerin aktivasyonunun renal sodyum ve su reabsorpsiyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (Rieg, Gerasimova, Boyer, Insel & Vallon, 2011). Pirimidin türevlerinin kardiyovasküler etkileriyle ilgili başka ilginç bir bulgu, departmanımızda yapılan bir çalışmada ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, intravenöz uygulanan üridinin doza bağımlı olarak kan basıncını ve kalp hızını düşürdüğü gösterilmiştir (Yılmaz ve ark., 2008). Üridinin henüz bir P2Y reseptörünü hedeflediği kanıtlanmamış olmasına rağmen, bu çalışmada üridinin kardiyovasküler etkilerinin Adenozin A₁ reseptörleri aracılığıyla gerçekleştiği saptanmıştır.

Pirimidin bileşiklerinin periferik mekanizmalar yoluyla metabolik ve endokrin sistem üzerindeki etkilerine dair literatürde çeşitli kanıtlar bulunmaktadır. Örneğin, P2Y₆ reseptörlerinin uyarılmasının izole fare pankreas adacıklarında ve saflaştırılmış beta hücrelerinde insülin sekresyonunu artırdığı farklı çalışmalarla gösterilmiştir (Balasubramanian, de Azua, Wess & Jacobson, 2010; Ohtani, Suzuki, Jacobson & Oka, 2008; Parandeh, Abaraviciene, Amisten, Erlinge & Salehi, 2008). Benzer şekilde, P2Y₁₄ reseptörlerinin gastrik boşalma, glukoz toleransı ve insülin sekresyonu üzerindeki olumlu etkileri, knock-out fare modelleri kullanılarak ortaya konulmuştur (Meister ve ark., 2014). Bu bulgular, UDP'nin P2Y₆ ve/veya P2Y₁₄ reseptörleri aracılığıyla antidiyabetik etki gösterebileceğini desteklemektedir.

Adipoz doku üzerindeki etkiler incelendiğinde, P2Y₄ reseptörünün inhibisyonunun veya delesyonunun kardiyak adipositlerde adiponektin sekresyonunu artırarak kardiyoprotektif bir etki sağladığı ve P2Y₄ reseptörünün adipojenik etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Lemaire ve ark., 2017). Buna karşın P2Y₁₄ reseptörünün uyarılmasının anti-adipojenik bir etki gösterdiği ifade edilmiştir (Zippel ve ark., 2012). Ayrıca yüksek yağlı diyetle obez hale getirilen P2Y₂ reseptör KO farelerde, adipoz dokuda immün hücre infiltrasyonunun ve inflamasyonun azaldığı gözlemlenmiştir (Merz ve ark., 2018).

Bu bulgular UTP ve UDP'nin periferik mekanizmalar yoluyla kardiyovasküler, metabolik ve endokrin regülasyonda önemli roller oynadığını ortaya koymaktadır.

Tez kapsamında ise bu bilgiler ışığında ancak farklı olarak, merkezi yolla uygulanan pirimidin bileşiklerinin leptin ve ghrelin düzeylerini içeren metabolik etkileri ve insülin, glukagon ve glukoz düzeylerini içeren endokrin etkileri incelendi.

2.1.7. Pirimidinlerin merkezi yolla uygulanması ile gözlenen P2Y reseptör aracılı yanıtlar ve MSS etkileri

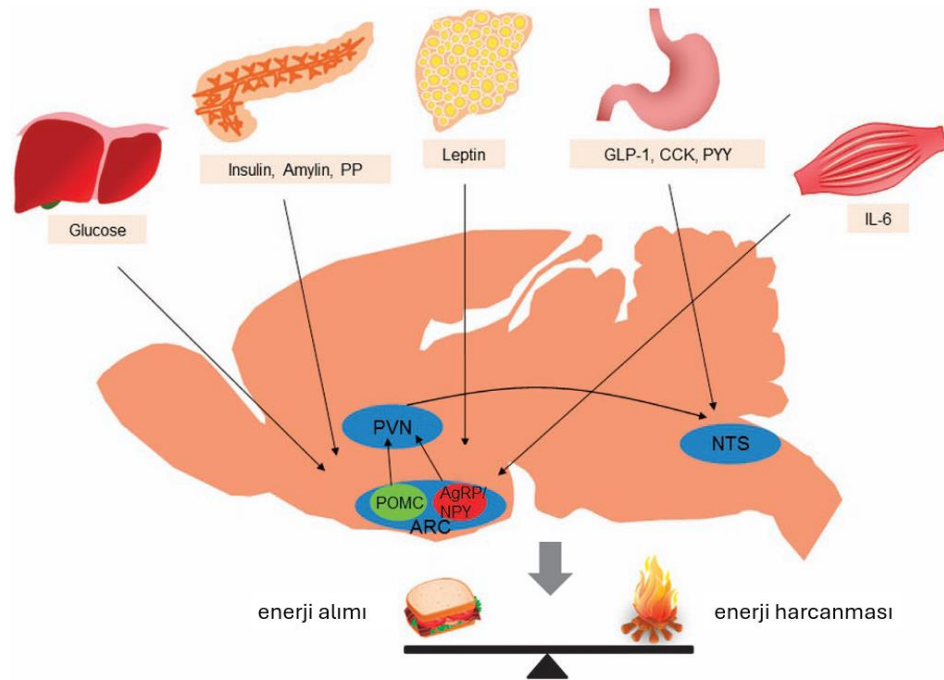
Pirimidin bileşiklerinin bu vücut fonksiyonlarını MSS aracılığıyla düzenleyip düzenlemediğine dair bilgiler son derece sınırlıdır. Önceki bir çalışmada, posterior hipotalamusta (tuberomammiller nükleus, TMN) bulunan histaminerjik nöronların UTP tarafından aktive edildiği gösterilmiştir (Sergeeva ve ark., 2006). Merkezi P2Y reseptörlerinin endokrin ve metabolik düzenlemede oynadıkları role ilişkin yakın zamanlı iki çalışma göze çarpmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, obezite oluşturulan deney hayvanlarında kandaki üridin konsantrasyonlarının yüksek olmasına bağlı olarak hipotalamik UDP miktarının arttığı, merkezi yolla uygulanan UDP'nin P2Y₆ reseptörleri aracılığıyla oreksijenik AgRP nöronlarını uyararak besin alımını teşvik ettiği ve bu etkinin farmakolojik veya genetik inhibisyon ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (Steculorum ve ark., 2015). Aynı grubun takip eden bir diğer çalışmasında ise obezitede P2Y₆ reseptör delesyonunun vücut yağ kütlesini azaltarak insülin duyarlılığını artırdığı ve bu etkinin AgRP nöronlarına spesifik olduğu bildirilmiştir (Steculorum ve ark., 2017). Ancak bahsi edilen bu üç çalışmada da plazma hormon düzeyleri incelenmemiştir. Bu çalışmaların dışında da literatürde merkezi yolla uygulanan pirimidin bileşiklerinin MSS aracılığıyla periferde oluşturduğu yanıtlar hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

2.2. Enerji Metabolizmasının Düzenlenmesinde MSS'nin Rolü

Normal bireylerde besin alımı ve enerji tüketimi, enerji dengesini korumak için oldukça hassas homeostatik mekanizmalarla düzenlenir. Bu süreç yalnızca fiziksel sağlığın sürdürülmesi için değil, aynı zamanda uzun vadeli metabolik denge açısından da kritik öneme sahiptir. Araştırmalar bu düzenlemenin MSS ve özellikle hipotalamus ile gerçekleştiğini göstermektedir (Morton, Meek & Schwartz, 2014).

Beyin, plazmadaki metabolik hormonlar (örneğin insülin, leptin ve ghrelin) ve beyin sapından gelen afferent uyarılar ile besin düzeylerindeki değişimleri algılayarak vücudun enerji durumunu sürekli izler (Berthoud, Sutton, Townsend, Patterson & Zheng, 2006; Yi & Tschöp, 2012). Bu sistem sadece açlık ve tokluk sinyallerini yönetmekle kalmaz, aynı zamanda stres, uyku ve hatta duygusal durum gibi faktörlerden de etkilenir. Özellikle hipotalamustaki özel nöral ağlar, değişen metabolik koşullara göre gıda alımı ve enerji harcamasını uyumlu hale getirir. Örneğin uzun süreli açlıkta enerji tasarrufu sağlanırken, besin alımı sonrası enerji harcaması artırılarak homeostaz korunur. Hipotalamustaki çekirdeklerde bulunan oreksijenik ve anoreksijenik yollar ise gıda alımı ve enerji harcamasında efferent yanıtları oluşturur (Yu & Kim, 2012) (Şekil 10).

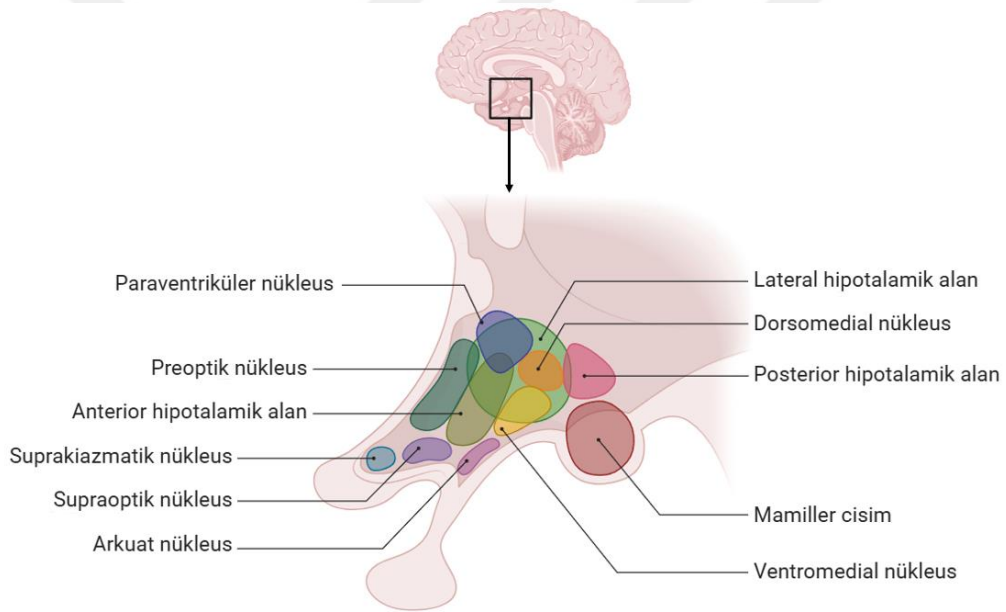
Ancak modern yaşam tarzında dengesiz beslenme ve hareketsizlik gibi faktörler, bu hassas sistemi bozarak obezite ve anoreksiya nervoza gibi metabolik hastalıklara yol açabilir (Liu, Wang, Zheng, Gao & Sun, 2022; Nilsson, Lindfors, Schalling, Hökfelt & Johansen, 2013). Bu yüzden, beynin enerji dengeleme mekanizmalarını anlamak, gelecekte diyabet ve obezite gibi hastalıkların tedavisinde yeni stratejiler geliştirilmesine katkı sağlayabilir.



Şekil 10. Enerji homeostazının korunmasında MSS ve periferik metabolik sinyallerin ilişkisi (Roh ve ark., 2016).

2.2.1. Hipotalamus

Hipotalamus, besin alımının düzenlenmesinde kilit bir organdır ve birçok nöron grubu (nükleus) içerir. Anatomik olarak talamusun alt kısmında, hipofiz bezinin üstünde ve üçüncü ventrikülün çevresinde yer alır. Hipotalamusun lateral zonu açlık merkezi, medial zonu ise tokluk merkezi olarak kabul edilmektedir. Lateral zonda yerleşik lateral hipotalamus (LH) ile medial zonda yerleşik arkuat nükleus (ARC), ventromedial nükleus (VMN), dorsomedial nükleus (DMN) ve paraventriküler nükleus (PVN) besin alımının kontrolünde rol oynayan ve birbirleriyle bağlantılı hipotalamik çekirdek yapılarıdır (Şekil 11).



Şekil 11. Hipotalamus ve hipotalamik çekirdekler (Biorender ile hazırlanmıştır).

Hipotalamus, birçok homeostatik mekanizmanın kontrol edildiği bir merkezdir. Hipotalamusun işlevleri; açlık ve tokluğun kontrolü, sıvı dengesinin düzenlenmesi, vücut sıcaklığının düzenlenmesi, uyku-uyanıklık döngüsünün sağlanması, otonom sinir sistemi düzenlemeleri, duygusal ve davranışsal işlevler ve ön hipofiz bezini uyarmak suretiyle hormon üretimi/salgılanmasını düzenlemedir.

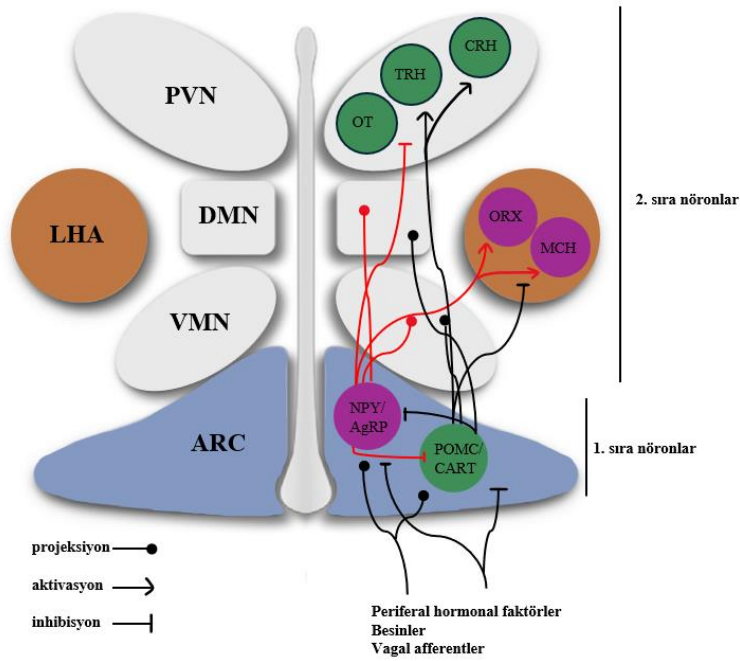
Hipotalamus, adipoz doku, pankreas ve gastrointestinal sistem (GİS)'den gelen periferik sinyalleri doğrudan kan yoluyla ya da dolaylı olarak beyin sapından gelen afferent nöronal yollar aracılığıyla algılar.

2.2.1.1. Arkuat nükleus (ARC)

ARC hipotalamusun mediobazalinde bulunur. Hipotalamik ARC, gözenekli kapillerler açısından zengin sirk ventrik ler organlardan biri olan median eminensin yanında bulunur ve     nc  ventrikülü çevreler. Median eminensdeki gözenekli kapillerler kan beyin bariyerinin geçirgen olmasına sebep olur ve böylece sistemik dolaşımdaki hormonlar ve besinler ile beyin omurilik sıvısındaki (BOS) bileşenler ARC'ye kolayca ulaşabilir (Zhan, 2018). Anatomik olarak ARC, sistemik dolaşımla periferden gelen metabolik sinyalleri periferik ve merkezi nöronal girdilerle entegre ederek, toplu bir geri bildirim oluşturan hipotalamik bir bölge olarak kabul edilir.

ARC'de iki farklı ve işlevsel olarak antagonistik nöronal popülasyon bulunur; bir grup nöron, oreksijenik (iştah artırıcı) nöropeptidler olan nöropeptid Y (NPY) ve AgRP üretirken, diğ r grup nöronlar anoreksijenik (iştah azaltıcı) nöropeptidler olan proopiomelanokortin (POMC) ve kokain-amfetaminle düzenlenen transkript (CART)  retir. Bu nöronlar, leptin, insülin, ghrelin gibi periferik metabolik hormonların ve besinlerin etkilediği birinci sıra nöronlardır (Schwartz, Woods, Porte, Seeley & Baskin, 2000).

POMC nöronları, aksonal projeksiyonlarını PVN, VMN ve LH gibi hipotalamik bölgelerdeki ikinci dereceden nöronlara ve beyin sapı ile omurilikteki otonom preganglionik nöronlara gönderir (Bouret, Draper & Simerly, 2004) (şekil 12).



Şekil 12. Hipotalamik çekirdekler arasındaki projeksiyonlar (Le Thuc ve ark., 2017).

Anoreksijenik nöropeptid olan α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH), POMC'nin posttranskripsiyonel işlenmesiyle üretilir ve POMC nöronlarının presinaptik terminallerinden salıverilir. α -MSH, ikinci dereceden nöronlardaki melanokortin-3 ve -4 reseptörlerine (MC3R ve MC4R) bağlanarak katabolik yolları aktive eder, bu da besin alımının azalmasına ve enerji tüketiminin artmasına yol açar (Könner, Klöckener & Brüning, 2009). Farelerde MC4R'nin hedeflenerek silinmesi, aşırı yeme (hiperfaji), enerji harcamasında azalma ve obeziteye neden olur (Balthasar ve ark., 2005; Huszar ve ark., 1997). İnsanlarda ise MC4R mutasyonları, erken başlangıçlı ciddi obezite vakalarının yaklaşık %6'sından sorumludur (Tao, 2005). Bu durum, merkezi melanokortin sisteminin normal vücut ağırlığının korunmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Hipotalamik melanokortinerjik nöronların sürekli olarak besin alımını baskıladığı düşünülse de (Fan, Boston, Kesterson, Hruby & Cone, 1997), MC4R aktivasyonu ile enerji harcamasında artış görülür. Bu durum, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu sonucu kahverengi yağ dokusunun (BAT) uyarılmasıyla gerçekleşir (Ste Marie, Miura, Marsh, Yagaloff & Palmiter, 2000; Voss-Andreae ve ark., 2007).

Endojen MC-3/4R invers agonisti olan AgRP, NPY/AgRP üreten nöronların terminallerinden ikinci dereceden nöronların sinaptik boşluğuna salınır ve burada α -

MSH ile MC3R ve MC4R reseptörleri için rekabet ederek onun iştah baskılayıcı etkilerini engeller (Ollmann ve ark., 1997). Ayrıca AgRP/NPY nöronları, ARC içerisinde inhibitör gama-aminobütirik asit (GABA) salıvererek POMC nöronlarını doğrudan inhibe eder (Cowley ve ark., 2001). İlginç bir şekilde, AgRP→POMC sinaptik bağlantılarının optogenetik aktivasyonu, POMC nöron aktivitesini güçlü bir şekilde baskılasa da AgRP nöronlarının POMC nöronlarını baskılamasının ani beslenme başlatımı için gerekli olmadığı gösterilmiştir (Atasoy, Betley, Su & Sternson, 2012). NPY/AgRP nöronlarının genç farelerde seçici olarak yok edilmesi, besin alımında ve vücut ağırlığında önemli bir azalmaya yol açar (Bewick ve ark., 2005). Bu durum, bu nöronların besin alımını artırmada ve kilo kaybını önlemede kritik olduğunu göstermektedir.

NPY uygulaması, Y1 veya Y5 reseptörleri aracılığıyla besin alımını uyarır (Yulyaningsih, Zhang, Herzog & Sinsbury., 2011). NPY, hızlı beslenme uyarımı için gerekli iken AgRP daha uzun süreli beslenme davranışını uyarır (Bingham, Anderson, Reuter, Stallings & Parker, 2008).

AgRP/NPY projeksiyonlarından PVN dışındaki nöronlara, özellikle parabrakial nükleusa (PBN) yapılan GABA salınımı da besin alımının uyarılmasında rol oynar (Wu ve ark., 2009, 2012). Ancak, yalnızca AgRP/NPY→PBN bağlantısının aktive edilmesi beslenmeyi başlatmak için yeterli değildir (Atasoy ve ark., 2012). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, AgRP nöronlarının optogenetik aktivasyonu ile farklı AgRP nöron alt popülasyonlarının farklı beyin bölgelerine projeksiyon yaptığı gösterilmiştir. Bu projeksiyonlardan bazıları, özellikle PVN ve LH'ye gidenler, AgRP nöronlarının somatik aktivasyonuna benzer şekilde bağımsız olarak beslenmeyi başlatabilirken, PBN'ye olan projeksiyonlar aynı etkiyi göstermez (Betley, Cao, Ritola & Sternson, 2013).

POMC ve AgRP/NPY nöronlarının, PVN gibi diğer hipotalamik çekirdeklerden gelen glutamaterjik geri bildirimlerle de aktive olduğu bilinmektedir. Buna karşılık, PVN nöronları, beslenmeyi teşvik eden LH nöronlarından inhibitör sinyaller alır. Bu etkileşimler, besin alımını hassas bir şekilde düzenleyen bir yanıt oluşturur (Waterson & Horvath, 2015).

2.2.1.2. Paraventriküler nükleus (PVN)

PVN'nin yerleşimi ön hipotalamusta üçüncü ventrikülün üst kısmına bitişik şeklindedir. Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), tiotropin salgılatıcı hormon (TRH), somatostatin, vazopressin ve oksitosin gibi katabolik etkili nöropeptidler sentezler ve salgılar (Kohno ve ark., 2008). Ayrıca PVN, periferik metabolik organlara giden sempatik sinir çıkışını kontrol ederek yağ asidi oksidasyonunu ve lipolizi artırır (Foster, Song & Bartness, 2010). PVN'nin tahrip edilmesi ve PVN gelişiminde kritik bir transkripsiyon faktörü olan Sim1'in eksikliği, hiperfajiye ve obeziteye yol açar (Leibowitz, Hammer & Chang, 1981). Bu durum, PVN'nin besin alımını ve kilo artışıını inhibe eden önemli bir rol oynadığını gösterir.

2.2.1.3. Ventromedial nükleus (VMN)

VMN, ARC'den gelen nöral projeksiyonları alır ve ARC, DMN, lateral LH ve beyin sapı bölgelerine projeksiyonlar gönderir. VMN glukoz ve leptin algılayan nöronlar içerir (Fei ve ark., 1997; González, Reimann & Burdakov, 2009). Ayrıca VMN'de anoreksijenik nöropeptid olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) üretilir (Xu ve ark., 2003). VMN'nin tahrip edilmesi hiperfaji, obezite ve hiperglisemiye yol açar (Shimizu, Oomura, Plata-Salamán & Morimoto, 1987). Bu nedenle VMN, tokluk hissinin oluşmasında ve glukoz homeostazının sürdürülmesinde önemli bir bölge olarak kabul edilir.

2.2.1.4. Dorsomedial nükleus (DMN)

DMN, ARC'den gelen yüksek düzeyde NPY ve α -MSH terminalleri içerir (Jacobowitz & O'Donohue, 1978). DMN'nin tahrip edilmesi de hiperfaji ve obeziteye neden olur (Bernardis & Bellinger, 1987). Bu bölgede leptine duyarlı gama-aminobütirik asit (GABA) nöronların alt popülasyonu bulunur (Vong ve ark., 2011). Leptin bu nöronların önemli bölümünü hiperpolarize ederek oreksijenik etkileri önler (Otgon-Uul, Suyama, Onodera & Yada, 2016). Faber ve ark. leptine duyarlı nöronların susturulmasının gıda alımını arttırdığını rapor etmiştir (Faber ve ark., 2021).

2.2.1.5. Lateral hipotalamus (LH)

PVN, VMN ve DMN'nin aksine, LH'nin elektriksel uyarımı hiperfajiye neden olurken, tahrip edilmesi ise hipofaji ve kilo kaybına yol açar (Stuber & Wise, 2016). Bu nedenle LH, bir beslenme merkezi olarak kabul edilir. LH, melanin konsantre edici hormon (MCH) ve oreksin (hipokretin) gibi oreksijenik nöropeptidleri üreten iki nöronal popülasyon içerir. ARC'den gelen NPY/AgRP ve α -MSH terminalleri, MCH ve oreksin üreten nöronlarla temas halindedir (Broberger, De Lecea, Sutcliffe & Hökfelt, 1998). Oreksin üreten nöronlar, glukoz algılamada ve uyku-uyanıklık döngüsünün düzenlenmesinde de rol oynar (Ohno & Sakurai, 2008). Oreksin reseptör-2 veya oreksin genlerindeki değişiklikler, hayvan modellerinde ve insanlarda narkolepsiye neden olur (Hungs & Mignot, 2001). Öte yandan, MCH veya MCH-1 reseptörünün genetik olarak silinmesi farelerde kilo alımını azaltır, bu da MCH'nin endojen bir oreksijenik molekül olduğunu gösterir (Marsh ve ark., 2002). Ayrıca LHA'daki GABA nöronlarının PVN'yi hiperpolarize ederek besin alımını indüklediği bildirilmiştir (Mangieri ve ark., 2018).

2.2.2. Nükleus traktus solitarius (NTS)

Beyin sapı da besin alımının düzenlenmesinde önemli bir bölgedir. Gastrointestinal sistemden gelen tokluk sinyalleri, duyuşal vagus siniri aracılığıyla NTS'ye iletilir. Duyuşal vagal liflerin kesilmesi, öğün büyüklüğünü ve mide boşaltım hızını azaltır, bu da vagal afferentlerin yemek ile ilgili sinyalleri beyine ilettiğini doğrular (Schwartz, 2000). NTS sirküventriküler organ olan area postrema'ya yakın konumdadır. Bu nedenle, ARC gibi NTS de hem hormonal hem de nöronal sinyalleri almak için uygun bir konumdadır (Stanley, Wynne, McGowan & Bloom, 2005). NTS, PVN'den geniş nöronal projeksiyonlar alır ve aynı şekilde PVN'ye projeksiyonlar gönderir (Geerling, Shin, Chimenti & Loewy, 2010). Hipotalamik nöronlar gibi NTS nöronları da glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), NPY ve POMC üretir ve periferik metabolik sinyalleri algılar (Ahima & Antwi, 2008). Örneğin NTS'deki POMC nöronları, dışarıdan verilen leptine yanıt olarak STAT3 aktivasyonu gösterir (Ellacott, Halatchev & Cone, 2006). Bu nedenle, dolaşımdaki hormonlar ve besinler hem

hipotalamus hem de beyin sapı üzerinde etki ederek metabolik sinyalleri beyine iletebilir.

2.2.3. Mezolimbik sistem

Hipotalamik nöronlar doğrudan mezolimbik ödül sistemi ile bağlantılıdır. Beyin ödül sistemi, lezzetli yiyeceklerin alımını içeren hedonik beslenme kontrolünde rol oynar. Diğer bağımlılık davranışlarında olduğu gibi, mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik yollar bu süreçte yer alır. Lezzetli yiyeceklerin alımı, ventral tegmental alanda (VTA) dopamin salıverilmesini uyarır ve VTA'dan nükleus akumbense uzanan sinir yollarını aktive eder.

İlginç bir şekilde, hedonik beslenme metabolik sinyaller tarafından da modüle edilir. Leptin, VTA'daki dopaminerjik nöronlara etki ederek beslenmeyi baskılar. Tersine, hedonik beslenme tokluk sinyallerini bastırabilir (Hommel ve ark., 2006). D₂ reseptöründen yoksun fareler, leptine karşı daha hassas hale gelir (Kim ve ark., 2010).

Açlık sırasında meydana gelen düşük glukoz seviyeleri, LH'deki glutamat ve oreksini birlikte ifade eden nöronları aktive eder. Bu nöronlar, VTA'daki dopaminerjik nöronlara projeksiyon yaparak bu nöronları uyarır (Sheng, Santiago, Thomas & Routh, 2014). Buna ek olarak, LH'den VTA'ya projeksiyon yapan inhibitör GABAerjik nöronların aktivasyonu, besin alımını ve özellikle kalorik ödüle yönelik davranışları artırır (Jennings ve ark., 2015). Benzer şekilde, yakın tarihli iki çalışma, LH'den VTA'ya giden GABAerjik projeksiyonların aktivasyonunun, 'sükroz arayışı' gibi kompulsif davranışları ve beslenmeyle ilişkili davranışları güçlendirdiğini göstermiştir (Barbano, Wang, Morales & Wise, 2016; Nieh ve ark., 2015).

2.2.4. İştahın düzenlenmesinde rol oynayan nörotransmitterler

2.2.4.1. Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), MSS ve periferik organlarda çeşitli roller üstlenen önemli bir monoamindir. Periferde, gastrointestinal sistemdeki enterokromafin hücrelerinde sentezlenir. MSS'de ise çoğunlukla dorsal rafe nöronları tarafından üretilir. Serotonin üreten bu nöronlar, hipotalamustaki ARC de dahil olmak

üzere birçok bölgeye projeksiyon yapar. Bu bölgelerde POMC ve AgRP nöronları gibi önemli sinir hücreleri bulunur (Heisler ve ark., 2006; Marston, Garfield & Heisler, 2011).

POMC nöronları, 5-HT'nin etkilerine 5-HT_{2C} reseptörleri aracılığıyla yanıt verir. Bu reseptörlerin aktive olması, melanokortin sistemi uyararak iştahı baskılayıcı etkiler oluşturur. Buna karşılık, AgRP nöronları üzerinde bulunan 5-HT_{1B} reseptörlerinin aktivasyonu, hücre membranında hiperpolarizasyona neden olur ve böylece oreksijenik (iştah artırıcı) etkiler sınırlandırılır (Garfield & Heisler, 2009; Marston ve ark., 2011).

Serotonerjik bileşiklerin kısa süreli uygulanması, ARC'de POMC gen ekspresyonunu artırabilir (Choi, Blake, Cole & Fernstrom, 2006). Periferik serotonin KBB'den kolayca geçemediğinden, doğrudan merkezi etki göstermesi beklenmez (El-Merahbi, Löffler, Mayer & Sumara, 2015). Ancak, dolaylı etkilerini vagal afferent liflerdeki 5-HT₃ reseptörlerini aktive ederek gerçekleştirebilir. Bu mekanizmayı destekleyen bir çalışmada, gastrik distansiyon ile bağırsaklardan salınan serotonin seviyelerinin arttığı ve bunun PVN'de nöronal aktivasyonu tetiklediği görülmüştür. Bu etki vagotomi yapılmış hayvanlarda gözlenmemiştir, bu da vagal yolların önemini vurgulamaktadır (Mazda, Yamamoto, Fujirama & Fujimiya, 2004).

2.2.4.2. Norepinefrin

Norepinefrin MSS'de, özellikle dorsal vagal kompleks ve lokus seruleus gibi beyin sapı bölgelerinde sentezlenir. Bu bölgelerden çıkan norepinefrin sinyalleri, kaudal olarak omuriliğe; rostral yönde ise hipotalamus, talamus ve korteks gibi beyin bölgelerine uzanır. Bu geniş projeksiyon ağı, norepinefrinin hem otonomik düzenleme hem de davranışsal yanıtlar üzerinde çok yönlü etkiler oluşturmasını sağlar.

Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda, norepinefrin enjeksiyonunun PVN'deki anoreksijenik bölgeleri inhibe ederek hiperfajiye yol açtığı gözlenmiştir. Bu durum, norepinefrinin hipotalamustaki rolünün, enerji alımını düzenleyen nöronlarla olan etkileşimine bağlı olduğunu göstermektedir.

Leptin geni bulunmayan ve bu nedenle obezite geliştiren (ob/ob) fare modellerinde, PVN ve LH'de yüksek norepinefrin seviyeleri tespit edilmiştir. Bu

bulgu, leptin eksikliğinin norepinefrin sinyalini artırarak, iştahı kontrol eden mekanizmaları bozabileceğini ve bu nedenle aşırı yeme davranışına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Oltmans, 1983; Schwartz ve ark., 2000).

2.2.4.3. Dopamin

Dopamin MSS’de önemli bir nörotransmitterdir ve tirozin amino asidinden üretilir (Morton, Cummings, BaskinBarsh & Schwartz, 2006). Hipotalamusta dopaminerjik nöronlar, özellikle ARC, DMH ve LH’de bulunur (Baik, 2021). Hipotalamustaki dopaminerjik nöronlar, ARC’deki GABAerjik ve POMC nöronları ile iletişim kurar ve PVN ile LH’ye projeksiyon yapar (Negishi ve ark., 2020).

Dopamin reseptörlerinden DR₁, suprakiazmatik çekirdek, PVN, LHA, VMH ve DMH’de bulunurken, DR₂ ise LHA, PVN, VMH ve ARC’de ifade edilir (Baik, 2021). Dopaminin beslenme üzerindeki merkezi etkisi, hangi çekirdekte, hangi reseptörün devreye girdiğine ve vücudun genel enerji durumuna bağlıdır (Ramos, Meguid, Campos & Coelho, 2005). Dopamin, PVN ve ARC’deki NPY nöronlarındaki DR₂’ye bağlandığında, bu nöronları inhibe eder. Bunun sonucunda NPY seviyeleri düşer ve NPY, DMH’deki NPY reseptörlerine bağlanamaz. Bu durum, DMH’nin uyarılmasını engeller ve besin alımı azalır (Baik, 2021; Crowley ve ark., 2005).

Ayrıca dopamin, POMC nöronlarındaki DR₁ reseptörlerine bağlanarak bu nöronları aktive eder. POMC, MCR4 aracılığıyla DMH’deki oreksijenik sinyalleri inhibe eder. Sonuç olarak, farelerde dolaylı etkilerle besin alımı baskılanır (Zhang & Van Den Pol, 2016).

2.2.4.4. Asetilkolin

Lateral hipotalamusa lokal nikotin infüzyonları, besin alımını azaltabilir (Yang, Blaha, Meguid, Oler & Miyata, 1999). Lateral hipotalamus dilimlerinde yapılan çalışmalarda, nikotin uygulamasının GABAerjik nörotransmisyonu artırdığı görülmüştür (Jo, Wiedl & Role, 2005). Nikotin hipotalamusun diğer bölgelerinde de besin alımıyla ilişkili nöropeptidlerin ekspresyonunu değiştirir. Örneğin, beyine enjekte edildiğinde besin alımını artıran NPY ile tokluk sinyalleri ile ilişkili CART

gibi nöropeptidlerin ekspresyonu, nikotin maruziyeti ile dinamik olarak düzenlenir (Calarco, Lee & Picciotto, 2017; Chen ve ark., 2008; Fornari ve ark., 2007; Frankish ve ark., 1995; Li ve ark., 2000; Martínez de Morentin ve ark., 2012).

Nikotin ARC'deki hücrelerin ateşleme hızını artırabilir. Ancak nikotinin sinyal değişikliklerini nasıl düzenlediği ve bu mekanizmanın besin alımını azaltmaya nasıl yol açtığı henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Nikotinin bu etkileri, hipotalamustaki farklı nöral ağlar ve nöropeptid sistemleri ile etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır.

2.2.5. Besin alımının düzenlenmesinde görevli peptitler

Besin alımını kontrol eden peptitler sadece MSS'de değil aynı zamanda sindirim sistemi ve yağ dokusu gibi periferik organlarda da sentezlenir ve salgılanır. Sindirim sisteminden yirmiden fazla farklı peptit salgılanır ve bu peptitler hem lokal hem de sistemik etkiler gösterir.

Sindirim sisteminde üretilen bu peptitler, mide ve ince bağırsakların hareketliliğini düzenleyerek gastrik distansiyona (midenin genişlemesi) ve bağırsak geçiş süresinin uzamasına neden olur. Bu süreçler, öğünler arasındaki tokluk hissini uzatarak beslenme davranışını etkiler.

Periferik peptitler yalnızca lokal etkilerle sınırlı kalmaz; MSS üzerinde de önemli rol oynar. Hipotalamustaki sinyalleri düzenleyerek besin alımını doğrudan etkilerler (Sam, Troke, Tan & Bewick, 2012).

Peptitlerin Sınıflandırılması:

Besin alımını düzenleyen peptitler iki temel kategori altında sınıflandırılabilir:

1. Ekspresyon Yerlerine Göre:

- Merkezi Peptitler: MSS'de sentezlenen peptitler.
- Periferik Peptitler: Sindirim sistemi ve yağ dokusunda üretilen peptitler.

2. Beslenme Davranışına Etkilerine Göre:

- Oreksijenik Peptitler: İştahı artıran peptitler.
- Anoreksijenik Peptitler: İştahı azaltan peptitler.

Bu sınıflandırma, besin alımının fizyolojik kontrol mekanizmalarını anlamak için önemlidir. Tablo 1, bu peptitlerin sınıflara göre örneklerini ve etkilerini detaylı bir

şekilde açıklamaktadır. Bu sistematik yaklaşım, beslenme düzeninin biyolojik temellerini kavramada temel bir rehber oluşturur (Tablo 1).

Tablo 1. Besin alımı ve enerji homeostazı üzerine etkili peptitler.

		Sentezlenip salındıkları lokasyona göre	
		Merkezi Peptitler	Periferik Peptitler
Etki Mekanizmalarına Göre	Oreksijenik peptitler	AgRP NPY MCH Oreksin Galanin Galanin-benzeri peptit Serebellin1	Ghrelin
	Anoreksijenik peptitler	CART α -MSH GLP1 ve GLP2 CRH Nörotensin Nesfatin Nöronostatin	Leptin PYY GLP-1 Oksintomodülün Kolesistokinin Pankreatik polipeptit Glukagon İnsülin Bombesin Obestatin

2.3. Glukoz Homeostazı

Glukoz vücudun enerji ihtiyacını karşılayan en temel maddelerden biri olup, sindirimi, dokulara alımı, karaciğerde depolanması ve gerektiğinde kana geri salınması gibi süreçler titizlikle düzenlenir. Kan glukoz seviyesinin gün boyunca genellikle sabit kalması, glukoz homeostazisi olarak adlandırılan karmaşık bir fizyolojik mekanizmanın sonucudur. Bu mekanizma, birçok organın bir arada ve uyum içinde çalışmasını gerektirir. Glukoz homeostazında karaciğer, pankreas, kaslar ve yağ dokusu kritik öneme sahiptir. Bu organların koordinasyonunu ise insülin, glukagon, kortizol, epinefrin ve büyüme hormonu gibi endokrin hormonlar sağlar (Tucker & Tan, 2017).

Glukoz metabolizmasının düzenlenmesi, glukoz homeostazını korumada merkezi bir rol oynar ve hormonların bu süreçteki etkisi oldukça büyüktür (Ramnanan, Edgerton & Cherrington, 2012). Pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin, kandaki glukoz seviyesinin artışıyla aktive olur ve glukozun hücre içine alınmasını destekler. Bu süreç vücutta hem hormonal hem de nöronal düzenleyici mekanizmaları harekete geçirir. Geleneksel olarak glukoz homeostazisinin yalnızca periferik mekanizmalarla kontrol edildiği düşünülse de son araştırmalar nöronal kontrol

sistemlerinin bu süreçteki önemini ortaya koymuştur. Özellikle kan glukoz seviyelerindeki değişikliklerin kontrolünde nöronal mekanizmaların dikkate alınmasının, tedavi yaklaşımlarını daha etkili hale getirebileceği belirtilmektedir (Dunning & Taborsky, 1991).

2.3.1. Karaciğerin rolü

Glukoz homeostazisinde pankreas, kas ve yağ dokuları önemli işlevlere sahip olsa da karaciğer bu süreçte merkezi bir rol üstlenir. Karaciğer hem glukoz üretimi hem de depolama işlevi ile kan glukoz seviyesini düzenler. Gerektiğinde glukozu sistemik dolaşıma salarak kan şekerini artırır, gerektiğinde ise glukozu dolaşımdan çekerek depolama yoluyla düşürür. Bu özelliğiyle karaciğer, kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde kritik bir denge mekanizması oluşturur.

Sağlıklı bireylerde, bazal (postabsorptif) durumda karaciğerin glukoz üretimi, beyin ve insüline duyarlı dokuların glukoz tüketimi ile dengede tutulur. Postabsorptif dönemde karaciğerin saatte ürettiği yaklaşık 10 gram glukozun 6 gramı beyin tarafından, kalan 4 gramı ise karaciğer, kas ve yağ dokuları gibi insüline duyarlı dokular tarafından kullanılır. Bu süreç, kan glukoz seviyesinin normoglisemik aralıkta sabit kalmasını sağlar.

Açlık durumunda kan glukoz seviyesinin düzenlenmesi, karbonhidrat metabolizmasının çok yönlü ve karmaşık bir sürecidir. Açlık süreci, postabsorptif dönem (yemek sonrası 6-12 saat), kısa süreli açlık (12-72 saat) ve uzun süreli açlık (2 hafta veya daha uzun süre) olmak üzere üç evrede incelenir. Postabsorptif dönemde, kan glukozunun ana kaynağı karaciğerdeki glikojenin mobilizasyonudur. Kısa süreli açlıkta glikojenoliz hızlanır ve karaciğerdeki glikojen rezervleri tamamen tükenir. Bu süreç genellikle 12 saat içinde sona ererken, daha sonra glikoneogenez devreye girer ve kan glukozu üretimini sürdürür (Lindsey, Faloona & Unger, 1975). Bu aşamada, glukozun öncelikli olarak hayati organlar için kullanılması sağlanır.

Uzun süreli açlık döneminde, glikoneogenez daha da artar ve bu süreç, doku proteinlerini korumayı amaçlar. Hiperglukagonemi, beynin enerji kaynağı olarak yağ asitleri ve keton cisimlerine yönelmesini teşvik eder. Serbest yağ asitlerinin artışı, periferik dokuların glukoz kullanımını kısıtlar (Tai & Pek, 1976). Bununla birlikte, keton cisimleri, MSS dahil olmak üzere birçok doku için alternatif bir enerji kaynağı

sağlar. Bu dönemde glukagon seviyesindeki yükselişe bağlı olarak bazal insülin salınımı azalır. Bu azalma, pankreatik β -hücrelerin glukoz verdiği yanıtın zayıflamasıyla ilişkilidir. Moleküler düzeyde yapılan çalışmalar, postabsorptif dönemde sAMP seviyelerinin azaldığını (Javed & Fairweather, 2019) ve uzun süreli açlıkta glikokinaz aktivitesinin düştüğünü ortaya koymaktadır (Agius, 2016).

Glukozun düzenlenmesinde karaciğer hem ilkel hem de daha karmaşık mekanizmalar aracılığıyla kritik bir rol oynar. İlkel düzeyde, hepatositlerdeki glukoz konsantrasyonu doğrudan karaciğerin glukoz üretimini kontrol eder. Yemek sonrası portal vendeki glukozun hepatositlere girişi, fosforilaz enziminin aktivitesini allosterik bir mekanizmayla azaltır ve bu durum glikojenolizi inhibe ederek karaciğerin glukoz üretimini durdurur (hepatik inhibisyon). Kan glukoz seviyesi belirli bir eşiğe ulaştığında, hepatositler glukozu kullanmaya başlar. Endokrin düzenlemenin devreye girmesiyle birlikte glikojen sentetaz aktivitesi artar; bu da glikojen depolanmasını sağlarken, glikoliz yoluyla enerji üretimiyle kan glukoz seviyesi düşürülür.

Endokrin sistem, karaciğerin glukozu kana verme eşiğini belirlemede anahtar rol oynar. İnsülin, bu eşiği düşürürken, glukagon ve kortizol gibi karşı düzenleyici hormonlar kan glukoz seviyesini artırır. Açlık sırasında, glukagonun artışı glikojenolizi hızlandırarak karaciğerden glukoz salınımını uyarır. Glukagon seviyesindeki 10 pg/ml'lik bir artış, hepatik glukoz üretiminde %25'lik bir yükselişe neden olabilir (Taborsky, 2010).

Daha gelişmiş organizmalarda, karaciğerin glukoz üretimini düzenleyen ilkel ve hormonal mekanizmalara ek olarak, adrenal medulla ve MSS aracılığıyla çalışan bir mekanizma daha bulunur. Bu mekanizma normal koşullarda değil yalnızca şiddetli hipoglisemi ya da yaşamı tehdit eden stres durumlarında devreye girer. İlkel mekanizma karaciğerin biyokimyasal ve enzimatik işleyişine dayanırken, endokrin düzenleme çevresel değişimlere hızlı adaptasyonu sağlar. Acil nörohormonal mekanizmalar ise hayati organları, özellikle de MSS'yi, hipoglisemiye karşı korumayı hedefler.

Şiddetli stres veya hipovolemik şok gibi acil durumlarda, kasların artan glukoz talebi karaciğerin aşırı glukoz üretimiyle dengelenir. Adrenerjik uyarılar, pankreastaki adacık hücrelerinden glukagon salgısını artırırken, insülin salınımını baskılar. Bu durum, beyin ve kaslar dışındaki dokuların glukoz kullanımını azaltırken, kasların

glukoz tüketimini sürdürmesine ve beyin için gerekli glukozun korunmasına olanak tanır.

Glukagonun fizyolojik seviyelerinin, yağ dokusundan gliserol (Jensen, Caruso, Heiling & Miles., 1989) veya kas dokusundan glukoneojenik amino asitlerin (Kettelhut, Wing & Goldberg, 1988) mobilizasyonu üzerinde doğrudan bir etkisi yoktur; bu düzenleme esas olarak insülin seviyesindeki azalmadan kaynaklanır (Taborsky, 2010).

Ağır hipovolemik şok durumunda, karaciğer glukoz üretimini artırarak hayati organların enerji ihtiyacını karşılar. Hipovolemik şok serebral kan akışını azaltırken, yükselen arteriyel glukoz seviyeleri, azalan kan akımına rağmen beyin dokusuna yeterli glukoz taşınmasını sağlar (Tai & Pek, 1976). Beyin, bu süreçte pankreas adacık sistemini kontrol ederek glukagon salgısını artırırken, insülin salıverilmesini baskılar (Sandoval, Obici & Seeley, 2009). Ayrıca büyüme hormonu, β -endorfin ve kortizol gibi stres hormonları, glukagon salıverilmesini destekler. Özellikle kortizol, glukagonun karaciğer üzerindeki etkisini güçlendirir (Unger, 1981).

2.3.2. Kas dokusunun rolü

Vücuttaki en büyük organ olan iskelet kası glukoz homeostazını sağlamada kritik bir rol oynar. Yemekten sonra insülin tarafından uyarılan glukoz alımının ana merkezidir. Sağlıklı bir insan iskelet kası glukoz infüzyonu sonrası glukozun yaklaşık %75'ini kullanır. Örneğin fizyolojik hiperinsülinemi durumunda, bacak kası glukoz alımı zamanla doğrusal olarak artar ve yaklaşık 10 mg/kg'lık bir plato değerine ulaşır (Thiebaud ve ark., 1982). İnsüline direnç gelişmesi durumunda bu sistemin hasarlandığı bildirilmiştir (DeFronzo, Ferrannini, Sato, Felig & Wahren, 1981, 1985).

Fiziksel egzersiz sırasında salıverilen insülin sinerjistik etki göstererek glukozun iskelet kasında depolanmasını sağlar (DeFronzo ve ark. 1981a). İskelet kas kütlelerinin kaybı diyabet ile ilişkilidir. Tip 1 diyabetteki insülin yetersizliği katabolizmayı artırarak ciddi kas ve yağ doku kaybına yol açar (Koopman & van Loon, 2009).

2.3.3. Yağ dokusunun rolü

Açlık durumunda plazma glukoz, amino asit ve triaçilgliserol seviyeleri düşerken, insülin salınımı azalır ve glukagon salınımı artar. İnsülin/glukagon oranındaki bu düşüşle birlikte, dolaşımdaki glukoz seviyesi korunabilmek için sırayla triaçilgliserol, glikojen ve protein yıkımı gerçekleşir. Bu süreçte karaciğer, yağ dokusu, kas ve beyin arasında substrat değişimi gerçekleşir. Bu değişim sayesinde beyin ve glukoz bağımlı dokular için yeterli plazma glukoz seviyesi sağlanırken, diğer dokuların enerji ihtiyacı yağ dokusundan serbest bırakılan yağ asitleri ile karşılanır. Ayrıca karaciğerde keton cisimlerinin üretimi artar ve bu moleküller dolaşıma katılarak enerji ihtiyacını destekler (Winter, 2006).

Eğer yağ ve kas dokuları insüline duyarsız hale gelir ve glukozu hücre içine alamazsa, kan şekeri seviyeleri yükselir. Normalde bu durumda karaciğer glukoz üretimini durdurur ve fazla glukozu glikojen formunda depolar. Ancak insülin direncine sahip bireylerde karaciğer, glukoz üretimini sürdürür ve ürettiği glukozu kana salmaya devam eder. İnsülin direncinden etkilenen bir diğer önemli doku ise yağ dokusudur. Yağ dokusu yalnızca bir enerji deposu olmakla kalmaz, aynı zamanda endokrin bir organ gibi işlev görür. Sağlıklı bireylerde insülin, yağların yağ dokusunda depolanmasını teşvik eder. Ancak insülin direnci olan kişilerde, yağ dokusu bu yağları hücre içine alamaz ve dolaşıma serbest yağ asitleri salınır.

Kan glukoz seviyesinin düşmemesi, dolaşımdaki yağların temizlenememesi ve serbest yağ asitlerinin artışı, pankreası daha fazla insülin salgılamaya zorlar. Pankreasın insülin üretimini daha fazla artırması mümkün olmadığında, kan glukoz seviyesi yükselir ve tip 2 diyabet gelişimi gözlemlenir.

2.3.4. Pankreasın rolü

Pankreas hem ekzokrin hem de endokrin işlevlere sahip bir karma bezdir. Ekzokrin işlevi, asinar hücreler tarafından sindirim sistemine iletilen pankreas salgısı aracılığıyla gerçekleştirilir. Pankreas dokusunun büyük bir kısmını (%90'dan fazlasını) oluşturan asinar hücreler, sindirim enzimlerinin salgılanmasından sorumludur.

Endokrin işlev ise Langerhans adacıklarında bulunan α ve β hücrelerinin salgıladığı hormonlarla ilişkilidir. α hücreleri glukagon, β hücreleri ise insülin üretir ve bu hormonlar, kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde birbirine zıt etkiler gösterir. Ancak, Langerhans adacıkları pankreasın yalnızca %2'sini oluşturur. İnsülin ve glukagonun sentezi, salıverilmesi ve hedef hücreler üzerindeki etkisi, glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Ayrıca birçok diğer hormon ve molekül, bu hormonların etkisini değiştirerek kan glukoz düzeyini düzenler (Büyükdevrim & Garibağaoğlu, 1995).

Yemek tüketimi sırasında glukoz düzenlemesi, besinlerin emilimi ve sinirsel ve hormonal mekanizmaların etkisiyle sağlanır. Vagus siniri, sefalik fazda insülin salgılanmasını uyarak insüline duyarlı dokuların glukozu daha etkili kullanmasını kolaylaştırır. Gastrointestinal hormonların enterik fazdaki etkisi de insülin salgılanmasını destekler. Ayrıca sindirim sırasında salgılanan somatostatin, besin emilimi ve kullanımını dengeleyerek plazmada zararlı birikimlerin önlenmesine yardımcı olur (Rodriguez-Diaz ve ark., 2011a).

Rodriguez-Diaz ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir çalışma, fare ve insan pankreasındaki otonomik innervasyonu immünokimyasal yöntemlerle karşılaştırmıştır. Araştırmada, adacıklar arasındaki sinir yapılarında belirgin farklılıklar olduğu gösterilmiştir. Fare pankreasında parasempatik aksonlardan gelen kolinerjik uyarılar, α ve β hücrelerinin sayısını azaltırken, insan pankreasında bu tür bir etkinin nadir olduğu belirtilmiştir. Farelerde sempatik aksonlar glukagon ve somatostatin salgılayan hücrelerin çevresinde yoğunlaşırken, insan pankreasında sempatik aksonlar endokrin hücrelerle doğrudan temas etmez. Bunun yerine, damar düz kas hücrelerinin iç yüzeyine yayılır. Bu farklılıklar, insanlarda sempatik sinir sisteminin insülin salınımını doğrudan değil, adacık arteriollerinin vazokonstriksiyonu yoluyla dolaylı olarak kontrol ettiğini düşündürmektedir (Rodriguez-Diaz ve ark., 2011b).

Glukagon salıverilmesi etkileyen faktörler ve bu faktörlerin baskınlık sıralamaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte, glukagon salınımının kontrolünde hem lokal adacık mekanizmalarının hem de MSS'nin etkilerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar, özellikle hipoglisemi sırasında glukagon salınımının otonom sinir sistemi aracılığıyla farklı yollarla

düzenlendiğini göstermektedir. Kan glukoz seviyesinin yaklaşık 80 mg/dl'ye düştüğü durumlarda, adacık hücrelerinden insülin salınımı azalır. Ancak bu seviyenin altına inildiğinde otonomik sinir sisteminin etkileri artar.

İlk olarak, kan şekeri düşüşüne karşı parasempatik sistem aktive olur. Daha sonra sempatoadrenal sistem devreye girerek dolaşımdaki katekolaminlerin artmasına neden olur. Kan glukoz düzeyi 40 mg/dl'nin altına indiğinde ise sempatik pankreas aktivasyonu başlar ve glukagon salınımı daha belirgin hale gelir (Taborsky & Munding, 2012).

Pankreasın sinirsel innervasyonu 19. ve 20. yüzyılın başlarında tanımlanmıştır. Ekzokrin ve endokrin pankreas sekresyonlarının düzenlenmesinde parasempatik ve sempatik sinir sistemlerinin önemli roller üstlendiği gösterilmiştir. Parasempatik sinir sistemi, insülin salınımını artırırken, sempatik sinir sistemi glisemiye yükseltmek amacıyla insülin salgısını baskılar ve glukagon salınımını uyarır.

2.3.4.1. İnsülin

Langerhans adacıklarında yer alan β -hücreleri, pankreasın endokrin fonksiyonunu yerine getiren en önemli yapı taşlarındandır. Bu hücreler, %70-80 oranında adacıkların büyük bir kısmını oluşturur ve insülin hormonunu sentezler. İnsülin, 51 amino asitten oluşan bir polipeptittir ve proinsülin adı verilen öncül formundan üretilir. Proinsülin, aktif insülinin yaklaşık %5'lik bir biyolojik aktivitesine sahip olup, yarı ömrü insülin'den daha uzundur. Aktif insülin haline dönüşebilmesi için proinsülinin C-peptid bölgesinin ayrılması ve disülfid bağlarının oluşması gereklidir.

İnsülin sentezi, pankreas β -hücrelerinde bulunan insülin geninin ekspresyonuyla başlar. Burada sentezlenen insülin, depolanmadan önce granüllerde birikir ve kan glukoz düzeyinin artışıyla salıverilmesi uyarılır. İlk olarak hızlı bir insülin salıverilmesi gerçekleşirken, uyarının devam etmesi durumunda gecikmiş ve daha uzun süreli bir insülin üretimi devreye girer. Glukoz, insülin sentez ve salınımının birincil tetikleyicisidir. Pankreas β -hücrelerinde, glukoz metabolizmasının etkisi otonomik sinir sistemi tarafından sağlanan kolinerjik uyarılarla birleşerek insülin salıverilmesini artırır. Ayrıca bazı bağırsak hormonları, lösin ve arjinin gibi amino asitler ve sulfonilüre grubu ilaçlar insülin salıverilmesini tetikleyebilse de bu maddeler doğrudan insülin sentezini etkilemez.

İnsülinin temel anabolik etkileri glukoz ve amino asitlerin hücre zarından taşınması, karaciğer ve kaslarda glikojen sentezi, glukozun trigliseritlere dönüştürülmesi ve nükleik asit ve protein sentezinin desteklenmesidir. Bu etkiler başlıca kalp kası, çizgili kas hücreleri, fibroblastlar ve yağ hücrelerinde gerçekleşir. İnsülin, hücre zarındaki glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) taşıyıcı proteinlerini aktive ederek glukozun hücre içine alınmasını ve taşıma hızının artırılmasını sağlar (Savaş & Gültekin, 2017).

Etki mekanizması ve reseptörlerine bakıldığında insülin, hedef hücrelerdeki membran reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir. Bu reseptörler, insüline yüksek özgüllükle bağlanan glikoproteinlerdir ve büyüme faktörü reseptör ailesinin bir üyesidir. Reseptör, α ve β olmak üzere iki alt ünite içerir. Hücre dışı yerleşimli olan α -alt ünite (135 kDa) insüline bağlanırken, hücre zarını geçen β -alt ünite (95 kDa) tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Bu aktivite, insülinin hücre içi sinyal yollarını başlatmasını sağlar. Yağ, kas ve karaciğer hücreleri, insülinin biyolojik etkilerine en duyarlı dokulardır (Savaş & Gültekin, 2017).

2.3.4.2. Glukagon

Pankreasın α -hücrelerinde sentezlenen 29 amino asitten oluşan bir peptid hormonudur. Temel olarak karaciğerde metabolize edilir ve böbrekler yoluyla plazmadan inaktive edilir. Glukagonun vücuda uygulama yoluna bağlı olarak etkisinin ortaya çıkış süresi değişkenlik gösterir: intravenöz (iv) uygulamada 5-20 dakika (dk), intramüsküler uygulamada 30 dk, subkutan uygulamada ise 30-45 dk içinde etkisini göstermeye başlar. Eliminasyon yarı ömrü, intravenöz (iv) uygulamada 8-18 dk, intramüsküler (im) uygulamada ise 26-45 dk arasında değişir. Kısa yarı ömrü nedeniyle tedavi amaçlı kullanımında genellikle sürekli infüzyon tercih edilmektedir.

Glukagon salgılanması kan glukoz düzeyine göre düzenlenir. Hipoglisemi durumunda salıverilmesi artarken, hiperglisemi bu salgıyı baskılar. Glukagonun en önemli etkisi, karaciğerde glikojenin glukoz-6-fosfata yıkılması (glikojenoliz) ve yeni glukoz sentezi (glukoneogenez) süreçlerini tetikleyerek kan glukoz seviyesini yükseltmektir. Bu etki çeşitli enzim aktiviteleri ve gen transkripsiyonunun düzenlenmesi yoluyla gerçekleştirilir ve insülinin metabolik etkilerine karşıt bir işlev görür (Tura ve ark., 2019).

Preklinik çalışmalar, glukagon salıverilmesinin α -hücrelerin işlevleri ve amino asit metabolizması ile yakın bir ilişki içinde olduğunu göstermektedir. Glukagonun hepatik amino asit döngüsü üzerindeki etkileri sayesinde üreajenez ve glukoneogenez süreçlerini desteklediği ve bu mekanizmanın yeni bir endokrin geri bildirim döngüsünü temsil edebileceği öne sürülmektedir (Dean ve ark., 2017; Holst ve ark., 2017; J. Kim ve ark., 2017).

Glukagon karaciğerin yanı sıra çeşitli dokularda da biyolojik etkiler gösterir. Adipoz doku, kalp, pankreas β -hücreleri, gastrointestinal sistem, tiroid, böbrekler ve MSS gibi ekstrahepatik dokular üzerinde de fonksiyonları bulunmaktadır (Authier & Desbuquois, 2008). Özellikle sıçan çalışmalarında, glukagon reseptörlerinin en yüksek seviyede karaciğer ve böbreklerde, daha düşük oranlarda ise kalp, yağ dokusu, dalak, adrenal bezler, pankreas ve beyin gibi dokularda bulunduğu tespit edilmiştir.

Glukagon kan-beyin bariyerini geçebilen bir hormon olarak, beyinde özellikle olfaktör tüberkül, hipokampus, anterior hipofiz, amigdala, septum, medulla, talamus, olfaktör bulbus, hipotalamus ve beyin sapı gibi bölgelerde reseptörlere bağlanır (Hoosein & Gurd, 1984; Rodbell ve ark., 1971). Beyindeki etkileri, klasik sinyal yolları aracılığıyla gerçekleşir. Bu mekanizmalara, sAMP ve protein kinaz A (PKA) gibi ikinci haberci sistemlerin aktivasyonu dahildir (Tengholm & Gylfe, 2017).

Glukagonun periferel glukoz homeostazındaki rolü oldukça kapsamlı bir şekilde incelenmiş olsa da MSS üzerinden yapılan uygulamalarının periferel glukoz metabolizmasına etkileri konusunda sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalar genellikle hayvan modelleriyle sınırlı kalmıştır (Brubaker & Drucker, 2002; Christophe, 1995).

MSS’de glukagon ve proglukagondan türetilen peptitlerin bağlandığı glukagon reseptörleri, beyinde yaygın bir ekspresyon göstermektedir. Özellikle beyin sapı ve hipotalamus bu reseptörlerin etkilerinin en sık gözlemlendiği bölgeler arasında yer alır (Campos ve ark., 1994; Drucker & Asa, 1988).

Ayrıca glukagonun MSS’de beyin-karaciğer ekseni üzerinden iştah düzenleme merkezlerine etki ederek besin alımını değiştirebildiği ve bu yolla glukoz homeostazını düzenlediği öne sürülmektedir. Ancak glukagonun MSS’deki etkilerinin periferel etkileriyle zıt koşullarda nasıl bir etkileşim gösterdiği ve özellikle insülin ile olan kompleks ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma için Bursa Uludağ Üniversitesi (BUÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (HADYEK) onay alındı (15.06.2021 tarih ve 2021-08/01 sayılı karar). Deney hayvanları temini BUÜ Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi (DENHAB)’nden sağlandı.

Yapılan çalışmada 74 adet 300-350 gram ağırlığında, 4-6 aylık Sprague-Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Deney öncesinde 4'lü gruplar halinde tutulan sıçanlar *ad libitum* beslendi. Sıçanlar 20-24°C sıcaklık, %50±10 bağıl nem ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık (07:00-19:00 arası aydınlık) döngüye sahip odada barındırıldı. Deneyler Amerikan National Institutes of Health (NIH) tarafından yayımlanmış “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” adlı kılavuz doğrultusunda yapıldı.

3.2. Arteriyel Kateter ve İntraserebroventriküler Kanül İmplantasyonu

Sıçanlar bir indüksiyon kabına yerleştirilerek Sevofluran (%100 O₂/%3-5 sevofluran) ile anestezi altına alındı. Anestezi derinliğinin kontrolü için pedal çekme testi uygulandı. Sıçanların arka ayakları pens ile sıkıştırılarak ağrı duyup duymamalarına göre cerrahi işlemlere başlandı. Sıçanlardan kan almayı kolaylaştıran bir yöntem olan arteriyel kateterizasyon için esnek, iç çapı 0,76 mm ve dış çapı 1,22 mm olan polietilen (PE 60) tüp (kateter) kullanıldı. Kateter 20 cm uzunluğunda kesildi ve bir ucu helezon yay oluşturmak için bir enjektörün üstünde 2 tur sarıldıktan sonra önce sıcak su içinde 5 saniye ve takiben soğuk su içerisinde 5 saniye tutuldu. Kateterin içi 250 U/ml heparin bulunan serum fizyolojik (SF) ile dolduruldu ve helezon olmayan ucu yakılarak kapatıldı. Karotise yerleştirilecek olan helezonlu uç ise 1 cm olacak şekilde 45° açı ile kesildi ve ucu kütleştirildi.

Cerrahi prosedürde, sıçanlar supin pozisyona getirildi ve ensesinin altına bir yükselti konularak boynun yan tarafı tamamen görünür hale getirildi. Sıçanın boynunun önünde medyan bir cilt insizyonu yapıldı. Yüzeyel yağ dokular ayrılarak sternohyoid ve sternomastoid kaslar görünür hale getirildi. Sol sternomastoid kas ile

sternohyoid kas arasından karotid üçgeni görüldü. Karotis kommunis arter ile bulunan vagus sinirine zarar vermeden karotis kommunis izole edildi. Bu damarın kaudalinden geçirilen ipek iplik ile damar gerdirilerek damardaki kan akımı durduruldu. Karotis kommunisin kraniyalı ipek iplik ile bağlanarak kan akışı geri döndürülemez şekilde durduruldu. Damar makası ile damarın orta hattı üzerinde küçük bir insizyon açıldı. Açılan insizyona, içinde 250 U/ml heparin bulunan PE60 kateter yerleştirilerek 4-0 ipek iplik ile damara sabitlendi. Kateterin ucunda kalp atımının varlığı doğrulandı. Takiben kateter çevre bağ dokuya sabitlendi ve kateterin diğer ucu deri altından ilerletilip sıçanın ense bölgesinden çıkarıldı. Ense bölgesinden çıkan kateter halka şeklinde kıvrılarak hayvanın erişemeyeceği şekilde ensesine iki dikiş ile sabitlendi ve açılan insizyon hattı dikildi (Şekil 13).

Aynı seansta isv yolla ilaç uygulamak amacıyla sıçanların sağ lateral ventrikülüne bir kılavuz kanül implante edildi (Şekil 13). Anestezi altındaki sıçan stereotaksik alete yerleştirildikten sonra kafa derisinde 2 cm boyunda bir insizyon açılarak kafatası görünür hale getirildi. Kafatasındaki kanamanın durması için açılan bölgeye vazokonstriksiyon sağlayan adrenalin damlatıldı. Kafatasındaki fasya ve kan temizlendikten sonra, bregma görünür hale geldi ve bregmanın 1,5 mm laterali ile 0,8 mm posteriorunun çakıştığı noktaya ince bir matkap yardımıyla bir delik açıldı. Bu deliğe 21G paslanmaz çelik iğne uçlarından hazırlamış olduğumuz, kafatası altında kalın kısmının uzunluğu 2 milimetre olacak şekilde kesilen bir kılavuz kanül yerleştirildi. Takiben kanül dişçi akriliği ile kafatasına sabitlendi. Kılavuz kanülden enjeksiyon yapmaya olanak sağlayan enjeksiyon aparatı da yine el yapımı olarak hazırlandı. Dental iğneden (28G) hazırlanan enjeksiyon aparatının uzunluğu 4,5 mm olarak ayarlandı. Kılavuz ve enjeksiyon kanülleri bölümümüzde yıllardır el yapımı olarak imal edilmektedir ve bu konuda bölümümüzün yeterli tecrübesi bulunmaktadır. İsv kanül implantasyonunda kullanılan koordinatlar için Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası referans alındı.

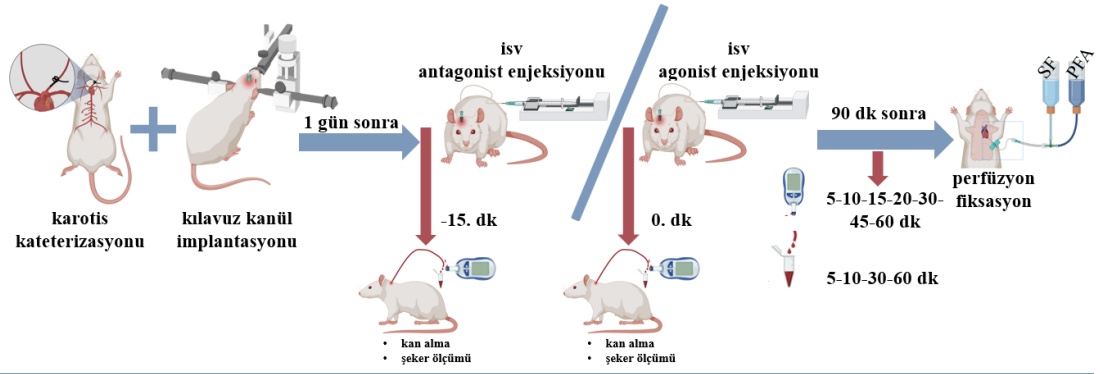
Karotis kateterizasyonu ve isv kanül implantasyonu aynı gün içinde gerçekleştirildi ve cerrahinin bitimini takiben sıçanlar ayrı kafeslerde barındırıldı. Anestezi etkisinden ve cerrahinin yaratmış olduğu stresten çıkmaları için bir gün dinlenmeleri sağlandı. Sıçanlar 16 saat aç bırakıldıktan sonra ölçümlere başlandı.

3.3. İntaserebroventriküler İlaç Uygulaması

Cerrahi yapılan hayvanlar bir gün dinlendirildikten sonra ertesı gün uyanık ve serbest hareket halinde iken 20x20 cm ölçülerinde kutulara alındı ve 30 dk boyunca sakinleşmeleri beklendi. Takiben sıçanlara kılavuz kanül aracılığıyla isv olarak SF ve SF içerisinde çözülmüş üridin, UMP, UDP veya UTP uygulandı. İsv enjeksiyonlar, laboratuvarımızda 28G paslanmaz çelik iğneden hazırlanmış olduğumuz mikroenjeksiyon aparatının isv kanül içerisine yerleştirilmesi ile gerçekleştirildi. Enjeksiyon aparatının giriş kısmına polietilen (PE20) kateter ve kateterin diğer ucuna Hamilton enjektörü takıldı ve kanülün içi enjekte edilecek ilaç ve/veya ilacın çözücüsü ile dolduruldu. Bahsi edilen ilaçlar Hamilton enjektörü ile PE20 kateter içine 5 mikrolitre hacimde çekildi ve enjeksiyon aparatı sıçanın kafasındaki kılavuz kanül içine yerleştirildi. Sabit hızda enjeksiyon yapabilen bir pompa (CMA Microdialysis AB, Kista, Sweden) yardımıyla ilaçlar 5 µl/dk hızında sağ lateral ventriküle enjekte edildi (Şekil 13).

Mekanizma araştırmaları için P2Y₂ reseptör antagonisti olan ARC-118925XX, P2Y₆ reseptör antagonisti olan MRS2578 ve P2Y₁₄ reseptör antagonisti olan PPTN hidroklorür üridin ve nükleotidlerinin enjeksiyonundan 15 dk önce aynı yöntemle sağ lateral ventriküle enjekte edildi (Şekil 13). Antagonistlerin çözücüsü olarak Dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı.

A. Cerrahi ve ölçümler



B. Analizler



Şekil 13. Deney akış şeması (Biorender ile hazırlanmıştır).

3.4. Kullanılan İlaçlar

Metabolik ve nöroendokrin etkileri incelenen üridin, UMP, UDP ve UTP SF içinde çözülerek 5 μ L hacimde 1 μ mol dozunda isv olarak enjekte edildi. Kontrol grubunda ise isv olarak 5 μ L hacimde SF enjeksiyonu yapıldı.

UDP ve UTP'nin muhtemel etkilerinin altında yatan mekanizmaları araştırmak amacıyla bu nükleotitler tarafından uyarılabilen P2Y reseptörlerine özgü seçici antagonistler kullanıldı. UTP ile uyarılabilen P2Y₂ reseptörünün seçici antagonisti ARC-118925XX (0,1 μ mol/5 μ L), UDP ile uyarılabilen P2Y₆ reseptörünün seçici antagonisti MRS2578 (1 μ mol/5 μ L) ve yine UDP ile uyarılabilen P2Y₁₄ reseptörünün seçici antagonisti PPTN hidroklorür (1 μ mol/5 μ L) dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülerek UDP veya UTP enjeksiyonundan 15 dk önce isv olarak enjekte edildi. Çalışmada kullanılan antagonist dozları önceki çalışmamızda (Cansev ve ark., 2015) P2Y reseptörlerini bloke ettiği tespit edilen dozlardır. Kullanılan antagonistlerin çözücüsü olarak kullanılan %0,1 DMSO'nun muhtemel etkileri DMSO+UDP ve DMSO+UTP gruplarında ayrıca incelendi.

3.5. Deney Grupları

Etken madde ve antagonist grupları olmak üzere toplamda 10 grup oluşturuldu. Her bir grupta 6 sıçan kullanıldı. Etken madde grupları; SF, üridin, UMP, UDP ve UTP grubu olmak üzere 5 grupta çalışıldı. Antagonist grupları: PPTN Hidroklorür + UDP, MRS2578 + UDP, ARC-118925XX + UTP, DMSO + UDP ve DMSO + UTP grubu olmak üzere 5 grupta çalışıldı. Deney süresince 14 hayvan kateterinin tıkanması ya da nöbet geçirmesi sebebiyle deney dışı kaldı.

3.6. Kan Şekeri Ölçümü ve Kan Örneklerinin Toplanması

Enjeksiyonlar başlamadan hemen önce (agonist grupları için 0. dk, antagonist grupları için -15. dk) ve enjeksiyon sonrasında belli zaman aralıklarında (5, 10, 15, 20, 30, 45 ve 60. dk) Optima Şeker Ölçüm aleti kullanılarak kan şekeri değerleri ölçüldü. Bu işlem için kateter klemlendi ve klemp gevşetilerek glukometreye iliştirilmiş kan şekeri stripleri üzerine bir damla kan damlatılması suretiyle anlık olarak kan şekeri ölçümü yapıldı (Şekil 13).

Ayrıca enjeksiyonlar başlamadan hemen önce (agonist grupları için 0. dk, antagonist grupları için -15. dk) ve enjeksiyon sonrasında belli zaman aralıklarında (5, 10, 30 ve 60. dk) mikrosantrifüj tüpleri içine 1 ml kan alındı. Sıçanların hemorajik ya da hipotansif şoka girmelerini önlemek adına, kan alınan zaman noktalarında, alınan kan hacmi kadar SF arteriyel yolla sıçana geri verildi. Takiben kateterin içi heparinli SF ile dolduruldu. Alınan kan örnekleri 5 dk 10.000 rpm’de santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve serumlar analizlere kadar -80°C derin dondurucuda saklanmak üzere kaldırıldı. Agonist enjeksiyonundan 90 dk sonra deney hayvanları immünohistokimya çalışmaları için perfüze edildi (Şekil 13).

3.7. ELISA Kit Ölçümleri

Serumlardan ticari kitler yardımıyla insülin, glukagon, ghrelin ve leptin analizleri yapıldı. Bu amaçla sıçan uyumlu ELISA kitler (BT-LAB, Shanghai Korain Biotech Co., Ltd, Çin Halk Cumhuriyeti) kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce kitler ve -80°C buzdolabında saklanan serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. ELISA

içerisinde bulunan kit protokolüne uyularak spektrofotometrik mikropate okuyucu (Siemens μ Quant, BioTek Instruments, Inc. USA) ile 450 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Bu amaçla:

- Standartlar seri dilüsyon ile 5 konsantrasyon noktası olacak şekilde ayarlandı. Leptin için 0,75; 1,5; 3; 6; 12 ng/ml; Ghrelin için 400, 800, 1.600, 3.200, 6.400 ng/L; İnsülin için 1,5; 3, 6; 12; 24 mIU/L ve Glukagon için 40, 80, 160, 320, 640 ng/L.
- Kit içerisinden çıkan 96-kuyucuklu plate kullanılarak hazırlanan standartlar duplike olacak şekilde her kuyucuğa 50 μ l kondu, blank olarak iki kuyucuğa sadece 50 μ l standart dilüent kondu.
- Kalan kuyucuklara 40 μ l serum örneği kondu ve üzerlerine 10 μ l Biotinylated-Antibody eklendi.
- Blank hariç diğer kuyucuklara 50 μ l Streptavidin-HRP solüsyonu kondu ve plate'in üstü kapatılarak 37°C 60 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası plate ters çevrilerek içleri boşaltıldı ve 25 kat seyreltilmiş yıkama solüsyonuyla her seferinde 300 μ l olacak şekilde beş kez yıkandı. Son yıkamada kuyucukların içlerindeki sıvı su trompu yardımıyla çekildi.
- Yıkama sonrası karanlıkta her kuyucuğa Substrat A solüsyonu ve substrat B solüsyonlarından 50 μ l eklendi, üzeri kapatılarak 37°C 10 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50 μ l Stop solüsyonu eklenerek rengin maviden sarıya değiştiği gözlemlendi.
- 450 nm'de mikropate okuyucuda okutularak analizler gerçekleştirildi.

3.8. İmmünohistokimya

3.8.1. Dokuların perfüzyon fiksasyon işlemi ile hazırlanması

İsv enjeksiyondan 90 dk sonra sıçanlar transkardiyak perfüzyon fiksasyon işlemi için derin eter anestezisine alındı. Sıçanların toraksları açılarak, kalp apeksinden aortaya kateter yerleştirilip sabitlendi. Dolaşım sisteminin kandan arındırılması için perfüzyon pompası yardımıyla kateter içerisinden %0,9 serum fizyolojik gönderilerek perfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Sonrasında her sıçan için günlük hazırlanan 400 ml fiksatif kullanılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. Fiksatif olarak kullanılan

%4'lük paraformaldehit solüsyonu¹ 0,13 M fosfat tamponu² ile hazırlandı. Çıkarılan beyinler aynı fiksatif içerisinde +4°C'de bir gece post-fiksasyona bırakıldı. Post-fiksasyon sonrası beyinlerden vibratom ile 5 seri halinde 40 µm kalınlığında koronal kesitler alındı. Daha sonra bu kesitler 0,05 M Tris-HCl tamponu³ ile yıkanarak fiksatiftan arındırıldı ve ilgili boyamanın başlatıldığı döneme kadar saklanmak üzere kriyoprotektan⁴ içinde -20°C'de saklandı.

3.8.2. İmmünohistokimyasal yöntemlerde uygulanan genel kurallar

İndirekt immünoperoksidaz yöntemi ile işaretlemeler yapıldı. İşlemlerin tümü cam viallerin içinde bulunan yüzen kesitler üzerinde gerçekleştirildi. Kesitlerin inkübasyon ve yıkama işlemleri, orbital sallayıcı yardımı ve uygun ajitasyonla gerçekleştirildi. Yöntemdeki temel basamaklardan olan nonspesifik bağlanmayı bloklama işlemi ve primer antikor inkübasyonundaki ara basamaklar dışında kesitler 0,05 M'lık Tris-HCl tamponu ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmayı önleme ve primer ve sekonder antikorların dilüsyonu için bloklayıcı tampon⁵ olarak Tris-HCl tamponunda hazırlanan %10'luk bloklama serumu kullanıldı.

Çalışmada kullanılan primer antikorların (Tablo 2) immünohistokimyasal olarak ikili işaretleme yapılmadan önce optimizasyon çalışmaları yapıldı. Bunun için uygun dilüsyon, inkübasyon süresi ve sıcaklığı belirleme işlemleri gerçekleştirildi. Optimizasyon sonunda elde edilen değerler Tablo 3'te kısaca özetlenmiştir. Kullanılan sekonder antikorlar ile ilgili ayrıntılar Tablo 4'te verilmiştir. İkili indirekt

¹ **%4'lük Paraformaldehitin Hazırlanışı:** 100 ml distile suda 20 paraformaldehit magnetik karıştırıcı ve ısıtıcı üzerinde 58°C'ye kadar ısıtılarak çözülür. Solüsyon berraklaşınca kadar 1 N NaOH ilave edilir. Filtre kağıdından süzöldükten sonra 0,13 M'lık fosfat tamponu ile 1 L'ye tamamlanır. pH ölçümü yapılarak konsantrite HCl ya da 1 N NaOH ile son pH 7,4'e ayarlanır.

² **Sorenson'un Fosfat Tamponunun Hazırlanışı:** Solüsyon A [$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0,13 M)] 46,54 g/L, Solüsyon B [KH_2PO_4 (0,13 M)] 17,68 g/L. Her iki solüsyon buzdolabında saklanır. Solüsyon A üzerine solüsyon B eklenerek pH 7,4'e ayarlanır.

³ **Tris Tamponunun (0,05 M) Hazırlanışı:** 6 gr Trizma base 1000 ml distile suda çözünür. Konsantrite HCl ile pH 7,6'ya ayarlanır.

⁴ **Kriyoprotektanın Hazırlanışı:** 0,05 M Tris tamponu (500 ml), süktroz (300 g), etilen glikol (300 ml) ve polivinilprolidon (10 g) kullanılır. Maddeler verilen sıraya göre eklenir. Karışım distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

⁵ **Bloklayıcı Serum:** İnaktive halde bulunan %10'luk normal at serumu 56°C'lik sıcak su banyosunda aktive edilir. %0,1 sodyum azid ve %0,2 triton-X 100 eklendikten sonra karışım Tris tamponu ile 1 L'ye tamamlanır.

immünoperoksidaz tekniği ile işaretlenen kesitlerin kapatılmasında DPX (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) kullanıldı.

Tablo 2. Kullanılan primer antikolar

Antikor	Üretici Firma	Katalog no
Tavşan anti-c-Fos	Millipore	ABE457
Tavşan anti- P2Y2 reseptör	Alomone labs	APR-010

Tablo 3. Kullanılan antikoların optimize edilen dilüsyonları, inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları

Kullanılan Antikor	Dilüsyon	İnkübasyon Süresi	İnkübasyon °C
Tavşan anti-c-Fos	1:10.000	1 gece	Oda Sıcaklığı
Tavşan anti- P2Y2 reseptör	1:750	1 gece	Oda Sıcaklığı

Tablo 4. Kullanılan sekonder antikolar

Üretici Firma	Kullanılan Sekonder Antikolar
Jackson immunoresearch	Biyotin konjuge eşek anti-tavşan IgG (H+L) (711-065-152)
Merck	Biyotin konjuge eşek anti-tavşan IgG (AP182P)

3.8.3. Aktive olan nöronlarda pirimidinerjik reseptörlerin belirleneceği immünohistokimyasal boyamaların yapılması

Pirimidinerjik reseptörleri eksprese eden nöronların aktivasyonu, ikili indirekt immünoperoksidaz yöntemiyle c-Fos immünoaktivitesinin varlığının gösterilmesi ile değerlendirildi.

3.8.4. UTP'nin aktivasyon sağladığı P2Y₂ reseptörü eksprese eden nöronlarda ortaya çıkan nöronal aktivasyonun belirlenmesi

- -20°C'deki kriyoprotektan madde içinde bekleyen yüzen kesitler dondurucudan çıkarılarak yaklaşık 30 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Oda sıcaklığına gelen kesitler 0,05 M Tris/HCl tamponu ile 3x10 dk yıkandı.
- Nonspesifik bağlanmayı baskılamak için kesitler %10'luk normal at serumu ile hazırlanan bloklama tamponunda 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Kesitler bloklama tamponunda 1:10.000 oranında dilüe edilen tavşan anti-c-Fos antikoru ile 1 gece oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Bloklayıcı tamponunda 1:300 oranında hazırlanan biyotin işaretli eşek anti-tavşan sekonder antikoru ile 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.

- Avidin biyotin kompleksi (ABC) solüsyonu (10 µL A ve 10 µL B solüsyonu/1ml 0,05 M Tris-HCl) ile 1 saat inkübe edildi.
- İmmünohistokimyasal reaksiyonu çekirdekte görünür hale getirmek için substrat kromojen solüsyonu Ni-DAB (2 g Nikel, 12,5 mg DAB, 1,3 µL H₂O₂/50 ml 0,05 M Tris-HCl) 20 dk uygulandı.
- Non-spesifik bağlanmayı baskılamak için kesitler %10'luk normal at serumu ile hazırlanan bloklama tamponu içinde 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Kesitler bloklama solüsyonunda dilüe edilen tavşan anti-P2Y₂ (1:750), primer antikör ile 1 gece oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Bloklayıcı tamponda dilüe biyotin işaretli eşek anti-tavşan (1:300), sekonder antikoru ile 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
- ABC solüsyonu (10 µL A ve 10 µL B solüsyonu/1ml 0,05 M Tris-HCl) ile 1 saat inkübe edildi
- İmmünohistokimyasal reaksiyonu sitoplazmada görünür hale getirmek için substrat kromojen solüsyonu DAB (12,5 mg DAB, 1,3 µL H₂O₂/25 ml 0,05 M Tris-HCl) uygulandı.
- Tüm basamaklar arasında (bloklayıcı tampondan primer antikör inkübasyonuna geçiş aşaması hariç) kesitler 0,05 M Tris/HCl tamponu ile 3x10 dk yıkandı.

3.8.5. Preparatların incelenmesi ve hücre sayımı

Çalışmalarda elde edilen kesitlerin görüntüleri Olympus BX-50 fotomikroskopa bağlı (Tokyo, Japan) dijital kamera (Olympus DP71 CCD color camera, 1,5 million pixel) ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Sayım işlemlerinde labSens (Olympus Soft, Center Valley, PA, USA) analiz programı ve ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD) kullanıldı.

Elde edilen boyamalarda yapılan analizler beyin atlasına (Paxinos, & Watson, 2007) göre belirlenen koordinatlar arasındaki (ARC için bregma -2,12 mm ile -3,80 mm; PVN için bregma -1,32 mm ile -1,92 mm) kesitlerde yapıldı. Hücre sayımı her bir denek için, ilgili çekirdeği içeren rostrokaudal düzlemde birbirine eşit uzaklıkta 3 farklı seviyeden alınan kesitlerde yapıldı. Deneklerin her vialindeki 200 µm aralıklarla alınan kesitlerin tümü lama yayılarak yukarıda çekirdekler için belirtilen koordinatlar arasındaki ARC ve PVN bölgelerinin tamamında sayım yapıldı. İkili

immünoperoksidaz yöntemi kullanılarak işaretlenen kesitlerde ARC ve PVN’de P2Y₂ nöronlarında c-Fos ile kolokelize olanların yüzdesi hesaplandı.

3.9. İstatistiksel Analiz

Histolojik çalışmalara ait veriler dışında tüm diğer çalışmalardan elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SigmaPlot (versiyon 12,5) programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde ardışık zamanlarda yapılan karşılaştırmalar için İki Yönlü Tekrarlayan Ölçümlü Varyans Analizi (Two-Way Repeated Measures ANOVA) ve takiben post-hoc Holm-Sidak testi kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde belirtildi; $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Histolojik analizlerde her bir denek için elde edilen verilerin grup içi ortalama $\pm$ standart hataları belirlendi. Elde edilen verilerin analizinde IBM SPSS 20 (Armonk, NY), grafiklerin oluşturulmasında ise SigmaPlot (versiyon 12,5) kullanıldı. Deney grupları arası varyans analizi ANOVA ve takiben post-hoc Tukey testi ile yapıldı. İstatistiki anlamlılık sınır değeri olarak $p < 0,05$ alındı.

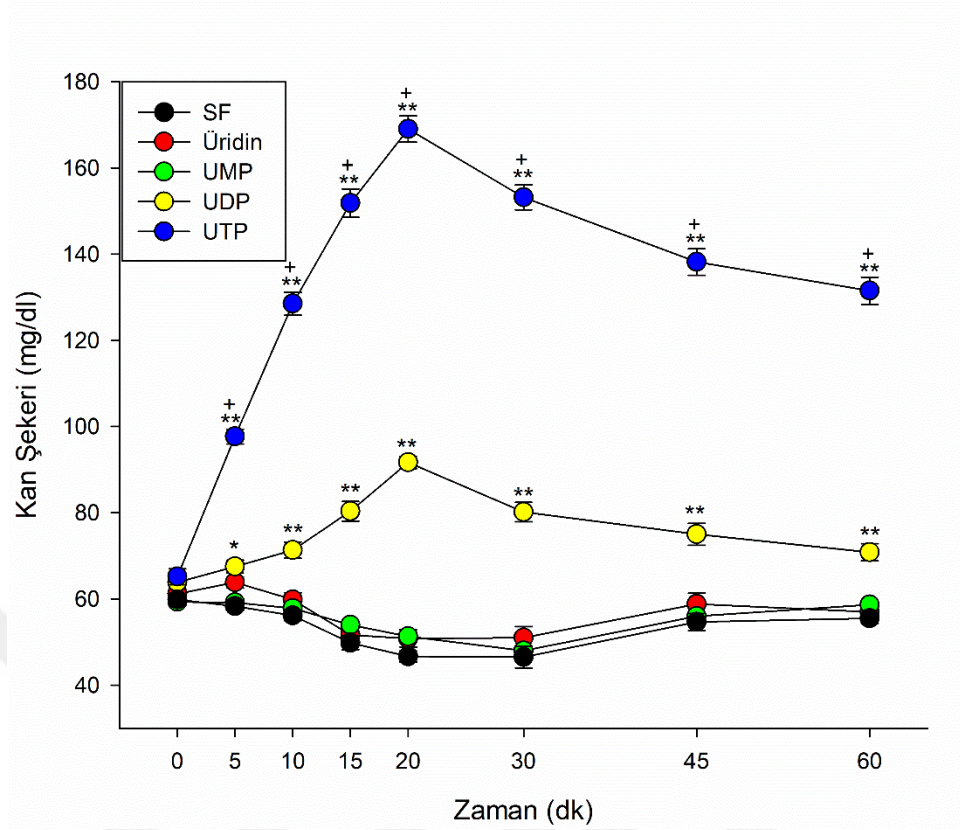
4. BULGULAR

4.1. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Açlık Kan Şekeri Üzerine Etkileri

4.1.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin açlık kan şekeri üzerine etkileri

Üridin, UMP, UDP ve UTP 1 µmol dozunda isv olarak lateral ventriküle enjekte edildi ve takiben 60 dk boyunca belli zaman aralıklarında kan şekeri ölçüldü. Her bir grup birbirleri ile ve çözücüsü olan SF grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

SF grubu ile karşılaştırıldığında üridin ve UMP'nin kan şekeri üzerine anlamlı bir etkisi görülmedi. UDP enjeksiyonundan sonraki 5. dakikadan itibaren kan şekeri düzeyinde anlamlı artışlar saptandı (5. dk * $p<0,01$, diğer zaman aralıklarında ** $p<0,001$). Aynı şekilde UTP enjeksiyonundan sonraki 5. dakikadan itibaren kan şekeri düzeyinde anlamlı artışlar saptandı (tüm zaman aralıklarında ** $p<0,001$). UDP grubu ile kıyaslandığında UTP grubundaki kan şekeri düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulundu (tüm zaman aralıklarında + $p<0,001$). Kan şekeri düzeyindeki artış UDP ve UTP enjeksiyonundan sonraki 20. dakikada en yüksek seviyelere ulaştı (Şekil 14).



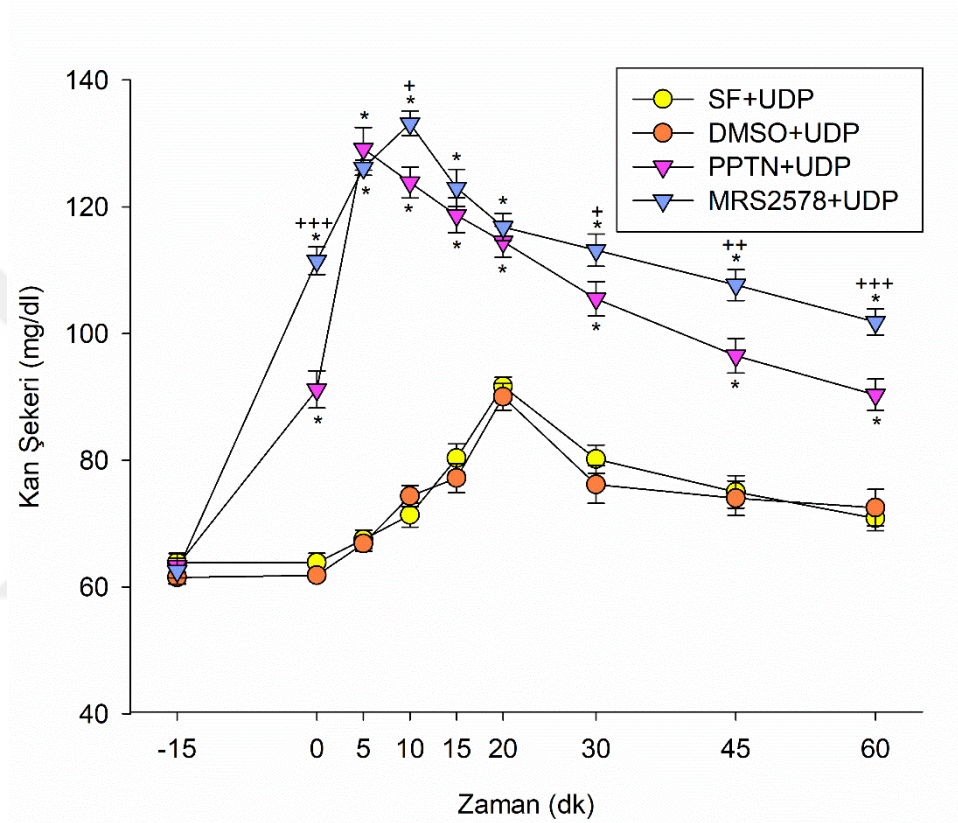
Şekil 14. Üridin ve üridin nükleotidlerinin açlık kan şekeri üzerine etkileri. * $p < 0,01$ ve ** $p < 0,001$ SF grubuna kıyasla; + $p < 0,001$ UDP grubuna kıyasla.

4.1.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen kan şekeri değişimi üzerine etkileri

Kan şekeri üzerine etkileri tespit edilen UDP'nin mekanizma araştırmaları amacıyla reseptör antagonisti çalışmaları yapıldı. UDP'nin etki ettiği P2Y6 reseptörünün seçici antagonisti MRS2578 ve P2Y14 reseptörünün seçici antagonisti PPTN hidroklorür UDP enjeksiyonundan 15 dk önce isv olarak enjekte edildi ve belirli zaman aralıklarında kan şekeri ölçümü yapıldı. Bu antagonistlerin çözücüsü olarak kullanılan DMSO ile de ayrı bir grup oluşturulup, DMSO'nun ön tedavi olarak verildiğinde UDP'nin meydana getirdiği kan şekeri artışında etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UDP enjeksiyonu (DMSO+UDP grubu) ile SF+UDP uygulaması arasında kan şekeri düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. PPTN hidroklorür ve MRS2578, uygulama sonrasındaki ilk 15 dakikada

kan şekerini anlamlı şekilde yükseltti (* $p<0,001$). Diğer zaman aralıklarında da her iki antagonist grubu SF+UDP grubuna kıyasla daha yüksek kan şekeri düzeylerine sahipti (* $p<0,001$). PPTN+UDP grubuna kıyasla MRS2578 grubu 0., 10., 30., 45. ve 60. dakikalarda kan şekerini anlamlı şekilde daha fazla artırdı (sırasıyla (*** $p<0,001$, $^+p<0,05$, $^+p<0,05$, $^{++}p<0,01$, $^{+++}p<0,001$) (Şekil 15).



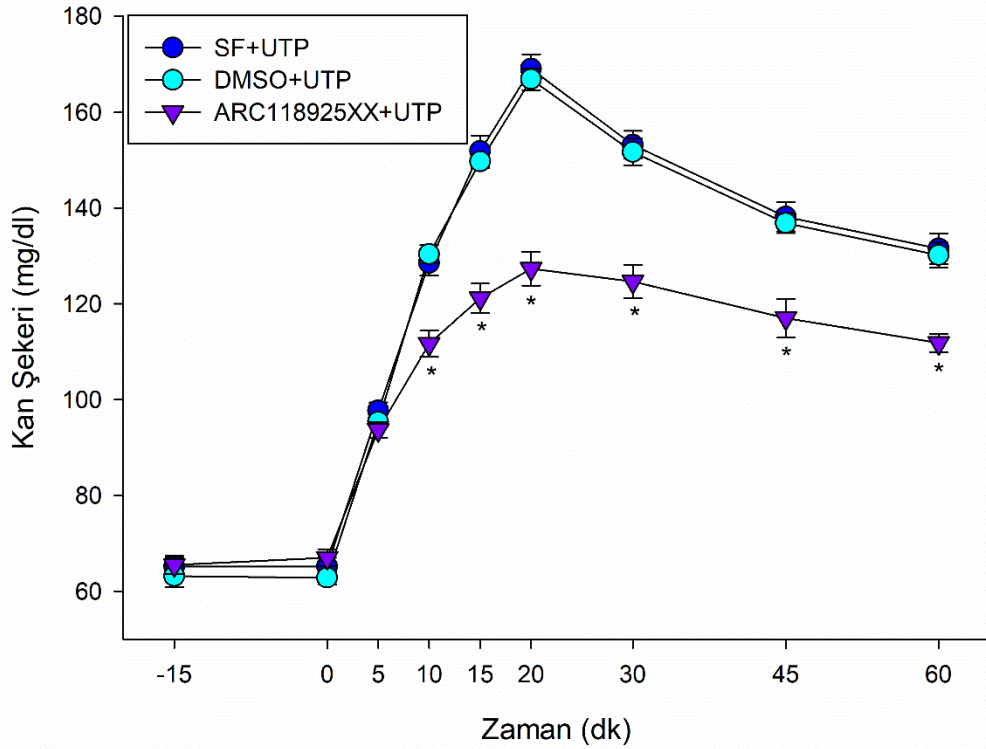
Şekil 15. P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve UDP'nin açlık kan şekeri üzerine etkileri. * $p<0,001$ SF+UDP grubuna kıyasla, $^+p<0,05$ $^{++}p<0,01$ ve $^{+++}p<0,001$ PPTN+UDP grubuna kıyasla.

4.1.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen kan şekeri değişimi üzerine etkileri

Kan şekeri üzerine etkileri tespit edilen UTP'nin mekanizma araştırmaları amacıyla reseptör antagonisti çalışmaları yapıldı. UTP'nin etki ettiği P2Y₂ reseptörünün seçici antagonisti ARC-118925XX UTP enjeksiyonundan 15 dk önce isv olarak enjekte edildi ve belirli zaman aralıklarında kan şekeri ölçümü yapıldı. Antagonist çözücüsü olarak kullanılan DMSO ile de ayrı bir grup oluşturulup,

DMSO'nun ön tedavi olarak verildiğinde UTP'nin meydana getirdiği kan şekeri artışında etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UTP enjeksiyonu (DMSO+UTP grubu) ile SF+UTP uygulaması arasında kan şekeri düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. ARC-118925XX, UTP uygulamasından sonraki 10. dakikadan itibaren UTP'nin kan şekerini artırıcı etkisini anlamlı şekilde baskıladı (Şekil 16).



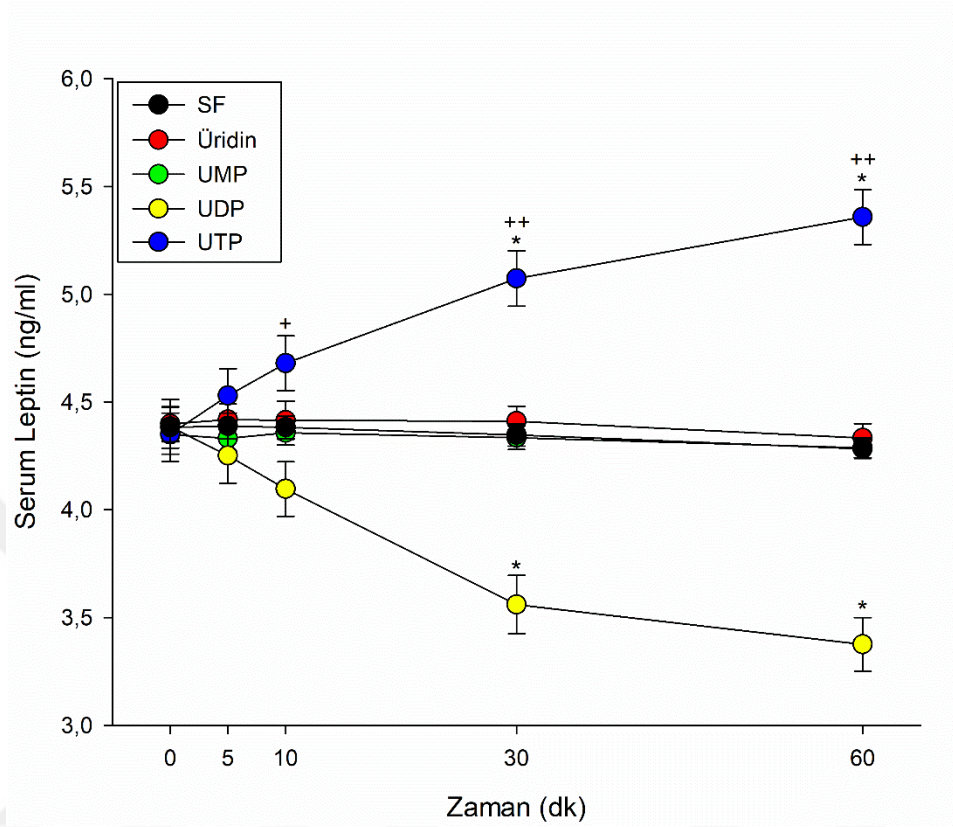
Şekil 16. P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX ve UTP'nin açlık kan şekeri üzerine etkileri. *p<0,001 SF+UTP grubuna kıyasla.

4.2. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Leptin Düzeyleri Üzerine Etkileri

4.2.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum leptin düzeyleri üzerine etkileri

Serum leptin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. SF grubu ile karşılaştırıldığında isv yolla uygulanan UDP'nin 30. ve 60. dakikalarda serum leptin düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı görüldü (*p<0,001). UTP'nin ise 30. ve 60. dakikalarda serum leptin düzeylerini anlamlı olarak artırdığı belirlendi (*p<0,001).

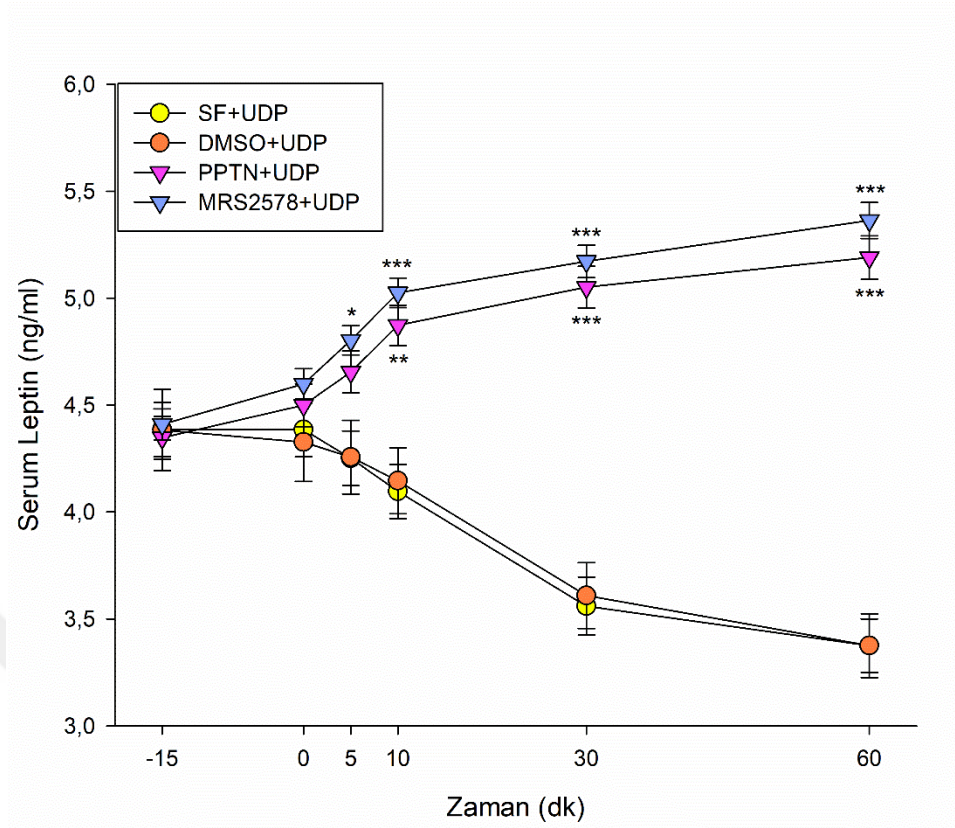
UDP ile karşılaştırıldığında UTP'nin 10. dakikadan itibaren serum leptin seviyelerini anlamlı olarak artırdığı görüldü (Şekil 17).



Şekil 17. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum leptin düzeyleri üzerine etkileri. * $p<0,001$ SF grubuna kıyasla; + $p<0,01$ ve ++ $p<0,001$ UDP grubuna kıyasla.

4.2.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum leptin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

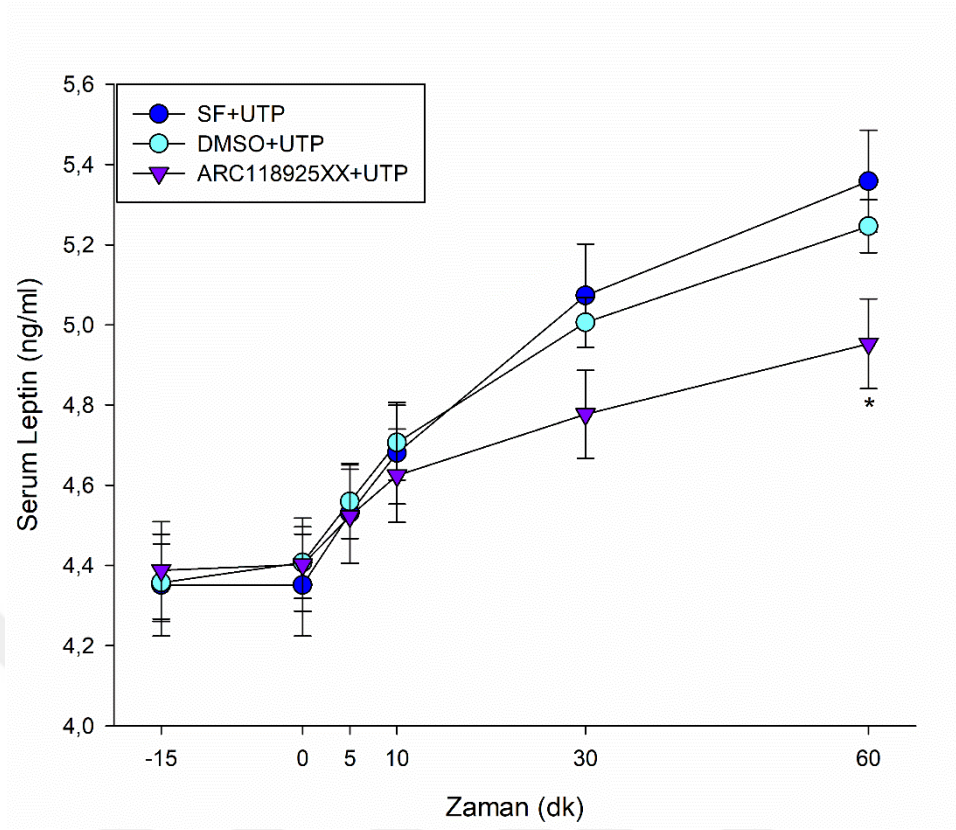
DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UDP enjeksiyonu (DMSO+UDP grubu) ile SF+UDP uygulaması arasında serum leptin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. PPTN+UDP grubunda 10. dakikadan itibaren serum leptin düzeyleri anlamlı şekilde yüksek bulundu (10. dk ** $p<0,01$; 30. ve 60. dk *** $p<0,001$). MRS2578+UDP grubunda da 5. dakikadan itibaren serum leptin düzeylerinde anlamlı bir artış görüldü (5. dk * $p<0,05$; 10., 30. ve 60. dk *** $p<0,001$) (Şekil 18).



Şekil 18. P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve UDP'nin serum leptin düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,05 **p<0,01 ve ***p<0,001 SF+UDP grubuna kıyasla.

4.2.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum leptin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UTP enjeksiyonu (DMSO+UTP grubu) ile SF+UTP uygulaması arasında serum leptin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. ARC-118925XX, UTP uygulamasından sonraki 10. dakikadan itibaren UTP'nin serum leptin düzeyini artırıcı etkisini anlamlı şekilde baskıladı (Şekil 19).

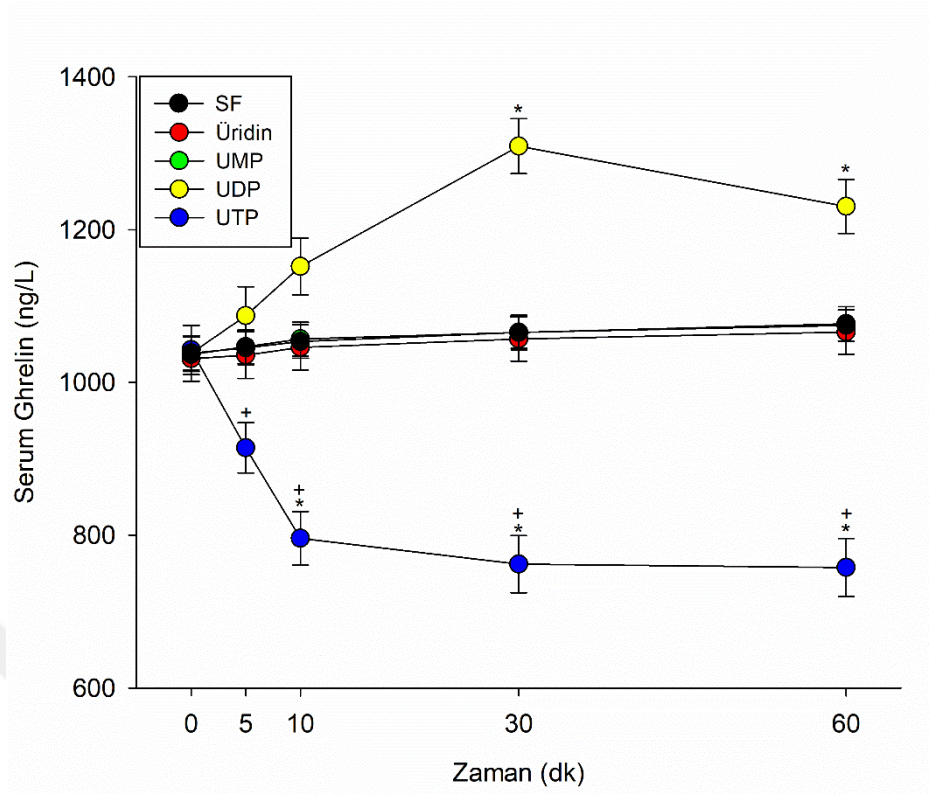


Şekil 19. P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX ve UTP'nin serum leptin düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,05 SF+UTP grubuna kıyasla.

4.3. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Ghrelin Düzeyleri Üzerine Etkileri

4.3.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum ghrelin düzeyleri üzerine etkileri

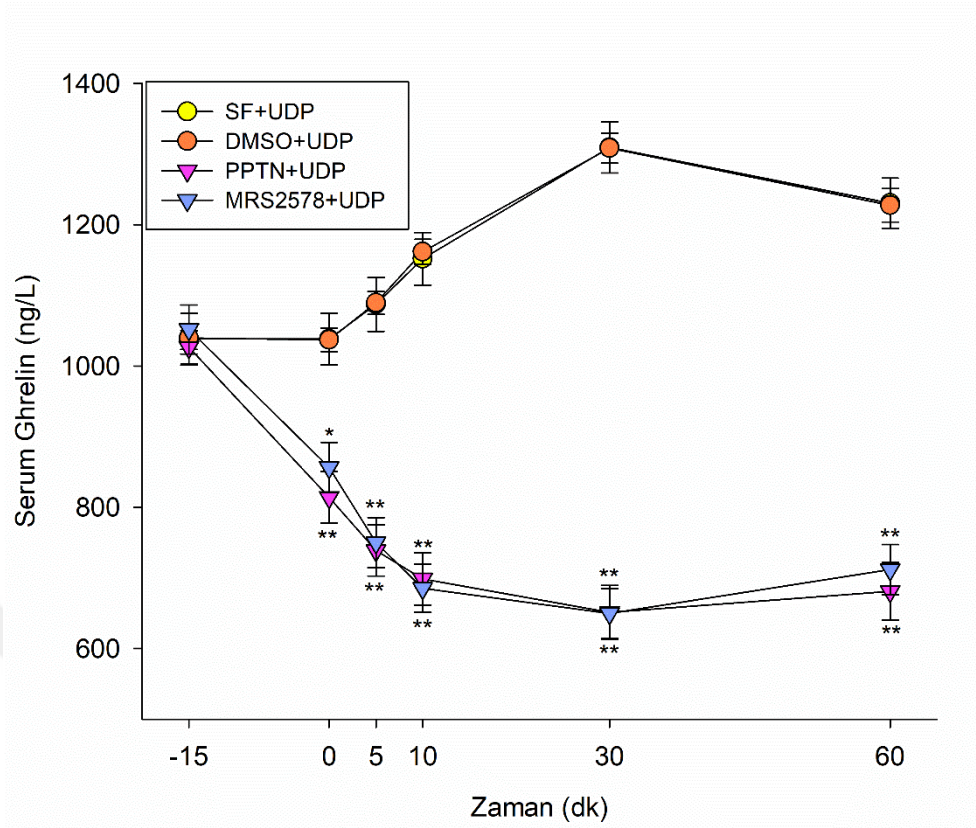
Serum ghrelin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. SF grubu ile karşılaştırıldığında isv yolla uygulanan UDP'nin 30. ve 60. dakikalarda serum ghrelin düzeylerini anlamlı şekilde artırdığı görüldü (*p<0,001). UTP'nin ise 10., 30. ve 60. dakikalarda serum ghrelin düzeylerini anlamlı olarak azalttığı belirlendi (*p<0,001). UDP ile karşılaştırıldığında UTP'nin 5. dakikadan itibaren serum ghrelin seviyelerini anlamlı olarak artırdığı görüldü (*p<0,001) (Şekil 20).



Şekil 20. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum ghrelin düzeyleri üzerine etkileri. * $p < 0,001$ SF grubuna kıyasla; + $p < 0,001$ UDP grubuna kıyasla.

4.3.2 MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum ghrelin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

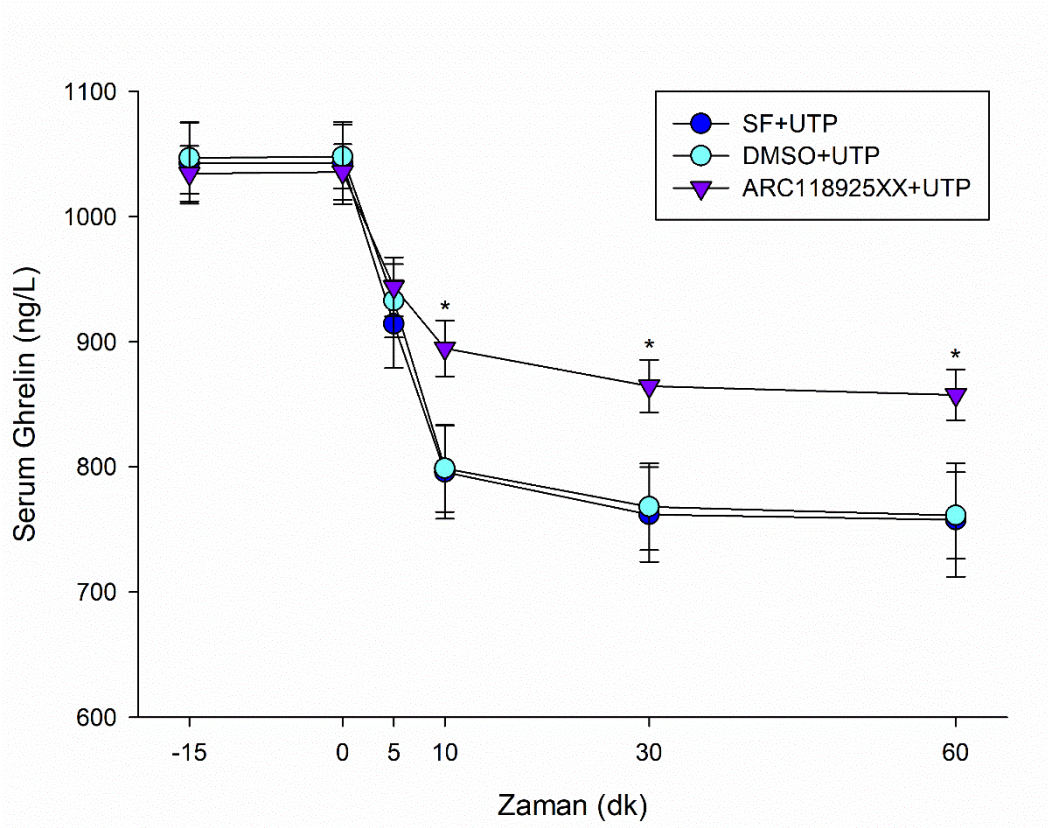
DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UDP enjeksiyonu (DMSO+UDP grubu) ile SF+UDP uygulaması arasında serum ghrelin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. PPTN+UDP grubunda 0. dakikadan itibaren serum ghrelin düzeyleri anlamlı şekilde düşük bulundu (** $p < 0,001$). MRS2578+UDP grubunda da 0. dakikadan itibaren serum ghrelin düzeylerinde anlamlı bir artış görüldü (0. dk * $p < 0,01$; 5., 10., 30. ve 60. dk ** $p < 0,001$) (Şekil 21).



Şekil 21. P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve UDP'nin serum ghrelin düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,01 ve **p<0,001 SF+UDP grubuna kıyasla.

4.3.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum ghrelin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UTP enjeksiyonu (DMSO+UTP grubu) ile SF+UTP uygulaması arasında serum ghrelin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. ARC-118925XX, UTP uygulamasından sonraki 10. dakikadan itibaren UTP'nin serum ghrelin düzeyini azaltıcı etkisini anlamlı şekilde baskıladı (*p<0,05) (Şekil 22).

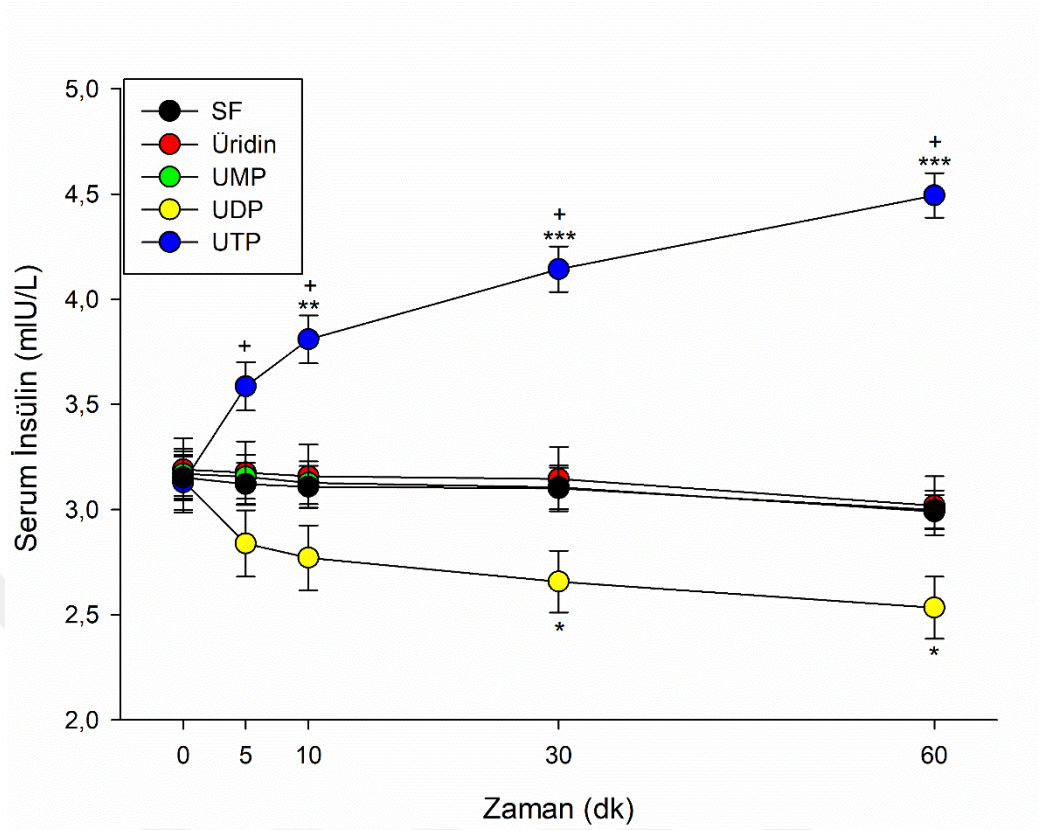


Şekil 22. P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX ve UTP'nin serum ghrelin düzeyleri üzerine etkileri. #p<0,05 SF+UTP grubuna kıyasla.

4.4. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum İnsülin Düzeyleri Üzerine Etkileri

4.4.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum insülin düzeyleri üzerine etkileri

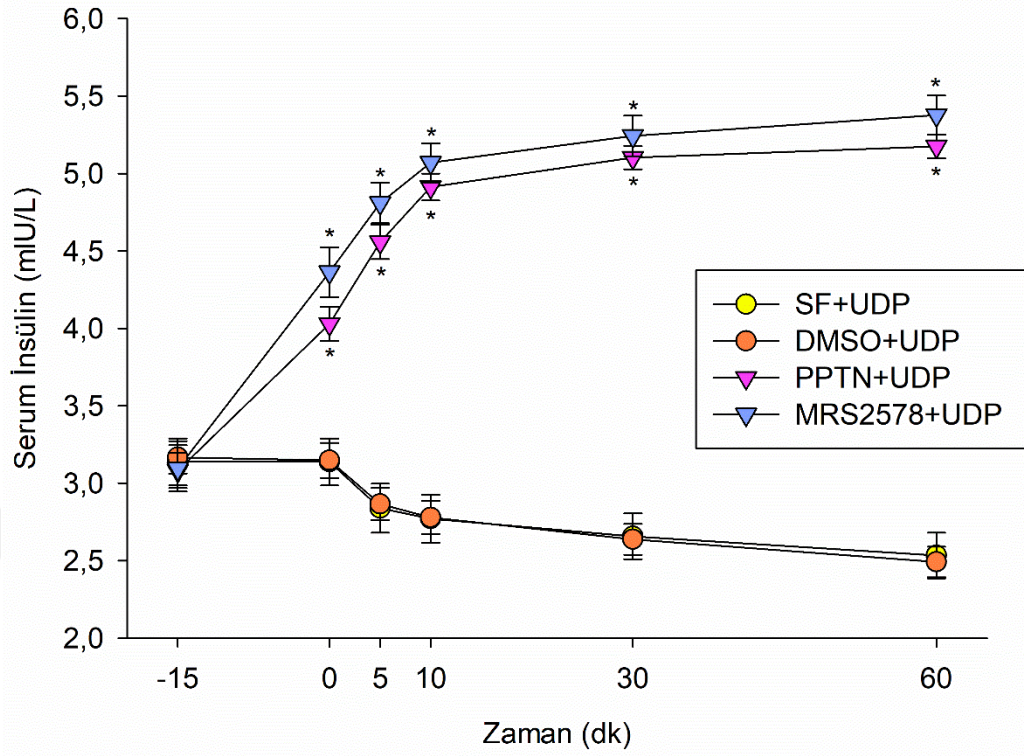
Serum insülin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. SF grubu ile karşılaştırıldığında isv yolla uygulanan UDP'nin 30. ve 60. dakikalarda serum insülin düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı görüldü (*p<0,05). UTP'nin ise 10. (**p<0,01), 30. ve 60. dakikalarda (***p<0001) serum insülin düzeylerini anlamlı olarak artırdığı belirlendi. UDP ile karşılaştırıldığında UTP'nin 5. dakikadan itibaren serum insülin seviyelerini anlamlı olarak artırdığı görüldü (+p<0,001) (Şekil 23).



Şekil 23. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum insülin düzeyleri üzerine etkileri. * $p<0,05$ ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ SF grubuna kıyasla; + $p<0,001$ UDP grubuna kıyasla.

4.4.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum insülin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

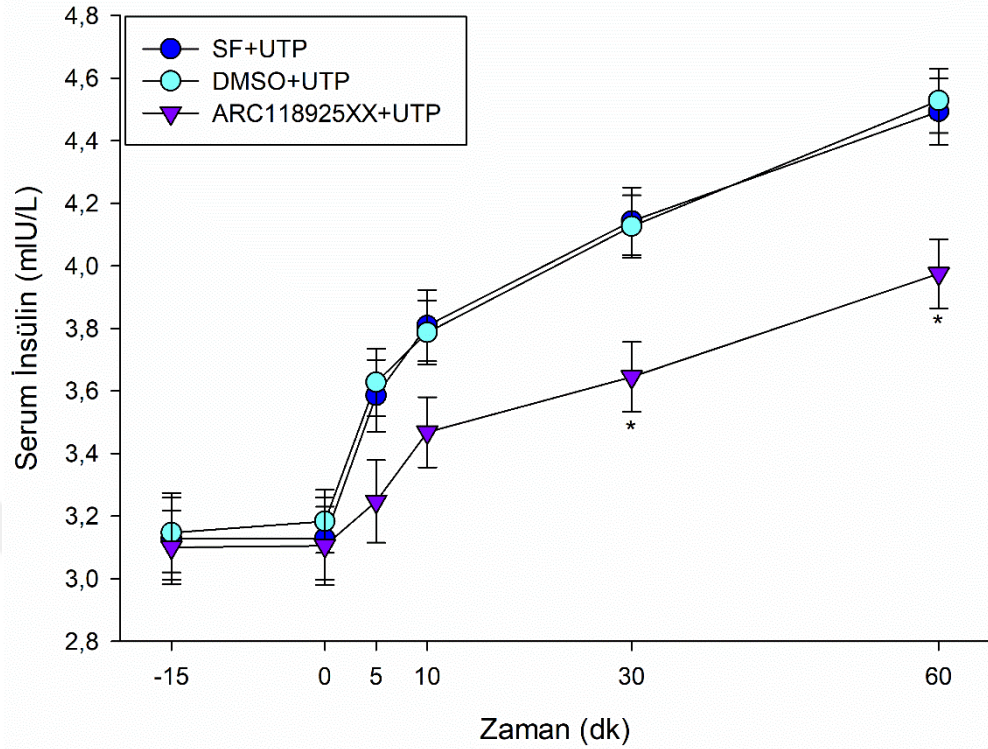
DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UDP enjeksiyonu (DMSO+UDP grubu) ile SF+UDP uygulaması arasında serum insülin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. PPTN+UDP ve MRS2578+UDP gruplarında 0. dakikadan itibaren serum insülin düzeyleri anlamlı şekilde yüksek bulundu (* $p<0,001$) (Şekil 24).



Şekil 24. P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve UDP'nin serum insülin düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,001 SF+UDP grubuna kıyasla.

4.4.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum insülin düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UTP enjeksiyonu (DMSO+UTP grubu) ile SF+UTP uygulaması arasında serum insülin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. ARC-118925XX, UTP uygulamasından sonraki 30. dakikadan itibaren UTP'nin serum insülin düzeyini artırıcı etkisini anlamlı şekilde baskıladı (*p<0,05) (Şekil 25).

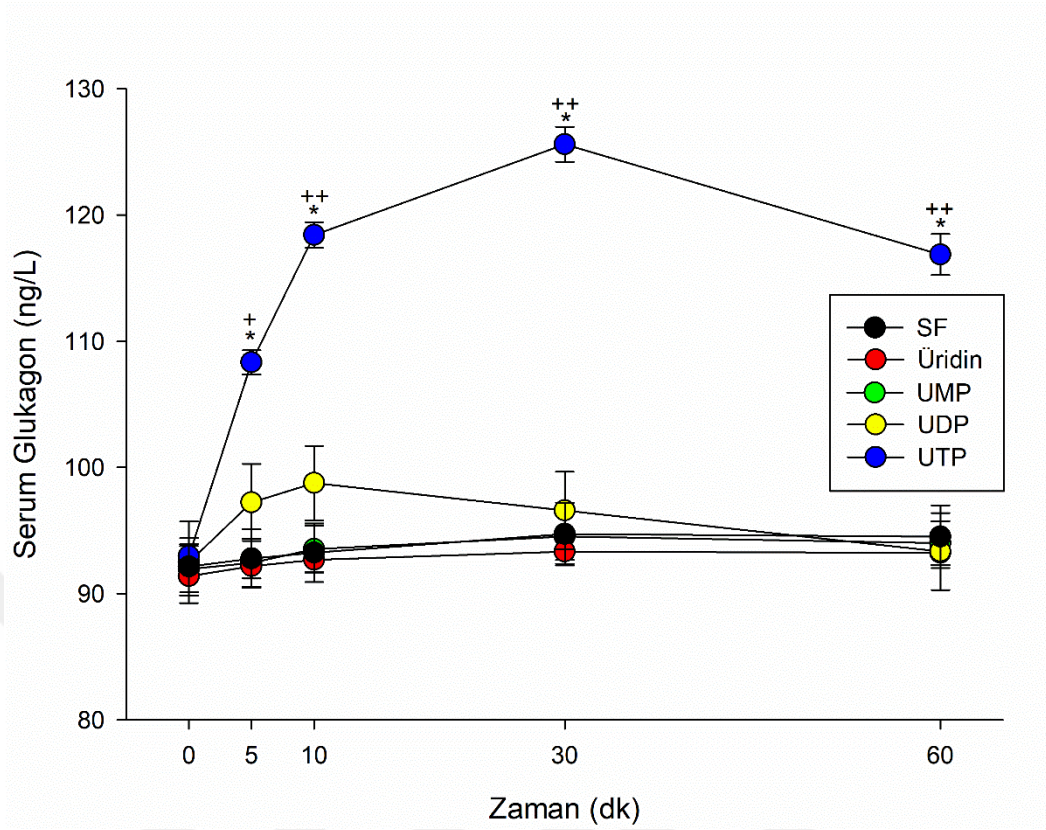


Şekil 25. P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX ve UTP'nin serum insülin düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,05 SF+UTP grubuna kıyasla.

4.5. İntraserebroventriküler Yolla Uygulanan Üridin, Üridin Nükleotidleri ve P2Y Reseptör Antagonistlerinin Serum Glukagon Düzeyleri Üzerine Etkileri

4.5.1. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum glukagon düzeyleri üzerine etkileri

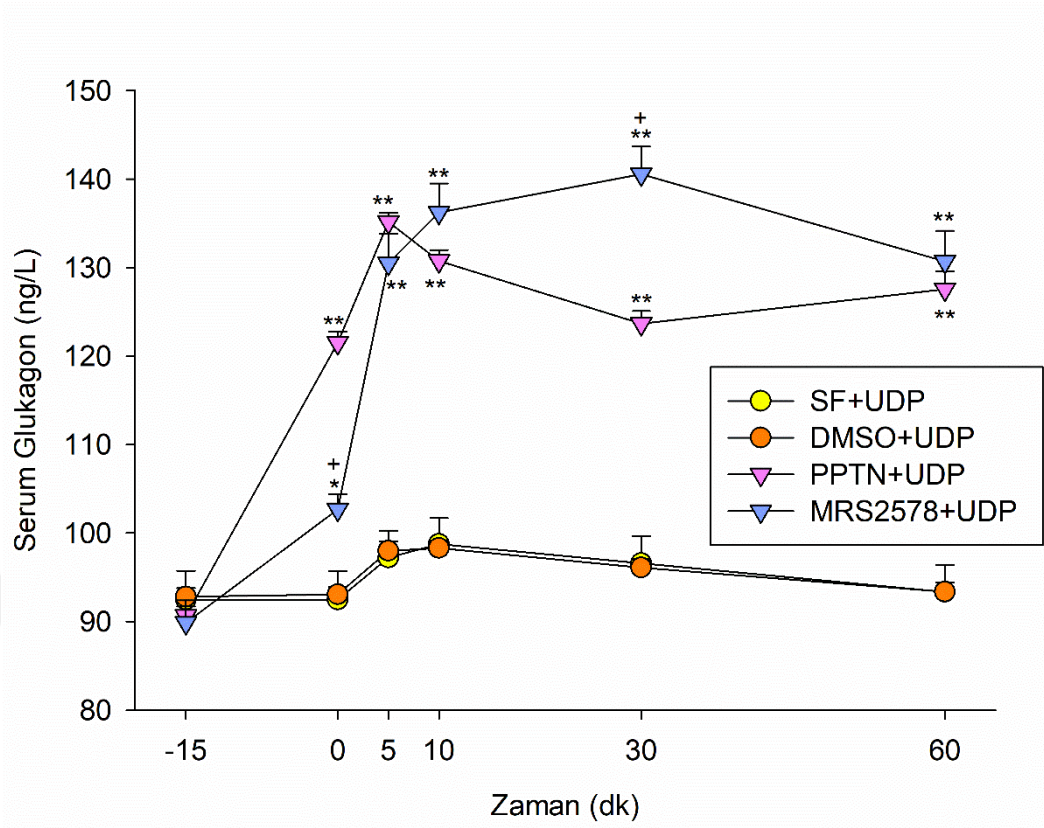
Serum glukagon düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. SF grubu ile karşılaştırıldığında isv yolla uygulanan UDP'nin 5. ve 10. dakikalarda serum insülin düzeylerini artırdığı görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. UTP'nin ise 5. dakikadan itibaren serum glukagon düzeylerini anlamlı olarak artırdığı belirlendi (*p<0,001). UDP ile karşılaştırıldığında UTP'nin 5. dakikadan itibaren serum glukagon seviyelerini anlamlı olarak artırdığı görüldü (Şekil 26).



Şekil 26. Üridin ve üridin nükleotidlerinin serum glukagon düzeyleri üzerine etkileri. * $p < 0,001$ SF grubuna kıyasla; $^+p < 0,01$ ve $^{++}p < 0,001$ UDP grubuna kıyasla.

4.5.2. MRS2578 ve PPTN hidroklorür ön tedavisinin UDP ile gözlenen serum glukagon düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

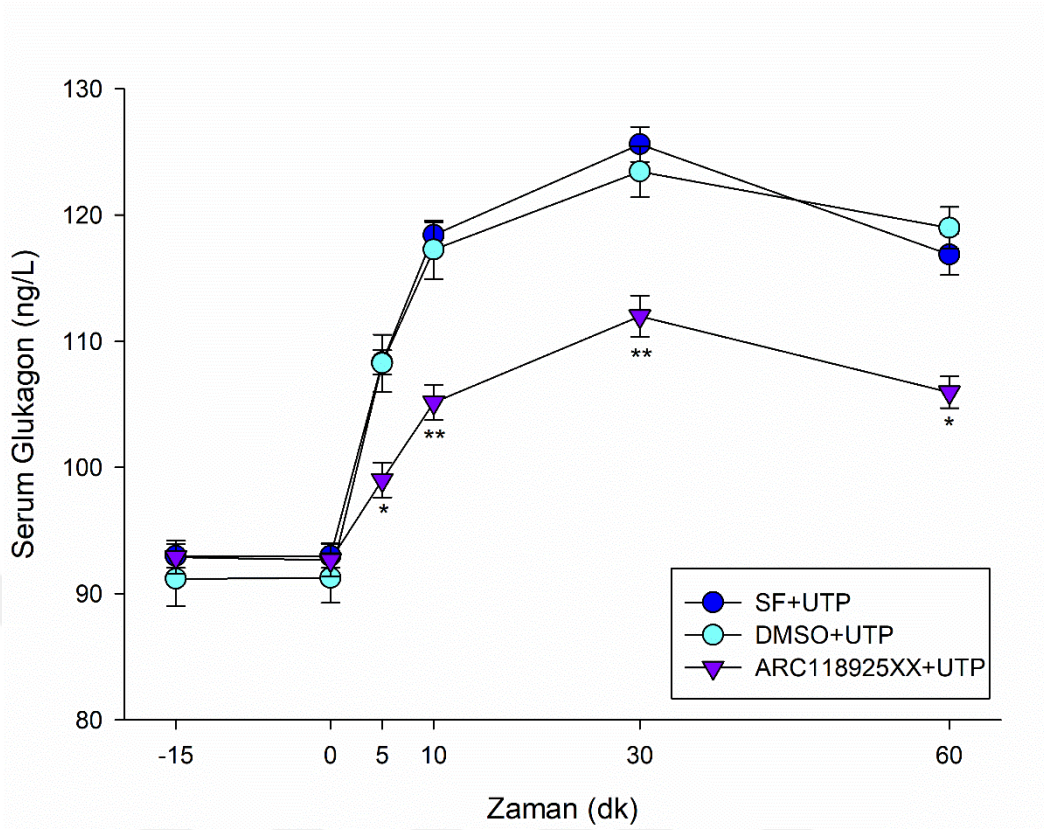
DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UDP enjeksiyonu (DMSO+UDP grubu) ile SF+UDP uygulaması arasında serum glukagon düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. PPTN+UDP ve MRS2578+UDP gruplarında 0. dakikadan itibaren serum glukagon düzeyleri anlamlı şekilde yüksek bulundu (Şekil 27). PPTN+UDP grubuna kıyasla MRS2578 grubu 0. dakikada kan şekerini daha az yükseltmesine rağmen, 30. dakikada kan şekerini anlamlı şekilde daha fazla artırdı ($^+p < 0,001$)



Şekil 27. P2Y₁₄ reseptör antagonisti PPTN hidroklorür, P2Y₆ reseptör antagonisti MRS2578 ve UDP'nin serum glukagon düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,05 ve **p<0,001 SF+UDP grubuna kıyasla, +p<0,001 PPTN+UDP grubuna kıyasla.

4.5.3. ARC-118925XX ön tedavisinin UTP ile gözlenen serum glukagon düzeylerindeki değişiklikler üzerine etkileri

DMSO ön tedavisinden sonra yapılan UTP enjeksiyonu (DMSO+UTP grubu) ile SF+UTP uygulaması arasında serum glukagon düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. ARC-118925XX, UTP uygulamasından sonraki 5. dakikadan itibaren UTP'nin serum glukagon düzeyini artırıcı etkisini anlamlı şekilde baskıladı (Şekil 28).



Şekil 28. P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX ve UTP'nin serum glukagon düzeyleri üzerine etkileri. *p<0,01 ve **p<0,001 SF+UTP grubuna kıyasla.

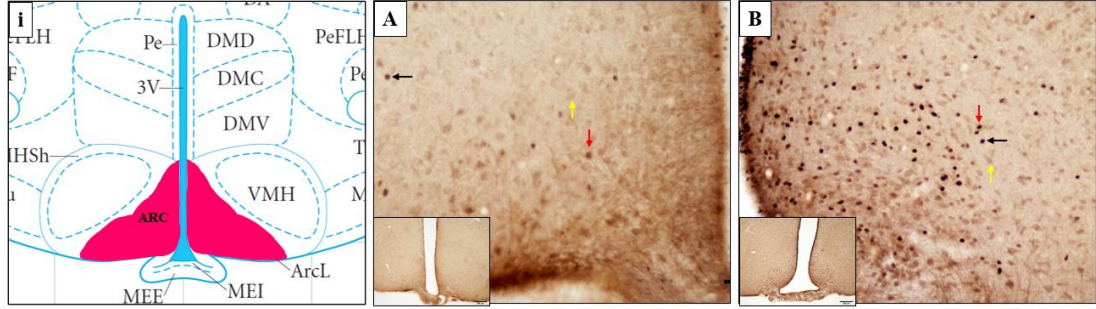
4.6. Histolojik Bulgular

4.6.1. UTP'nin aktivasyon sağladığı P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarda ortaya çıkan nöronal aktivasyonun araştırılması

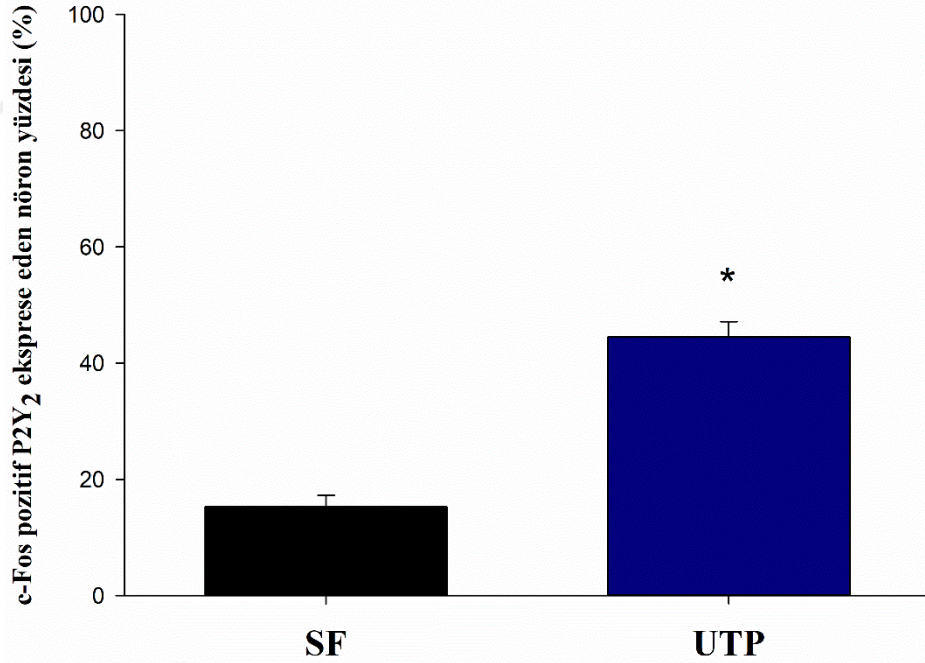
4.6.1.1. ARC'de P2Y₂ reseptörünü eksprese eden nöronlarda c-Fos aktivasyonu

Arkuat çekirdekte pirimidinerjik reseptörlerden P2Y₂ ekspresyonu immünohistokimyasal boyama ile belirlendi. UTP'nin aktivasyon sağladığı P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarda c-Fos varlığı elde edilen kesitlerde ikili indirekt immünoperoksidaz yöntemi kullanılarak belirlendi. Yapılan sayımlar sonucunda ARC'de c-Fos-pozitif P2Y₂ eksprese eden nöronların yüzdesi SF grubunda %15,23±1,97, UTP grubunda ise %44,5±2,68 olarak bulundu (Şekil 29).

İstatistiksel analizler sonucunda; UTP grubunda, SF grubuna göre ARC’de c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarının yüzdesinin anlamlı olarak fazla olduğu bulundu ($p<0,001$) (Şekil 30).



Şekil 29. SF ve UTP grubunda ikili indirekt immünoperoksidaz işaretleme tekniği ile ARC’de P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarda c-Fos ekspresyonu. i) ARC’nin lokalizasyonu A) SF grubu, B) UTP grubu. 100X 200X. ARC’de c- Fos pozitif nöron çekirdekleri siyah renkli (siyah ok), P2Y₂ reseptör eksprese eden nöron kahverengi renkli (sarı ok), c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlar kırmızı ok ile gösterilmektedir.

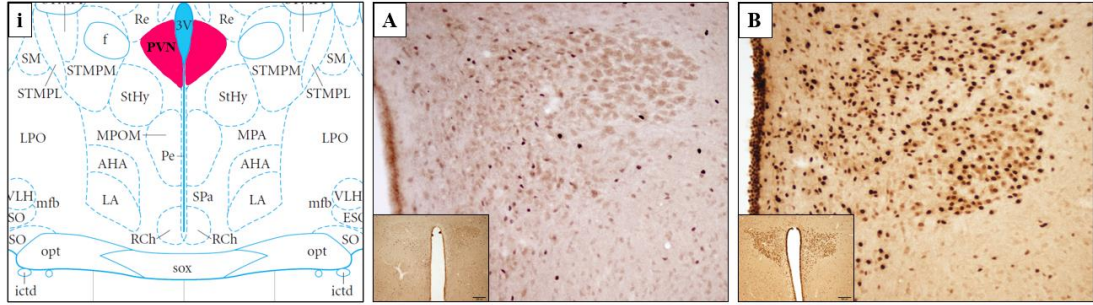


Şekil 30. SF ve UTP’nin isv enjeksiyonu sonrası ARC’de c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöron oranlarının karşılaştırılması (* $p<0,001$).

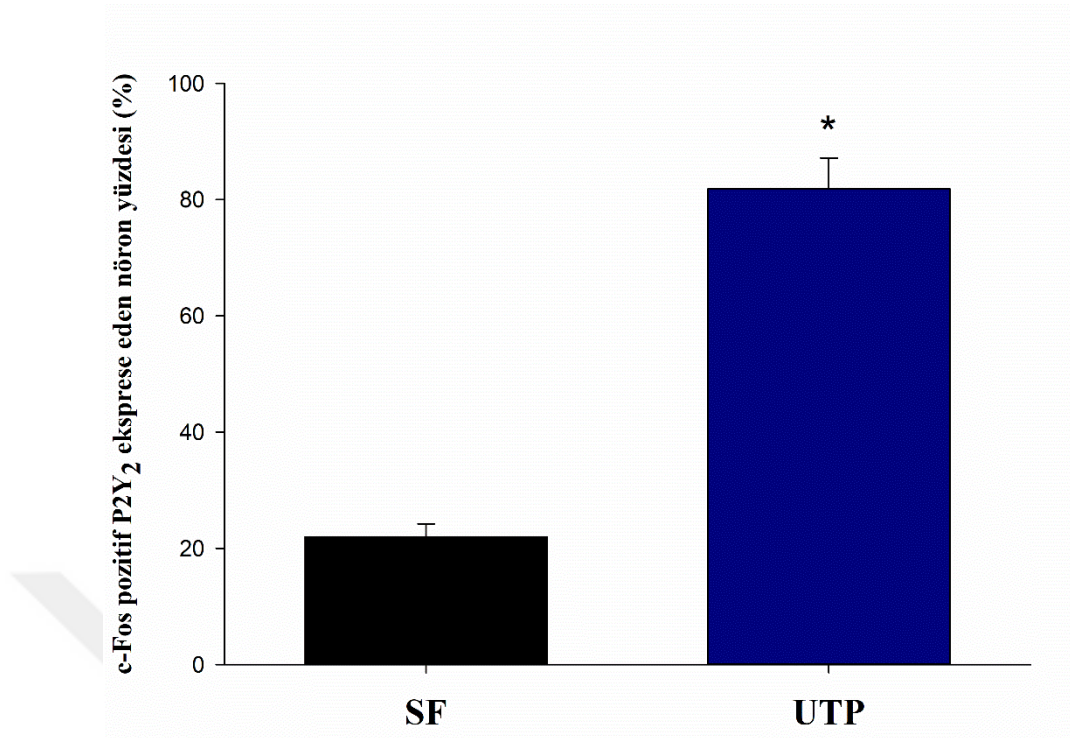
4.6.1.2. PVN’de P2Y₂ reseptörünü eksprese eden nöronlarda c-Fos aktivasyonu

Paraventriküler çekirdekte pirimidinerjik reseptörlerden P2Y₂ ekspresyonu immünohistokimyasal boyama ile belirlendi. UTP’nin aktivasyon sağladığı P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarda c-Fos varlığı elde edilen kesitlerde ikili indirekt immünoperoksidaz yöntemi kullanılarak belirlendi. Yapılan sayımlar sonucunda PVN’de c-Fos-pozitif P2Y₂ eksprese eden nöronların yüzdesi SF grubunda $21,91 \pm 2,26$, UTP grubunda ise $81,86 \pm 5,31$ olarak bulundu (Şekil 31).

İstatistiksel analizler sonucunda; UTP grubunda, SF grubuna göre PVN’de c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarının yüzdesinin anlamlı olarak fazla olduğu bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 32).



Şekil 31. SF ve UTP grubunda ikili indirekt immünoperoksidaz işaretleme tekniği ile PVN’de P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlarda c-Fos ekspresyonu. i) PVN’nin lokalizasyonu, A) SF grubu, B) UTP grubu. 100X 200X. PVN’de c-Fos pozitif nöron çekirdekleri siyah renkli (siyah ok), P2Y₂ reseptör eksprese eden nöron kahverengi renkli (sarı ok), c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöronlar kırmızı ok ile gösterilmektedir.



Şekil 32. SF ve UTP'nin isv enjeksiyonu sonrası PVN'de c-Fos-pozitif P2Y₂ reseptör eksprese eden nöron oranlarının karşılaştırılması (*p<0,001).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Üridin endojen olarak bulunan insan kan dolaşımındaki major pirimidin nükleozitidir (Cansev, 2006). Üridin vücutta serbest halde bulunabildiği gibi nükleotidlerin (mono-, di- ve tri-fosfatlı halleri), nükleotid şekerlerin (UDP-glukoz ve UDP-galaktoz) ve nükleik asitlerin yapısına girerek glikojen biyosentezi ve protein ve lipid glikolizasyonu gibi fizyolojik fonksiyonlarda yer alır (Lecca & Ceruti, 2008). Üridin RNA, biyomembranlar ve glutatyon sentezinde bir substrat olarak kullanılır. Kennedy yolağı (Kennedy & Weiss, 1956) aracılığıyla membran fosfolipid sentezinin bir prekürsörüdür ve bu yolağın hız kısıtlayıcı basamağında üretilen CDP-kolin sentezini in vitro ve in vivo koşullarda arttırdığı bilinmektedir (Richardson ve ark., 2003; Ulus, Watkins, Cansev & Wurtman, 2006; Zhang, 2020b). CDP-kolin sentezine kadar olan basamaklarda üridinin dışarıdan verilmesini takiben plazma ve beyin üridin seviyeleri ile beyin UDP ve UTP düzeylerini artırdığı da in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2005; Peters ve ark., 1987). UTP'nin hücre içi seviyelerinin serbest üridin seviyelerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Wurtman ve ark., 2000).

Üridin uygulamasının insanlarda ve spontan hipertansif sıçanlarda bilişsel eksiklikleri iyileştirdiği (De Bruin, Kiliaan, De Wilde & Broersen, 2003; Löffler, Fairbanks, Zameitat, Marinaki & Simmonds, 2005), yenidoğan hipoksik-iskemik ensefalopati ve hiperoksik beyin hasarı modellerinde beyin hasarını azaltarak uzun dönem takiplerde davranışsal parametrelerin düzelmesini sağladığı (Cansev ve ark., 2013; Koyuncuoglu ve ark., 2015), melatonin ile birlikte verildiğinde travmatik beyin hasarında görülen vazojenik beyin ödemi azalttığı (Kabadi & Maher, 2010) ve antiepileptik etkinliği olduğu (Roberts, 1973) gösterilmiştir. Ayrıca yakın zamanda türler arası metabolomik analiz yöntemiyle yapılan bir çalışmada üridinin rejenerasyonu teşvik edici bir molekül olduğu bulunmuştur (Liu ve ark., 2022).

Üridinin etki mekanizmaları halen araştırılmakla beraber bugüne kadar üridinin, ya da tek fosfat bağlı nükleotidi olan UMP'nin uyardığı bir reseptör gösterilememiştir. Ancak üridinin di- ve tri-fosfat eklenmiş nükleotidleri olan UDP'nin P2Y₆ ve P2Y₁₄ reseptörlerini ve UTP'nin P2Y₂ ve P2Y₄ reseptörlerini uyardığı bilinmektedir (Jacobson ve ark., 2020).

Üridin nükleotidleri metabotropik P2Y reseptörleri için ligandlardır. UTP, UDP ve UDP şekerleri P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ ve P2Y₁₄ reseptör tiplerinden bir veya daha fazlasını aktive edebilmektedir. UTP, P2Y₂ (ATP tarafından eşit potansiyelde etkinleştirilen) (Lustig, Shiao, Brake & Julius, 1993) ve P2Y₄ (Communi, Piroton, Parmentier & Boeynaems, 1995) reseptörlerini aktive ederken, P2Y₆ ve P2Y₁₄ reseptörlerinin fizyolojik agonisti UDP'dir (Communi, Motte, Boeynaems & Piroton, 1996). P2Y₂, P2Y₄ ve P2Y₆ reseptörlerinin üridin nükleotidleri ile uyarılması, fosfolipaz C (PCL) aktivasyonunu takiben hücre içi Ca²⁺ salınımını indükleyen ve protein kinaz C'yi (PKC) aktive eden ikincil haberciler, inositol 1,4,5-trisfosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşturmaktadır. İnsan adipoz dokusundan türetilen multipotent kök hücrelerin çeşitli pürinerjik reseptörler (P2X ve P2Y serileri) ifade ettiği, ancak P2Y₂ ve P2Y₆ reseptörlerinin, hücre içi kalsiyum yanıtını oluşturmada baskın bir rol oynadığı bildirilmiştir (Ali, Turner & Fountain, 2018). P2Y₁₄ reseptörü, UDP ve UDP-glukoz olmak üzere UDP şekerleri tarafından uyarılmaktadır. Ayrıca Gi proteinlerine bağlanma yoluyla adenilat siklaz aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir (Abbracchio ve ark., 2006; Erb ve ark., 2006).

P2Y reseptörlerinin beyin dahil olmak üzere hemen hemen tüm doku ve organlardaki ekspresyonu önceki bir çalışmada detaylı olarak incelenmiştir (Moore ve ark., 2001). Aynı çalışmada P2Y₂, P2Y₄ ve P2Y₆ reseptörlerinin MSS'nin amigdala, kaudat nukleus, serebellum, singulat nukleus, globus pallidus, hipokampus, hipotalamus, locus seruleus, medial frontal girus, medulla oblongata, nucleus accumbens, parahipokampal girus, putamen, striatum, substantia nigra, superior frontal girus, talamus ve spinal kord gibi incelenen tüm bölgelerinde eksprese edildiği RT-PCR analizleri ile gösterilmiştir (Moore ve ark., 2001). Bu çalışmada P2Y₁₄ reseptörleri incelenmemiş olsa da P2Y₁₄ reseptörlerinin ilk tanımlandığı ve karakterize edildiği makalede bu reseptörlerin de MSS'nin üstte belirtilen tüm bölgelerinde eksprese edildiği bildirilmiştir (Chambers ve ark., 2000). P2Y reseptörlerinin ilgili alt tipleri MSS'de lokalize olduğu nöronlarda immünohistokimyasal olarak da gösterilmiştir (Amadio ve ark., 2007; Steculorum ve ark., 2017). Dolayısıyla UDP ve UTP'nin reseptörlerini uyarmak suretiyle sinir sisteminde çeşitli etkiler gösteriyor olması son derece muhtemeldir.

MSS'nin çeşitli fonksiyonlarında P2Y reseptörlerinin katılımı olduğu bugüne kadar yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda kanıtlanmıştır. P2Y reseptör uyarımının nöronların proliferasyon, farklılaşma ve büyümesinde; hücreler arası sinyalleşme, nörotransmisyon ve uzun-süreli potensiasyonda (long-term potentiation [LTP]); ve nöroproteksiyon ve hücre yaşam süresinin uzatılmasında (survival) rolü bulunmaktadır (Cansev, 2007). Bu bilgiler bize beyinde pirimidinerjik bir transmisyon olabileceğini ve ilaveten dışarıdan uygulanan üridinin beyindeki bazı etkinliklerini UDP ve UTP'ye dönüşmesini takiben P2Y reseptörlerinin uyarılması aracılığıyla gösteriyor olabileceği düşünülmektedir. Pirimidinerjik transmisyonunun ilk göstergeleri önceki in vitro çalışmalarda üridinin nöronal hücrelere alınarak pirimidin nükleotid sentezinde kullanıldığı, (Cansev, 2006) üretilen pirimidin nükleotidlerinin de hem bazal koşullarda (Lazarowski ve ark., 1997) hem de stres koşulları altında (Lazarowski ve ark., 2000) glial hücrelerden salıverildiği bilgilerine dayanmaktadır. Laboratuvarımızda yaptığımız çalışmalar, 2015 yılında in vivo "Pirimidinerjik Nörotransmisyon" kavramını bilimsel literatüre kazandırmıştır (Cansev ve ark., 2015). Bu çalışmada, beyinde bazal ve depolarizasyon ile indüklenen üridin, UDP ve UTP'nin ekstrasellüler alana salıverilmesi gösterilerek in vivo pirimidinerjik nörotransmisyon kanıtlanmış ve pirimidinerjik nörotransmisyonun aktive edilmesini takiben P2Y₂ reseptörleri aracılığıyla kolinerjik nörotransmisyonun uyarıldığı gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2015).

Yakın zamanda laboratuvarımızda yapılan bir tez çalışmasında merkezi yolla uygulanan pirimidin bileşiklerinin kardiyovasküler etkileri detaylı olarak incelenmiştir (Salman, 2022). Çalışmada UDP ve UTP'nin intraserebroventriküler yolla uygulanması sonucu kan basıncının anlamlı olarak arttığı ve etkide vazopressin ve oksitosin hormonlarının aracılığı olduğu gösterilmiştir (Salman, 2022). Mevcut tez çalışmasının amacı da merkezi yolla uygulanan pirimidin bileşiklerinin metabolik ve nöroendokrin etkileri ile muhtemel etki mekanizmalarını incelemektir. Zira aşağıda bahsedilen bazı çalışmalar pirimidinerjik sistemin endokrin ve metabolik düzenlemede rolü olduğuna dair kanıtlar sunsa da merkezi pirimidinerjik düzenlemeye dair literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Üridin metabolik hastalıklar, tümörler ve nörodejeneratif hastalıklardaki önemli rolü ile dikkat çeken bir nükleozittir. Plazmadaki üridin seviyesi genellikle 3-

8 μ M arasında sıkı bir şekilde düzenlenir. Bu homeostatik denge, karaciğer ve yağ dokusundaki üretim ile safra yoluyla gerçekleşen temizlenme arasındaki dengeye dayanır. Normal beslenme sırasında karaciğer üridinin ana üretim yeri iken, açlık durumunda üretim, yağ dokusunda artar. Dolaşımdaki üridin safra yoluyla temizlenerek seviyeler dengelenir. Hücre içi üridin seviyeleri, ATP tüketimi ve glikojen senteziyle ilişkilidir. Üridin, hücrelere nükleozit taşıma sistemi aracılığıyla alınır ve enerji metabolizmasını etkiler (Yang, Ye, Deng & Gao, 2024).

Plazma üridin seviyelerindeki değişiklikler metabolik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Diyabet ve obezite gibi durumlarda yüksek üridin seviyelerinin glukoz toleransını olumsuz etkilediği ve yağlı karaciğer oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Yang ve ark, 2024). Özellikle kemirgen çalışmalarında, kronik yüksek üridin seviyelerinin bu metabolik bozuklukların ilerlemesine neden olabileceği bildirilmiştir (Yang ve ark, 2024).

Kısa süreli üridin uygulamasının karaciğer metabolizmasındaki etkilerini ve uzun süreli üridin seviyelerinin transgenik modellerdeki sonuçlarını araştıran bir çalışmada; kısa süreli üridin uygulamasının karaciğer protein glukozilasyon profillerini arttırdığı, insülin sinyal iletimine katılan proteinlerin fosforilasyon seviyesini azalttığı, karaciğer hem seviyesini düşürdüğü ve insülinle uyarılan kan glukozunu uzaklaştırma yeteneğini azalttığı gösterilmiştir (Urasaki, Pizzorno & Le, 2014). Uzun süreli üridin etkileri ise UPase1 KO farelerde çalışılmış. Uzun süreli endojen üridin seviyelerinin artışı, UPase1 KO farelerde insülinle uyarılan kan glukozu uzaklaştırma yeteneğini bozmuş ve karaciğer hem konsantrasyonu artmış bulunmuştur (Urasaki ve ark., 2014).

Karbonhidrat ve lipid metabolizmasının karaciğerde belirli bir sirkadiyen ritme göre düzenlendiği bildirilmiştir. Ayrıca üridin takviyesinin daha önceki çalışmalarda glukoz ve lipid homeostazını etkilediği gösterilmiş olsa da bu mekanizmalar hala net değildir. Bu nedenle, üridin takviyesinin günün uygun bir zamanında uygulanmasının farelerde obeziteyi hafifletip hafifletmeyeceğini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde vücut ağırlığı artışını azaltarak kilo kaybına katkıda bulunmuştur. Bu etkiler, karaciğer lipid ve nükleotid metabolizmasındaki sirkadiyen değişimlere aracılık etmiş ve uygulama zamanının

metabolik düzenlemelerde kritik bir rol oynadığını göstermiştir (Liu, Zhang, Yin, Ruan, Wu & Yin, 2019).

Senfeld ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada P2Y₂ reseptörünün hepatosit glukoz üretimi üzerine olan muhtemel etkisi değerlendirilmiştir (Senfeld, Peng, Shi, Qian & Shen, 2023). ATP ve UTP'nin hepatosit P2Y₂ reseptörünü uyardıktan sonra doza bağımlı şekilde glukozun hücre içine alınımını azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca ATP ve UTP'nin glukoneogenezi artırdığını ve ARC-118925XX ile bu artışın baskılandığını göstermişlerdir (Senfeld ve ark., 2023).

Zhang ve ark. yapmış olduğu çalışmada P2Y₂ reseptörünün, diyet kaynaklı obezite ve insülin direnci gelişimindeki rolü incelenmiştir. P2Y₂ reseptörünün tüm vücut KO olduğu ve wild tip (WT) fareler, 16 hafta boyunca ya normal kalorili bir diyetle (%10 yağ kalorisi) ya da yüksek yağlı bir diyetle (%60 yağ kalorisi) beslenmiştir. KO farelerin daha az kilo aldığı, beyaz yağ doku ağırlığının daha az olduğu, WT farelerde insülin, leptin ve adiponektin seviyeleri belirgin şekilde yükselirken KO farelerde bu artışın gözlenmediği bulunmuştur. KO farelerin glukoz toleransının ve insülin duyarlılığının ve ayrıca IRS-1 ve GLUT4 mRNA ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Zhang, Ecelbarger, Lesniewski, Müller & Kishore, 2020b).

Yapılan çalışmalarda P2Y₂ reseptörünün, iskelet kası, bağırsaklar, karaciğer, pankreas, beyaz ve kahverengi yağ dokuları gibi obezite ve insülin direnci gelişiminde rol oynayan organ ve dokularda ifade edildiği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2020).

WT veya KO farelerden türetilen preadipositlerle yapılan in vitro çalışmalar, P2Y₂ reseptörünün preadipositlerin adipositlere farklılaşması ve adipositlerin lipid birikimi sonucu olgunlaşmasında rol oynadığını göstermiştir. WT farelerden türetilen preadipositlerde P2Y₂ reseptör antagonisti ARC-118925XX'in adipogenezi baskılaması, P2Y₂ reseptörünün adipogenezdeki rolünü doğrulamıştır. Ayrıca ARC-118925XX'in adipositlere farklılaştırılan 3T3-L1 hücre hattında benzer bir etki yaratması, bu etkinin hücre tipinden bağımsız olduğunu ve P2Y₂ reseptörünün aktivitesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark., 2020).

Purinerjik reseptörlerin kök hücre farklılaşmasında rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Kaebisch, Schipper, Babczyk & Tobiasch, 2015). Li ve ark. UTP'nin kemik iliği kaynaklı stromal hücrelerin osteojenik farklılaşmasını baskımlarken, P2Y₂

reseptörünü aktive ederek adipogenik farklılaşmayı artırdığını belirlemiş ve bu etkinin ERK1/2 sinyal yolu aracılığıyla gerçekleştiğini bildirmiştir (Li ve ark., 2016). Bu nedenle, P2Y₂ KO farelerin yüksek yağlı diyet ile indüklenmiş obeziteye dirençli olmalarının, vasküler stromal hücrelerin preadipositlere farklılaşmamasından kaynaklanabileceği sonucuna varılabilir. KO farelerden izole edilen preadipositlerin adipositlere farklılaşma ve olgunlaşma süreçlerinde bozulma göstermesi, P2Y₂ reseptörünün bu süreçteki rolünü ortaya koymaktadır. Ancak, vasküler stromal hücrelerin preadiposit soyuna farklılaşmamasından kaynaklanan bir azalma olabileceği de öne sürülebilir. WT farelerden türetilen preadipositlerde ARC-118925XX ile adipogenez baskılanması bu argümana karşı durmaktadır. Ayrıca ARC118925XX'in 3T3-L1 hücrelerinin adipositlere farklılaşmasını ve olgunlaşmasını baskılaması bu durumu daha da desteklemektedir.

İnsan primer visseral preadipositlerini (öncül yağ hücreleri) kullanarak yapılan bir çalışmada, preadipositten olgun adiposite farklılaşma sırasında sekiz bilinen P2Y reseptörü arasında P2Y₂ reseptörünün en fazla up-regüle olan alt tip olduğu gösterilmiştir (Qian, Shi, Senfeld, Peng & Shen, 2023). P2Y₂ reseptörünün uyarılmasının, olgun adipositlerde bazal ve insülinle indüklenen AKT fosforilasyonunu baskıladığı, buna GLUT4 membran translokasyonu ve glukoz alımında azalmanın eşlik ettiği saptanmıştır (Qian ve ark., 2023). Ayrıca hücrelere ARC-118925XX uygulaması adipogenezini önemli ölçüde engellemiştir. P2Y₂ KO hayvanlarda, WT farelere kıyasla daha düşük vücut ağırlığı artışı ve daha az makrofajla infiltre olmuş daha küçük eWAT (epididimal beyaz yağ dokusu) kütlesi ile gözlenmiştir (Qian ve ark., 2023). Bu durum, P2Y₂ reseptörünü obezite ve tip-2 diyabetle mücadelede potansiyel yeni bir ilaç hedefi olarak öne çıkarmaktadır.

Bahsi edilen bulguların aksine başka bir çalışma ise miyeloid hücrelerde ifade edilen P2Y₂ reseptörünün yüksek yağlı diyetle indüklenen sistemik inflamasyon, insülin direnci ve obeziteden sorumlu olmadığını göstermektedir (Adamson, Montgomery, Seaman, Peirce-Cottler & Leitinger, 2018).

Ulbricht ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada, P2Y₂ reseptörünün glukoz metabolizmasındaki cinsiyete özgü farklılıkları ve bu farklılıkların lipopolisakkarit ile akut inflamasyon sırasında nasıl etkilendiği incelenmiştir. P2Y₂ reseptörü, erkek farelerde glukoz metabolizmasını düzenlemede, özellikle inflamatuvar durumlarda,

önemli bir role sahipken, dişi farelerde bu etkinin çok daha az olduğu sonucuna varılmıştır (Ulbricht ve ark., 2023).

Obez olmayan diyabetik fare modelinde hem P2Y₂ hem de P2Y₆ reseptörlerinin, insülin bağımlı diyabet ile ilişkili gen bölgelerinde bulunduğu gösterilmiştir (Madsen, Banday, Mritz, Trygg & Lejon, 2012). Bu bulgu bahsi geçen reseptörlerin diyabet üzerindeki önemine dikkat çekmektedir.

P2Y₄ alt tipi sınırlı bir doku dağılımına sahiptir ve esas olarak bağırsak, akciğer, kalp, kardiyak yağ dokusu, pankreas ve plasentada bulunur (Communi ve ark., 1995; Horckmans ve ark., 2012; Lemaire ve ark., 2017; Suarez-Huerta, Pouillon, Boeynaems, Robaye & Jeener'', 2001). İnsan P2Y₄ reseptörü bir UTP reseptörüdür, ancak fare P2Y₄ reseptörü hem ATP hem de UTP tarafından aktive edilir (Suarez-Huerta ve ark., 2001). P2Y₄ reseptörü, Gq/11 proteinlerine bağlanabildiği gibi Gi proteinlerine de bağlanabilmektedir (Communi ve ark., 1996). Bu proteinler anti-lipolitik bir etkiye sahiptir.

İnsanlarda P2Y₄ reseptörünün metabolizma ile ilişkisi üzerine ilk kez yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı (KAH) olan 50 hasta ile yaşları uyumlu 50 kontrol bireyini içeren bir popülasyon ile çalışılmış ve P2Y₄ mutasyonlarını ve bunların KAH şiddeti ve açlık plazma parametreleri ile olası ilişkisi analiz edilmiştir (Horckmans ve ark., 2022). Araştırılan mutasyonlar arasında, P2Y₄ reseptörünün ikinci ekstraselüler döngüsünde yer alan, 178. pozisyondaki asparajinin treoninle (N178T) yer değiştirmesine yol açan kodlayıcı bir bölge polimorfizmi (rs3745601) keşfedilmiştir. N178T varyantı, insan P2Y₄ reseptörünün fonksiyonu olmayan mutasyondur. Bu varyantın koroner hastalarda hasta olmayan bireylere kıyasla daha az görüldüğü bulunmuştur. Koroner hastalar içinde ise N178T varyantına sahip olanların, açlık plazma parametreleri açısından daha düşük glukoz konsantrasyonuna sahip olduğu gösterilmiştir. N178T mutasyonuna sahip olan ve olmayan hastalar arasında plazma lipid düzeyleri veya yaş, bel çevresi ve vücut kitle indeksi gibi antropometrik parametreler açısından hiçbir fark görülmemiştir (Horckmans ve ark., 2022). Aynı çalışmada farelerde P2Y₄ KO yapılmasının, miyokard enfarktüsüne karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Bu durumun, adipositlerden adiponektin salgısının artması ve iskemi koşullarında kardiyak inflamasyonun azalmış olması ile ilişkili olduğu öne

sürülmüştür. Bu nedenle, P2Y₄ antagonistleri miyokard enfarktüsü ve tip 2 diyabet tedavisinde terapötik uygulamalara sahip olabilir.

Başka bir çalışmada reseptör aktivasyonunun kardiyak yağ dokusundan türetilen kök hücre farklılaşmasını inhibe ettiği ve P2Y₄ reseptör eksikliği olan farelerin daha fazla kardiyak yağ dokusu kütlesi geliştirdiği bulunmuştur (Lemaire ve ark., 2017).

UDP ve P2Y₆ reseptörünün metabolik düzenlemedeki rollerinin araştırıldığı in vitro çalışmalarda birbirine zıt bulgulara ulaşılmıştır (Ohtani ve ark., 2008; Parandeh ve ark., 2008). Ohtani ve ark. pankreas adacıklarının primer kültürleri ve insülinoma hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada UDP uygulamasının, özellikle yüksek glukoz varlığında, P2Y₆ reseptör uyarımı aracılığıyla insülin salgılanmasını baskıladığını göstermiştir (Ohtani ve ark., 2008). Diğer yandan Parandeh ve ark. pankreas adacıkları ve saflaştırılmış β hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada UDP uygulamasının P2Y₆ reseptör uyarımı aracılığıyla insülin ve glukagon salgılanmasını artırdığını bildirmiştir (Parandeh ve ark., 2008). Bu iki zıt bulgunun sebebi bilinmemektedir. Ancak her iki çalışmada da bahsi edilen hücreler üzerinde P2Y₂ ve P2Y₄ reseptörlerinin bulunmadığı ve UTP'nin in vitro olarak bu hücrelerin hormon salgılaması üzerine bir etkisi olmadığı tutarlı bir şekilde gösterilmiştir (Ohtani ve ark., 2008; Parandeh ve ark., 2008).

Merkezi P2Y reseptörlerinin endokrin ve metabolik düzenlemede oynadıkları role ilişkin çalışmaların son yıllarda arttığı görülmektedir. Bu çalışmalardan birinde, obezite oluşturulan deney hayvanlarında kandaki üridin konsantrasyonlarının yüksek olmasına bağlı olarak hipotalamik UDP miktarının arttığı, merkezi yolla uygulanan UDP'nin P2Y₆ reseptörleri aracılığıyla oreksijenik AgRP nöronlarını uyararak besin alımını teşvik ettiği ve bu etkinin farmakolojik veya genetik inhibisyon ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (Steculorum ve ark., 2015). Aynı grubun takip eden bir diğer çalışmasında ise obezitede P2Y₆ reseptör delesyonunun vücut yağ kütlesini azaltarak insülin duyarlılığını artırdığı ve bu etkinin AgRP nöronlarına spesifik olduğu bildirilmiştir (Steculorum ve ark., 2017) Ancak bahsi edilen bu çalışmalarda plazma hormon düzeyleri incelenmemiştir.

Başka bir çalışmada, P2Y₆ reseptörünün adipositlerdeki eksikliğinin metabolik sonuçları incelenmiştir (Jain ve ark., 2020). Bulgulara göre, adiposite spesifik P2Y₆

reseptör KO farelerde diyetle indüklenen obezite oluşmazken, glukoz toleransı ve insülin duyarlılığı iyileşmiş ve sistemik inflamasyon azalmıştır. Bu olumlu etkiler, JNK sinyal yollarının azalması, PPAR α 'nın artan ekspresyonu ve aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu süreç, beyaz yağ dokusunun kahverengiye dönüşmesine yol açan PGC1 α seviyelerini etkilemiştir. Buna karşın, iskelet kasındaki P2Y₆ eksikliği glukoz alımını azaltarak glukoz homeostazını bozmuştur. İlginç bir şekilde, tüm vücut P2Y₆ KO fareleri, sadece adiposite spesifik P2Y₆ KO farelerle benzer metabolik iyileşmeler göstermiştir. Bu sonuçlar, P2Y₆ reseptör antagonistlerinin obezite ve tip 2 diyabet tedavisinde potansiyel olarak faydalı olabileceğini düşündürmektedir (Jain ve ark., 2020).

Mevcut tez çalışmasında isv yolla uygulanan üridin, üridin nükleotidleri ve ilgili P2Y reseptör antagonistlerinin açlık kan şekeri üzerine etkilerine bakıldığında 1 mmol UTP uygulamasının serum glukoz seviyelerini 65 mg/dL'den 169 mg/dL seviyelerine çıkararak kan şekeri üzerinde en belirgin etkiye sahip pirimidin bileşiği olduğu görülmüştür (Şekil 14). Üridin, UMP ve UDP daha düşük etkiler gösterse de SF grubuna kıyasla içlerinden sadece UDP'nin anlamlı olarak kan şekerini arttırdığı bulunmuştur. Bu sonuçlar üridin türevlerinin metabolik etkilerinin farklılık gösterebileceğini ve UTP'nin bu bağlamda en yüksek etkiyi sağladığına işaret etmektedir. UDP'nin reseptör antagonistleri olan PPTN ve MRS2578 enjeksiyonundan sonra açlık kan şekerinin DMSO+UDP grubuna göre yükseldiği görülmüştür (Şekil 15). Antagonistlerin UDP'nin etkisini inhibe etmek yerine kan şekerini daha da arttırmaları bu etkilerin hipotalamik alandaki çekirdekler üzerindeki muhtemel etkisine işaret etmektedir. P2Y₂ reseptör antagonisti olan ARC-118925XX ise UTP'nin serum glukoz düzeyleri üzerine olan etkisini kısmen inhibe etmiştir (Şekil 16). Bu kısmi baskılamanın UTP'nin diğer reseptörü olan P2Y₄'ün UTP ile aktivasyonunun devam etmesi sonucunda olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular merkezi uygulama sonrası UDP ve UTP'nin serum glukoz düzeylerini artırdığını göstermekte ve kan şekerinin merkezi pirimidinerjik transmisyon aracılığı ile düzenlendiğine dair kanıtlar sunmaktadır.

Tez çalışmasındaki serum leptin düzeylerine bakıldığında üridin ve UMP uygulaması sonrası bir etki gözlenmezken, UTP'nin serum leptin düzeylerini artırdığı görülmüştür (Şekil 17). Bunun aksine UDP ise serum leptin düzeylerini düşürmüştür.

UDP reseptör antagonistleri serum leptin düzeyini 0. dk'ya kadar artırma eğilimine girse de sadece 0. dk'dan sonra devam eden artış anlamlı bulunmuştur (Şekil 18). P2Y₂ reseptör antagonisti olan ARC-118925XX ise UTP'nin neden olduğu serum leptin düzeylerindeki artışı kısmen baskılamıştır (Şekil 19). Bu kısmi baskılamının UTP'nin diğer reseptörü olan P2Y₄'ün UTP ile aktivasyonunun devam etmesi sonucunda olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular merkezi UDP uygulamasının oreksijenik, merkezi UTP uygulamasının ise anoreksijenik etkinliğe sahip olabileceğini düşündürmekte ve serum leptin düzeylerinin merkezi pirimidinerjik transmisyon aracılığı ile düzenlendiğine dair kanıtlar sunmaktadır. Bulgularımız merkezi yolla uygulanan UDP'nin oreksijenik AgRP nöronlarını uyardığını bildiren bir çalışma (Steculorum ve ark., 2015) ile uyumlu olup, UTP'nin anoreksijenik etki gösterebileceği ise literatürde ilk kez mevcut tez çalışmamızda gösterilmiştir.

Çalışmadaki serum ghrelin seviyelerine bakıldığında yine üridin ve UMP'nin etkisiz olduğu görülmüştür. UTP'nin serum ghrelin düzeylerini düşürürken, UDP'nin ise artırdığı bulunmuştur (Şekil 20). UDP reseptör antagonistleri serum ghrelin düzeylerini kendi başlarına anlamlı olarak düşürürken, bu düşüş 0. dakikada UDP enjeksiyonundan sonra da devam etmiştir (Şekil 21). UTP reseptör antagonisti UTP'nin neden olduğu ghrelindeki artışı kısmen baskılamıştır (Şekil 22). Bulgularımız merkezi UDP uygulamasının oreksijenik, merkezi UTP uygulamasının ise anoreksijenik etkinliğe sahip olabileceğini ve merkezi pirimidinerjik transmisyonun metabolik düzenlemedeki rolünü ghrelin hormon düzeyleri üzerinden bir kez daha kanıtlamaktadır. Yine bu bulgular merkezi yolla uygulanan UDP'nin oreksijenik AgRP nöronlarını uyardığını bildiren bir çalışma (Steculorum ve ark., 2015) ile uyumlu sonuçlar göstermektedir. UTP'nin ghrelin seviyelerini düşürmesi nedeniyle anoreksijenik etkinlik gösteriyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Tezdeki serum insülin düzeylerine bakıldığında üridin ve UMP uygulamasının etkisiz olduğu görülmüştür. UTP serum insülin düzeylerini 10. dakikadan itibaren artırırken, UDP ise 30. dakikadan itibaren serum insülin düzeylerini düşürmüştür (Şekil 23). UDP reseptör antagonistleri kendi başlarına serum insülin düzeylerini artırırken 0. dakikada UDP enjeksiyonundan sonra da bu artış devam etmiştir (Şekil 24). P2Y₂ reseptör antagonisti UTP'nin yaptığı insülin artışını 30. dakikadan itibaren kısmen baskılamıştır (Şekil 25). Merkezi yolla uygulanan UTP, SON ve PVN'deki

oksitosin ve nesfatin-1 nöronlarında aktivasyon artışına yol açmakla (Akbulut, 2024) beraber kan oksitosin düzeylerini de artırmaktadır (Salman, 2022). Oksitosinin isv verilmek suretiyle (Björkstrand, Eriksson & Uvnäs-Moberg, 1996) kan insülin düzeylerini artırdığı bilinmektedir. Ayrıca UTP'nin isv verildiğinde nesfatin-1 nöronlarındaki aktivasyonun arttığı da gösterilmiştir (Akbulut, 2024). Dolayısıyla merkezi yolla uygulanan UTP'nin serum insülin düzeylerini artırmasında SON ve/veya PVN'den oksitosin ve nesfatin-1 nöronlarını uyarması aracılık ediyor olabilir. Merkezi yolla uygulanan UDP'nin serum insülin düzeylerini azaltması ise UDP'nin arkuat nükleusta bulunan AgRP nöronlarını uyarmak (Steculorum ve ark., 2015) suretiyle PVN aktivasyonunu inhibe etmesi üzerinden gerçekleşiyor olabilir. İsv yolla verilen UDP'nin SON ve PVN'de oksitosin ve nesfatin-1 nöronlarındaki aktivasyon artışına yol açmadığının gösterilmesi de bu durumun bir diğer kanıtı olarak düşünülebilir (Akbulut, 2024). UDP'nin serum insülin üzerindeki etkinliğinde SON ve PVN'de lokalize nesfatin-1 nöronlarının katılımı daha anlamlı olabilir zira UDP reseptör antagonistlerinin her ikisinin de nesfatin-1 nöronlarında c-fos aktivasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Akbulut, 2024).

Tez çalışmasındaki serum glukagon düzeylerine bakıldığında aynı şekilde üridin ve UMP uygulamasının etkisiz olduğu görülmüştür. UTP'nin serum glukagon düzeylerini artırdığı bulunmuştur. UDP'nin ise serum glukagon düzeylerini artırma eğilimi göstermesine rağmen bu artış anlamlı bulunamamıştır (Şekil 26). UDP reseptör antagonistleri serum glukagon düzeyini kendi başlarına artırmıştır. Ayrıca 0. dakikada UDP enjeksiyonu sonrasında da serum glukagon düzeylerindeki artış devam etmiştir (Şekil 27). UTP reseptör antagonisti UTP'nin neden olduğu serum glukagon düzeylerindeki artışı kısmen baskılamıştır (Şekil 28). Merkezi yolla uygulanan UDP ve UTP'nin serum glukagon düzeyleri üzerindeki etkinliklerinde yine SON ve/veya PVN'deki oksitosin ve nesfatin-1 nöronlarının aktivasyonu ya da inhibisyonu aracılık ediyor olabilir. Bu anlamda daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Hipotalamus, beslenme ve enerji harcanmasının merkezi kontrolünde yer alan en önemli beyin bölgesidir. Özellikle hipotalamustaki ARC beslenme ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır (Myers & Olson, 2012). PVN'nin hasarlanması, aşırı yeme ve obeziteye yol açmaktadır (Leibowitz ve ark., 1981), aynı şekilde VMH'nin hasarlanması da hiperfaji ve obeziteye yol açmaktadır

(Shimizu ve ark., 1987). Oysa DMH ve LH'in hasarlanması, hipofaji ve zayıf bir fenotiple ilişkilidir (Milam, Stern, Storlien & Keesey, 1980).

Yiyecek alımı sırasında POMC'den salıverilen α -MSH PVN'deki MC3/4 reseptörlerini aktive ederek yiyecek alımını azaltmakta ve enerji harcamasını artırmaktadır (Könner ve ark., 2009). Farelerde yapılan çalışmalarda, PVN'deki MC4 reseptörünün delesyonunun, aşırı yeme ve azalmış enerji harcaması ile glukoz homeostazisinin bozulmasına yol açtığı gösterilmiştir (Balthasar ve ark., 2005; Huszar ve ark., 1997).

Açlık sırasında AgRP/NPY nöronlarının aktivasyonunu PVN ve LH bölgelerindeki ikinci sıra nöronların aktivasyonu takip eder ve bu silsile yiyecek alımını artırmaktadır (Betley ve ark., 2013). AgRP, MC3/4R'nin invers agonisti olarak çalışır ve bu sayede α -MSH'nin ikinci sıra nöronlar üzerindeki anoreksijenik etkisini engellemektedir (Ollmann ve ark., 1997).

POMC ve AgRP/NPY nöronları üzerinde periferik metabolik hormonlar olan insülin ve leptin için reseptörler bulunmaktadır. İnsülin, besin alımı sırasında pankreas β hücrelerinden salgılanır (Prentki, Matschinsky & Madiraju, 2013) ve enerji ve glukoz homeostazisinin periferik düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İnsülin karaciğerde glukoz üretimini baskılayarak periferik glukoz metabolizmasını kontrol etmektedir. Bununla birlikte, insülin aynı zamanda hipotalamus seviyesinde de glukoz ve enerji homeostazisinin düzenlenmesinde büyük bir faktördür (Belgardt & Brüning, 2010). POMC nöronlarında hem insülin hem de leptin reseptörlerinin silinmesi, farelerde glukoz homeostazisinin bozulmasına ve özellikle sistemik insülin direncine yol açmaktadır (Hill ve ark., 2010). Leptin de yiyecek alımının ve enerji homeostazisinin merkezi düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. POMC nöronlarını doğrudan uyarır ve POMC ekspresyonunu artırırken, AgRP/NPY nöronlarını inhibe eder ve AGPR ekspresyonunu baskılamaktadır (Sohn ve ark., 2013).

c-Fos aktivitesinin, transkripsiyonel düzenleyicilerle etkileşimler ve yukarı akış kinazlar tarafından kontrol edilen mekanizmalar aracılığıyla modüle edildiği bilinmektedir. Literatürde, farklı hücre tiplerinde MAPK yollarının c-Fos ekspresyonu ve aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (Pardo, Boland & de Boland, 2006; Smith, Smedberg, Rula, Hamilton & Xu, 2001). Ayrıca c-Fos gen ekspresyonunun protein kinaz C (PKC) tarafından da uyarıldığı bildirilmiştir

(Stachowiak ve ark., 1990). İkincil haberci moleküller olan Ca^{2+} iyonları ve diacylglycerol (DAG), c-Fos ekspresyonunu tetikleyen diğer önemli faktörler arasında yer almaktadır (Herschman, 1991).

Steculorum ve ark. yapmış olduğu çalışmada birçok hipotalamik çekirdek bölgesinde $P2Y_6$ reseptör ekspresyonu gösterilmiştir (Steculorum ve ark., 2015). Ayrıca merkezi yolla verilen UDP'nin ARC'deki NPY hücrelerinde c-Fos aktivasyonu yaptığı ancak POMC nöronları üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur. İkili histolojik boyamalar sonucunda AgRP nöronları üzerinde $P2Y_6$ reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir. Bu sonuçlar UDP'nin oreksijenik bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır ve tez çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile uyumludur. Bahsi edilen veriler seçici $P2Y_6$ reseptör antagonistlerinin metabolik bozuklukların tedavisinde umut verici ajanlar olabileceğini düşündürmektedir (Steculorum ve ark, 2015, 2017).

Tez çalışmasında literatürde ilk defa üridin nükleotidi UTP'nin hipotalamusun hem ARC hem de PVN bölgelerindeki $P2Y_2$ reseptörünü içeren nöronlarda c-Fos eksprese eden nöron yüzdesini anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir (Şekil 30, Şekil 32). Çalışmamızda UTP'nin serum glukoz, insülin ve glukagon düzeylerini artırması, enerji homeostazıyla ilişkili bahsi geçen hipotalamik bölgelerde $P2Y_2$ reseptörlerini uyarmak suretiyle nöron aktivasyonunu artırdığı doğrultusunda yorumlanabilir. Bu reseptörleri eksprese eden hipotalamik nöronların fenotiplerinin ileri çalışmalarda ortaya konması UTP'nin enerji metabolizması üzerindeki merkezi etkilerinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

Sonuç olarak mevcut tez çalışmamızda merkezi yolla uygulanan UDP ve UTP'nin çeşitli nöroendokrin ve metabolik etkileri ortaya çıkarılmıştır. Merkezi yolla uygulanan UDP'nin oreksijenik etkileri literatürde kısıtlı sayıda bulunan çalışma sonuçları ile uyumlu olup, merkezi uygulanan UTP'nin anoreksijenik etki gösterebileceği tez çalışmamızda ilk kez gösterilmiştir. $P2Y_4$ reseptörünü seçici olarak bloke edebilen bir antagonistin (PSB1699 veya PSB16133) ticari olarak satın alınamaması nedeniyle UTP'nin etkilerinde $P2Y_4$ reseptör aracılığının incelenememiş olması çalışmamızın önemli bir eksikliğidir. Bunun yanı sıra, çalışmamızda ortaya konan etkilerin insan metabolik hastalıklarındaki rolü ve önemi ile ilgili daha detaylı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abbracchio, M. P., Burnstock, G., Boeynaems, J.-M., Barnard, E. A., Boyer, J. L., Kennedy, C., Knight, G. E., Fumagalli, M., Gachet, C., Jacobson, K. A., & Weisman, G. A. (2006). International Union of Pharmacology LVIII: Update on the P2Y G Protein-Coupled Nucleotide Receptors: From Molecular Mechanisms and Pathophysiology to Therapy. *Pharmacological Reviews*, 58(3), 281-341. <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.3>
- Adamson, S. E., Montgomery, G., Seaman, S. A., Peirce-Cottler, S. M., & Leitinger, N. (2018). Myeloid P2Y2 receptor promotes acute inflammation but is dispensable for chronic high-fat diet-induced metabolic dysfunction. *Purinergic Signalling*, 14(1), 19-26. <https://doi.org/10.1007/s11302-017-9589-9>
- Agius, L. (2016). Hormonal and Metabolite Regulation of Hepatic Glucokinase. *Annual Review of Nutrition*, 36(1), 389-415. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071715-051145>
- Ahima, R. S., & Antwi, D. A. (2008). Brain Regulation of Appetite and Satiety. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 37(4), 811-823. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2008.08.005>
- Akbulut, N. H. (2024). Üridin ve üridin nükleotidlerinin nöroendokrin nöronlar üzerindeki aktive edici etkilerinin immünohistokimyasal olarak araştırılması. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Albert, J. L., Boyle, J. P., Roberts, J. A., John Challiss, R. A., Gubby, S. E., & Boarder, M. R. (1997). Regulation of brain capillary endothelial cells by P2Y receptors coupled to Ca²⁺, phospholipase C and mitogen-activated protein kinase. *British Journal of Pharmacology*, 122(5), 935-941. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701453>
- Ali, S., Turner, J., & Fountain, S. J. (2018). P2Y 2 and P2Y 6 receptor activation elicits intracellular calcium responses in human adipose-derived mesenchymal stromal cells. *Purinergic Signalling*, 14(4), 371-384. <https://doi.org/10.1007/s11302-018-9618-3>
- Amadio, S., Montilli, C., Picconi, B., Calabresi, P., & Volonté, C. (2007). Mapping P2X and P2Y receptor proteins in striatum and substantia nigra: An immunohistological study. *Purinergic Signalling*, 3(4), 389-398. <https://doi.org/10.1007/s11302-007-9069-8>
- Arslan, G., Filipeanu, C. M., Irenius, E., Kull, B., Clementi, E., Allgaier, C., Erlinge, D., & Fredholm, B. B. (2000). P2Y receptors contribute to ATP-induced increases in intracellular calcium in differentiated but not undifferentiated PC12 cells. *Neuropharmacology*, 39(3), 482-496. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00141-0](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00141-0)
- Atasoy, D., Betley, J. N., Su, H. H., & Sternson, S. M. (2012). Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature*, 488(7410), 172-177. <https://doi.org/10.1038/nature11270>
- Authier, F., & Desbuquois, B. (2008). Glucagon receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(12), 1880-1899. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7479-6>
- Baik, J.-H. (2021). Dopaminergic Control of the Feeding Circuit. *Endocrinology and Metabolism*, 36(2), 229-239. <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.979>
- Balasubramanian, R., de Azua, I. R., Wess, J., & Jacobson, K. A. (2010). Activation of distinct P2Y receptor subtypes stimulates insulin secretion in MIN6 mouse

- pancreatic β cells. *Biochemical Pharmacology*, 79(9), 1317-1326. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.12.026>
- Baldwin, S. A., Beal, P. R., Yao, S. Y. M., King, A. E., Cass, C. E., & Young, J. D. (2004). The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 447(5), 735-743. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1103-2>
- Balthasar, N., Dalgaard, L. T., Lee, C. E., Yu, J., Funahashi, H., Williams, T., Ferreira, M., Tang, V., McGovern, R. A., Kenny, C. D., Christiansen, L. M., Edelstein, E., Choi, B., Boss, O., Aschkenasi, C., Zhang, C., Mountjoy, K., Kishi, T., Elmquist, J. K., & Lowell, B. B. (2005). Divergence of Melanocortin Pathways in the Control of Food Intake and Energy Expenditure. *Cell*, 123(3), 493-505. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.035>
- Ban, Y., Kondo, S., Ubi, B. E., Honda, C., Bessho, H., & Moriguchi, T. (2009). UDP-sugar biosynthetic pathway: contribution to cyanidin 3-galactoside biosynthesis in apple skin. *Planta*, 230(5), 871-881. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-0993-4>
- Barbano, M. F., Wang, H.-L., Morales, M., & Wise, R. A. (2016). Feeding and Reward Are Differentially Induced by Activating GABAergic Lateral Hypothalamic Projections to VTA. *The Journal of Neuroscience*, 36(10), 2975-2985. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3799-15.2016>
- Baumel, B. S., Doraiswamy, P. M., Sabbagh, M., & Wurtman, R. (2021). Potential Neuroregenerative and Neuroprotective Effects of Uridine/Choline-Enriched Multinutrient Dietary Intervention for Mild Cognitive Impairment: A Narrative Review. *Neurology and therapy*, 10(1), 43-60. <https://doi.org/10.1007/s40120-020-00227-y>
- Belgardt, B. F., & Brüning, J. C. (2010). CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1212(1), 97-113. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05799.x>
- Bernardis, L. L., & Bellinger, L. L. (1987). The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. *Brain Research Reviews*, 12(3), 321-381. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(87\)90004-X](https://doi.org/10.1016/0165-0173(87)90004-X)
- Berthoud, H.-R., Sutton, G. M., Townsend, R. L., Patterson, L. M., & Zheng, H. (2006). Brainstem mechanisms integrating gut-derived satiety signals and descending forebrain information in the control of meal size. *Physiology & Behavior*, 89(4), 517-524. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.08.018>
- Betley, J. N., Cao, Z. F. H., Ritola, K. D., & Sternson, S. M. (2013). Parallel, redundant circuit organization for homeostatic control of feeding behavior. *Cell*, 155(6), 1337-1350. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.002>
- Bewick, G. A., Gardiner, J. V., Dhillo, W. S., Kent, A. S., White, N. E., Webster, Z., Ghatei, M. A., & Bloom, S. R. (2005). Postembryonic ablation of AgRP neurons in mice leads to a lean, hypophagic phenotype. *The FASEB Journal*, 19(12), 1680-1682. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3434fje>
- Bingham, N. C., Anderson, K. K., Reuter, A. L., Stallings, N. R., & Parker, K. L. (2008). Selective Loss of Leptin Receptors in the Ventromedial Hypothalamic Nucleus Results in Increased Adiposity and a Metabolic Syndrome. *Endocrinology*, 149(5), 2138-2148. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1200>
- Björkstrand, E., Eriksson, M., & Uvnäs-Moberg, K. (1996). Evidence of a Peripheral and a Central Effect of Oxytocin on Pancreatic Hormone Release in Rats.

- Neuroendocrinology*, 63(4), 377-383. <https://doi.org/10.1159/000126978>
- Bouret, S. G., Draper, S. J., & Simerly, R. B. (2004). Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice. *The Journal of Neuroscience*, 24(11), 2797-2805. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5369-03.2004>
- Broberger, C., De Lecea, L., Sutcliffe, J. G., & Hökfelt, T. (1998). Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems. *The Journal of comparative neurology*, 402(4), 460-474.
- Brubaker, P. L., & Drucker, D. J. (2002). Structure-function of the glucagon receptor family of G protein-coupled receptors: the glucagon, GIP, GLP-1, and GLP-2 receptors. *Receptors & channels*, 8(3-4), 179-188.
- Burnstock, G. (1972). Purinergic nerves. *Pharmacological reviews*, 24(3), 509-581.
- Burnstock, G. (2006). Pathophysiology and Therapeutic Potential of Purinergic Signaling. *Pharmacological Reviews*, 58(1), 58-86. <https://doi.org/10.1124/pr.58.1.5>
- Büyükdevrim, S., & Garibağaoğlu, M. (1995). Kan Şekerinin Ayarlanmasında Karaciğerin Rolü-Substrat (Besin Ögesi), Enzim ve Hormonların Karşılıklı Etkileşimi: Claude Bernard'dan Günümüze Moleküler Düzeyde Elde Edilen Yenilikler. *J. Nutr. and Diet*, 24(1), 99-122.
- Calarco, C. A., Lee, S., & Picciotto, M. R. (2017). Access to nicotine in drinking water reduces weight gain without changing caloric intake on high fat diet in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*, 123, 210-220. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.012>
- Campos, R. V., Lee, Y. C., & Drucker, D. J. (1994). Divergent tissue-specific and developmental expression of receptors for glucagon and glucagon-like peptide-1 in the mouse. *Endocrinology*, 134(5), 2156-2164. <https://doi.org/10.1210/endo.134.5.8156917>
- Cansev, M. (2006). Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization. *Brain Research Reviews*, 52(2), 389-397. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.05.001>
- Cansev, M. (2007). Involvement of Uridine-Nucleotide-Stimulated P2Y Receptors in Neuronal Growth and Function. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 7(4), 223-229. <https://doi.org/10.2174/187152407783220814>
- Cansev, M., Minbay, Z., Goren, B., Yaylagul, E. O., Cetinkaya, M., Koksall, N., & Alkan, T. (2013). Neuroprotective effects of uridine in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neuroscience Letters*, 542, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.02.035>
- Cansev, M., Orhan, F., Yaylagul, E. O., Isik, E., Turkeyilmaz, M., Aydin, S., Gumus, A., Sevinc, C., Coskun, N., Ulus, I. H., & Wurtman, R. J. (2015). Evidence for the existence of pyrimidinergic transmission in rat brain. *Neuropharmacology*, 91, 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.12.019>
- Cansev, M., Watkins, C. J., Van Der Beek, E. M., & Wurtman, R. J. (2005). Oral uridine-5'-monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Research*, 1058(1-2), 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.07.054>

- Cansev, M., & Wurtman, R. J. (2007). Chronic administration of docosahexaenoic acid or eicosapentaenoic acid, but not arachidonic acid, alone or in combination with uridine, increases brain phosphatide and synaptic protein levels in gerbils. *Neuroscience*, 148(2), 421-431. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.06.016>
- Chambers, J. K., Macdonald, L. E., Sarau, H. M., Ames, R. S., Freeman, K., Foley, J. J., Zhu, Y., McLaughlin, M. M., Murdock, P., McMillan, L., Trill, J., Swift, A., Aiyar, N., Taylor, P., Vawter, L., Naheed, S., Szekeres, P., Hervieu, G., Scott, C., ... Livi, G. P. (2000). A G Protein-coupled Receptor for UDP-glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 275(15), 10767-10771. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.15.10767>
- Chen, H., Hansen, M. J., Jones, J. E., Vlahos, R., Anderson, G. P., & Morris, M. J. (2008). Long-term cigarette smoke exposure increases uncoupling protein expression but reduces energy intake. *Brain Research*, 1228, 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.06.067>
- Choi, S., Blake, V., Cole, S., & Fernstrom, J. D. (2006). Effects of chronic fenfluramine administration on hypothalamic neuropeptide mRNA expression. *Brain Research*, 1087(1), 83-86. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.02.129>
- Christophe, J. (1995). Glucagon receptors: from genetic structure and expression to effector coupling and biological responses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*, 1241(1), 45-57. [https://doi.org/10.1016/0304-4157\(94\)00015-6](https://doi.org/10.1016/0304-4157(94)00015-6)
- Communi, D., Motte, S., Boeynaems, J.-M., & Piroton, S. (1996). Pharmacological characterization of the human P2Y₄ receptor. *European Journal of Pharmacology*, 317(2-3), 383-389. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00740-6](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00740-6)
- Communi, D., Piroton, S., Parmentier, M., & Boeynaems, J.-M. (1995). Cloning and Functional Expression of a Human Uridine Nucleotide Receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 270(52), 30849-30852. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.52.30849>
- Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., Cone, R. D., & Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, 411(6836), 480-484. <https://doi.org/10.1038/35078085>
- Crowley, W. R., Ramoz, G., Keefe, K. A., Torto, R., Kalra, S. P., & Hanson, G. R. (2005). Differential effects of methamphetamine on expression of neuropeptide Y mRNA in hypothalamus and on serum leptin and ghrelin concentrations in ad libitum-fed and schedule-fed rats. *Neuroscience*, 132(1), 167-173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.11.037>
- De Bruin, N. M. W. J., Kiliaan, A. J., De Wilde, M. C., & Broersen, L. M. (2003). Combined uridine and choline administration improves cognitive deficits in spontaneously hypertensive rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(1), 63-79. [https://doi.org/10.1016/S1074-7427\(03\)00024-8](https://doi.org/10.1016/S1074-7427(03)00024-8)
- Dean, E. D., Li, M., Prasad, N., Wisniewski, S. N., Von Deylen, A., Spaeth, J., Maddison, L., Botros, A., Sedgeman, L. R., Bozadjieva, N., Ilkayeva, O., Coldren, A., Poffenberger, G., Shostak, A., Semich, M. C., Aamodt, K. I., Phillips, N., Yan, H., Bernal-Mizrachi, E., ... Powers, A. C. (2017). Interrupted Glucagon Signaling Reveals Hepatic α Cell Axis and Role for L-Glutamine in α

- Cell Proliferation. *Cell Metabolism*, 25(6), 1362-1373.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.05.011>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Sato, Y., Felig, P., & Wahren, J. (1981). Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *Journal of Clinical Investigation*, 68(6), 1468-1474. <https://doi.org/10.1172/JCI110399>
- DeFronzo, R. A., Gunnarsson, R., Björkman, O., Olsson, M., & Wahren, J. (1985). Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation*, 76(1), 149-155. <https://doi.org/10.1172/JCI111938>
- DeFronzo, R. A., Jacot, E., Jequier, E., Maeder, E., Wahren, J., & Felber, J. P. (1981). The Effect of Insulin on the Disposal of Intravenous Glucose: Results from Indirect Calorimetry and Hepatic and Femoral Venous Catheterization. *Diabetes*, 30(12), 1000-1007. <https://doi.org/10.2337/diab.30.12.1000>
- Drucker, D. J., & Asa, S. (1988). Glucagon gene expression in vertebrate brain. *The Journal of biological chemistry*, 263(27), 13475-13478.
- Dunning, B. E., & Taborsky, G. J. (1991). Neural control of islet function by norepinephrine and sympathetic neuropeptides. *Advances in experimental medicine and biology*, 291, 107-127. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5931-9_10
- Ellacott, K. L. J., Halatchev, I. G., & Cone, R. D. (2006). Characterization of Leptin-Responsive Neurons in the Caudal Brainstem. *Endocrinology*, 147(7), 3190-3195. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0877>
- El-Merahbi, R., Löffler, M., Mayer, A., & Sumara, G. (2015). The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Letters*, 589(15), 1728-1734. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.054>
- Erb, L., Liao, Z., Seye, C. I., & Weisman, G. A. (2006). P2 receptors: intracellular signaling. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 452(5), 552-562. <https://doi.org/10.1007/s00424-006-0069-2>
- Evans, D. R., & Guy, H. I. (2004). Mammalian Pyrimidine Biosynthesis: Fresh Insights into an Ancient Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279(32), 33035-33038. <https://doi.org/10.1074/jbc.R400007200>
- Faber, C. L., Deem, J. D., Phan, B. A., Doan, T. P., Ogimoto, K., Mirzadeh, Z., Schwartz, M. W., & Morton, G. J. (2021). Leptin receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus regulate diurnal patterns of feeding, locomotion, and metabolism. *eLife*, 10. <https://doi.org/10.7554/eLife.63671>
- Fan, W., Boston, B. A., Kesterson, R. A., Hruby, V. J., & Cone, R. D. (1997). Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*, 385(6612), 165-168. <https://doi.org/10.1038/385165a0>
- Fei, H., Okano, H. J., Li, C., Lee, G.-H., Zhao, C., Darnell, R., & Friedman, J. M. (1997). Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(13), 7001-7005. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.13.7001>
- Fornari, A., Pedrazzi, P., Lippi, G., Picciotto, M. R., Zoli, M., & Zini, I. (2007). Nicotine withdrawal increases body weight, neuropeptide Y and Agouti-related protein expression in the hypothalamus and decreases uncoupling protein-3 expression in the brown adipose tissue in high-fat fed mice. *Neuroscience Letters*, 411(1), 72-76. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.10.014>
- Foster, M. T., Song, C. K., & Bartness, T. J. (2010). Hypothalamic Paraventricular

- Nucleus Lesion Involvement in the Sympathetic Control of Lipid Mobilization. *Obesity*, 18(4), 682-689. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.345>
- Frankish, H. M., Dryden, S., Wang, Q., Bing, C., MacFarlane, I. A., & Williams, G. (1995). Nicotine administration reduces neuropeptide Y and neuropeptide Y mRNA concentrations in the rat hypothalamus: NPY may mediate nicotine's effects on energy balance. *Brain Research*, 694(1-2), 139-146. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00834-D](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00834-D)
- Garfield, A. S., & Heisler, L. K. (2009). Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. *The Journal of Physiology*, 587(1), 49-60. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.164152>
- G.-Coviella, I. L., & Wurtman, R. J. (1992). Enhancement by Cytidine of Membrane Phospholipid Synthesis. *Journal of Neurochemistry*, 59(1), 338-343. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb08909.x>
- Geerling, J. C., Shin, J., Chimenti, P. C., & Loewy, A. D. (2010). Paraventricular hypothalamic nucleus: Axonal projections to the brainstem. *Journal of Comparative Neurology*, 518(9), 1460-1499. <https://doi.org/10.1002/cne.22283>
- González, J. A., Reimann, F., & Burdakov, D. (2009). Dissociation between sensing and metabolism of glucose in sugar sensing neurones. *The Journal of Physiology*, 587(1), 41-48. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163410>
- Gray, J. H., Owen, R. P., & Giacomini, K. M. (2004). The concentrative nucleoside transporter family, SLC28. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 447(5), 728-734. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1107-y>
- Heisler, L. K., Jobst, E. E., Sutton, G. M., Zhou, L., Borok, E., Thornton-Jones, Z., Liu, H. Y., Zigman, J. M., Balthasar, N., Kishi, T., Lee, C. E., Aschkenasi, C. J., Zhang, C.-Y., Yu, J., Boss, O., Mountjoy, K. G., Clifton, P. G., Lowell, B. B., Friedman, J. M., ... Cowley, M. A. (2006). Serotonin Reciprocally Regulates Melanocortin Neurons to Modulate Food Intake. *Neuron*, 51(2), 239-249. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.004>
- Herschman, H. R. (1991). Primary response genes induced by growth factors and tumor promoters. *Annual Review of Biochemistry*, 60(1), 281-319. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.60.070191.001433>
- Hill, J. W., Elias, C. F., Fukuda, M., Williams, K. W., Berglund, E. D., Holland, W. L., Cho, Y.-R., Chuang, J.-C., Xu, Y., Choi, M., Lauzon, D., Lee, C. E., Coppari, R., Richardson, J. A., Zigman, J. M., Chua, S., Scherer, P. E., Lowell, B. B., Brüning, J. C., & Elmquist, J. K. (2010). Direct Insulin and Leptin Action on Pro-opiomelanocortin Neurons Is Required for Normal Glucose Homeostasis and Fertility. *Cell Metabolism*, 11(4), 286-297. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.002>
- Holst, J. J., Holland, W., Gromada, J., Lee, Y., Unger, R. H., Yan, H., Sloop, K. W., Kieffer, T. J., Damond, N., & Herrera, P. L. (2017). Insulin and Glucagon: Partners for Life. *Endocrinology*, 158(4), 696-701. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1748>
- Hommel, J. D., Trinko, R., Sears, R. M., Georgescu, D., Liu, Z.-W., Gao, X.-B., Thurmon, J. J., Marinelli, M., & DiLeone, R. J. (2006). Leptin Receptor Signaling in Midbrain Dopamine Neurons Regulates Feeding. *Neuron*, 51(6), 801-810. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.08.023>
- Hoosein, N. M., & Gurd, R. S. (1984). Identification of glucagon receptors in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(14), 4368-4372.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.81.14.4368>
- Horckmans, M., Diaz Villamil, E., Verdier, C., Laurell, H., Ruidavets, J. B., De Roeck, L., Combes, G., Martinez, L. O., & Communi, D. (2022). Loss-of-function N178T variant of the human P2Y₄ receptor is associated with decreased severity of coronary artery disease and improved glucose homeostasis. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1049696>
- Horckmans, M., Robaye, B., Léon-Gómez, E., Lantz, N., Unger, P., Dol-Gleizes, F., Clouet, S., Cammarata, D., Schaeffer, P., Savi, P., Gachet, C., Balligand, J. L., Dessy, C., Boeynaems, J. M., & Communi, D. (2012). P2Y₄ nucleotide receptor: A novel actor in post-natal cardiac development. *Angiogenesis*, 15(3), 349-360. <https://doi.org/10.1007/s10456-012-9265-1>
- Hungs, M., & Mignot, E. (2001). Hypocretin/orexin, sleep and narcolepsy. *BioEssays*, 23(5), 397-408. <https://doi.org/10.1002/bies.1058>
- Huszar, D., Lynch, C. A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J. H., Fang, Q., Berkemeier, L. R., Gu, W., Kesterson, R. A., Boston, B. A., Cone, R. D., Smith, F. J., Campfield, L. A., Burn, P., & Lee, F. (1997). Targeted Disruption of the Melanocortin-4 Receptor Results in Obesity in Mice. *Cell*, 88(1), 131-141. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81865-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81865-6)
- Jacobowitz, D. M., & O'Donohue, T. L. (1978). alpha-Melanocyte stimulating hormone: immunohistochemical identification and mapping in neurons of rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(12), 6300-6304. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.12.6300>
- Jacobson, K. A., Delicado, E. G., Gachet, C., Kennedy, C., von Kügelgen, I., Li, B., Miras-Portugal, M. T., Novak, I., Schöneberg, T., Perez-Sen, R., Thor, D., Wu, B., Yang, Z., & Müller, C. E. (2020). Update of P2Y receptor pharmacology: IUPHAR Review 27. *British Journal of Pharmacology*, 177(11), 2413-2433. <https://doi.org/10.1111/bph.15005>
- Jain, S., Pydi, S. P., Toti, K. S., Robaye, B., Idzko, M., Gavrilova, O., Wess, J., & Jacobson, K. A. (2020). Lack of adipocyte purinergic P2Y₆ receptor greatly improves whole body glucose homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(48), 30763-30774. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006578117>
- Javed, K., & Fairweather, S. J. (2019). Amino acid transporters in the regulation of insulin secretion and signalling. *Biochemical Society Transactions*, 47(2), 571-590. <https://doi.org/10.1042/BST20180250>
- Jennings, J. H., Ung, R. L., Resendez, S. L., Stamatakis, A. M., Taylor, J. G., Huang, J., Veleta, K., Kantak, P. A., Aita, M., Shilling-Scriver, K., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Otte, S., & Stuber, G. D. (2015). Visualizing Hypothalamic Network Dynamics for Appetitive and Consummatory Behaviors. *Cell*, 160(3), 516-527. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.026>
- Jensen, M. D., Caruso, M., Heiling, V., & Miles, J. M. (1989). Insulin Regulation of Lipolysis in Nondiabetic and IDDM Subjects. *Diabetes*, 38(12), 1595-1601. <https://doi.org/10.2337/diab.38.12.1595>
- Jo, Y.-H., Wiedl, D., & Role, L. W. (2005). Cholinergic Modulation of Appetite-Related Synapses in Mouse Lateral Hypothalamic Slice. *The Journal of Neuroscience*, 25(48), 11133-11144. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3638-05.2005>
- Kabadi, S. V., & Maher, T. J. (2010). Posttreatment with uridine and melatonin following traumatic brain injury reduces edema in various brain regions in rats.

- Annals of the New York Academy of Sciences*, 1199, 105-113. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05352.x>
- Kaebisch, C., Schipper, D., Babczyk, P., & Tobiasch, E. (2015). The role of purinergic receptors in stem cell differentiation. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 13, 75-84. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2014.11.003>
- Kékesi, K. A., Kovács, Z., Szilágyi, N., Bobest, M., Szikra, T., Dobolyi, Á., Juhász, G., & Palkovits, M. (2006). Concentration of nucleosides and related compounds in cerebral and cerebellar cortical areas and white matter of the human brain. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 26(4-6), 833-844. <https://doi.org/10.1007/s10571-006-9103-3>
- Kennedy, E. P., & Weiss, S. B. (1956). The Function of Cytidine Coenzymes in the Biosynthesis of Phospholipides. *Journal of Biological Chemistry*, 222(1), 193-214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50785-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50785-2)
- Kettelhut, I. C., Wing, S. S., & Goldberg, A. L. (1988). Endocrine regulation of protein breakdown in skeletal muscle. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 4(8), 751-772. <https://doi.org/10.1002/dmr.5610040805>
- Kim, J., Okamoto, H., Huang, Z., Anguiano, G., Chen, S., Liu, Q., Cavino, K., Xin, Y., Na, E., Hamid, R., Lee, J., Zambrowicz, B., Unger, R., Murphy, A. J., Xu, Y., Yancopoulos, G. D., Li, W., & Gromada, J. (2017). Amino Acid Transporter Slc38a5 Controls Glucagon Receptor Inhibition-Induced Pancreatic α Cell Hyperplasia in Mice. *Cell Metabolism*, 25(6), 1348-1361.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.05.006>
- Kim, K. S., Yoon, Y. R., Lee, H. J., Yoon, S., Kim, S.-Y., Shin, S. W., An, J. J., Kim, M.-S., Choi, S.-Y., Sun, W., & Baik, J.-H. (2010). Enhanced Hypothalamic Leptin Signaling in Mice Lacking Dopamine D2 Receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 285(12), 8905-8917. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.079590>
- Kohno, D., Nakata, M., Maejima, Y., Shimizu, H., Sedbazar, U., Yoshida, N., Dezaki, K., Onaka, T., Mori, M., & Yada, T. (2008). Nesfatin-1 Neurons in Paraventricular and Supraoptic Nuclei of the Rat Hypothalamus Coexpress Oxytocin and Vasopressin and Are Activated by Refeeding. *Endocrinology*, 149(3), 1295-1301. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1276>
- Koopman, R., & van Loon, L. J. C. (2009). Aging, exercise, and muscle protein metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 106(6), 2040-2048. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91551.2008>
- Koyuncuoglu, T., Turkyilmaz, M., Goren, B., Cetinkaya, M., Cansev, M., & Alkan, T. (2015). Uridine protects against hypoxic-ischemic brain injury by reducing histone deacetylase activity in neonatal rats. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 33(5), 777-784. <https://doi.org/10.3233/RNN-150549>
- Könner, A. C., Klöckener, T., & Brüning, J. C. (2009). Control of energy homeostasis by insulin and leptin: Targeting the arcuate nucleus and beyond. *Physiology & Behavior*, 97(5), 632-638. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.03.027>
- Lazarowski, E. R., Boucher, R. C., & Harden, T. K. (2000). Constitutive Release of ATP and Evidence for Major Contribution of Ecto-nucleotide Pyrophosphatase and Nucleoside Diphosphokinase to Extracellular Nucleotide Concentrations. *Journal of Biological Chemistry*, 275(40), 31061-31068. <https://doi.org/10.1074/jbc.M003255200>
- Lazarowski, E. R., Homolya, L., Boucher, R. C., & Harden, T. K. (1997). Direct Demonstration of Mechanically Induced Release of Cellular UTP and Its

- Implication for Uridine Nucleotide Receptor Activation. *Journal of Biological Chemistry*, 272(39), 24348-24354. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.39.24348>
- Le Thuc, O., Stobbe, K., Cansell, C., Nahon, J.-L., Blondeau, N., & Rovère, C. (2017). Hypothalamic Inflammation and Energy Balance Disruptions: Spotlight on Chemokines. *Frontiers in Endocrinology*, 8(AUG). <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00197>
- Lecca, D., & Ceruti, S. (2008). Uracil nucleotides: From metabolic intermediates to neuroprotection and neuroinflammation. *Biochemical Pharmacology*, 75(10), 1869-1881. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.12.009>
- Leibowitz, S. F., Hammer, N. J., & Chang, K. (1981). Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiology & Behavior*, 27(6), 1031-1040. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90366-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90366-8)
- Lemaire, A., Vanorlé, M., Horckmans, M., DI Pietrantonio, L., Clouet, S., Robaye, B., Boeynaems, J. M., & Communi, Di. (2017). Mouse P2Y4 Nucleotide Receptor Is a Negative Regulator of Cardiac Adipose-Derived Stem Cell Differentiation and Cardiac Fat Formation. *Stem Cells and Development*, 26(5), 363-373. <https://doi.org/10.1089/scd.2016.0166>
- Li, M. D., Kane, J. K., Parker, S. L., McAllen, K., Matta, S. G., & Sharp, B. M. (2000). Nicotine administration enhances NPY expression in the rat hypothalamus. *Brain Research*, 867(1-2), 157-164. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02283-6](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02283-6)
- Li, W., Wei, S., Liu, C., Song, M., Wu, H., & Yang, Y. (2016). Regulation of the osteogenic and adipogenic differentiation of bone marrow-derived stromal cells by extracellular uridine triphosphate: The role of P2Y2 receptor and ERK1/2 signaling. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(1), 63-73. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2400>
- Lindsey, C. A., Faloona, G. R., & Unger, R. H. (1975). Plasma glucagon levels during rapid exsanguination with and without adrenergic blockade. *Diabetes*, 24(4), 313-316.
- Liu, S., Wang, X., Zheng, Q., Gao, L., & Sun, Q. (2022). Sleep Deprivation and Central Appetite Regulation. *Nutrients*, 14(24), 5196. <https://doi.org/10.3390/nu14245196>
- Liu, Y., Zhang, Y., Yin, J., Ruan, Z., Wu, X., & Yin, Y. (2019). Uridine dynamic administration affects circadian variations in lipid metabolisms in the liver of high-fat-diet-fed mice. *Chronobiology International*, 36(9), 1258-1267. <https://doi.org/10.1080/07420528.2019.1637347>
- Liu, Z., Li, W., Geng, L., Sun, L., Wang, Q., Yu, Y., Yan, P., Liang, C., Ren, J., Song, M., Zhao, Q., Lei, J., Cai, Y., Li, J., Yan, K., Wu, Z., Chu, Q., Li, J., Wang, S., ... Liu, G.-H. (2022). Cross-species metabolomic analysis identifies uridine as a potent regeneration promoting factor. *Cell Discovery*, 8(1), 6. <https://doi.org/10.1038/s41421-021-00361-3>
- Loffler, M., Fairbanks, L., Zameitat, E., Marinaki, A., & Simmonds, H. (2005). Pyrimidine pathways in health and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 11(9), 430-437. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2005.07.003>
- Lustig, K. D., Shiau, A. K., Brake, A. J., & Julius, D. (1993). Expression cloning of an ATP receptor from mouse neuroblastoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(11), 5113-5117. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.11.5113>
- Madsen, R., Banday, V. S., Moritz, T., Trygg, J., & Lejon, K. (2012). Altered

- metabolic signature in pre-diabetic NOD mice. *PLoS ONE*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035445>
- Mangieri, L. R., Lu, Y., Xu, Y., Cassidy, R. M., Xu, Y., Arenkiel, B. R., & Tong, Q. (2018). A neural basis for antagonistic control of feeding and compulsive behaviors. *Nature Communications*, 9(1), 52. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02534-9>
- Marsh, D. J., Weingarth, D. T., Novi, D. E., Chen, H. Y., Trumbauer, M. E., Chen, A. S., Guan, X.-M., Jiang, M. M., Feng, Y., Camacho, R. E., Shen, Z., Frazier, E. G., Yu, H., Metzger, J. M., Kuca, S. J., Shearman, L. P., Gopal-Truter, S., MacNeil, D. J., Strack, A. M., ... Qian, S. (2002). Melanin-concentrating hormone 1 receptor-deficient mice are lean, hyperactive, and hyperphagic and have altered metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(5), 3240-3245. <https://doi.org/10.1073/pnas.052706899>
- Marston, O. J., Garfield, A. S., & Heisler, L. K. (2011). Role of central serotonin and melanocortin systems in the control of energy balance. *European Journal of Pharmacology*, 660(1), 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.12.024>
- Martínez de Morentin, P. B., Whittle, A. J., Fernø, J., Nogueiras, R., Diéguez, C., Vidal-Puig, A., & López, M. (2012). Nicotine Induces Negative Energy Balance Through Hypothalamic AMP-Activated Protein Kinase. *Diabetes*, 61(4), 807-817. <https://doi.org/10.2337/db11-1079>
- Mazda, T., Yamamoto, H., Fujimura, M., & Fujimiya, M. (2004). Gastric distension-induced release of 5-HT stimulates c- fos expression in specific brain nuclei via 5-HT₃ receptors in conscious rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 287(1), G228-G235. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00373.2003>
- Meister, J., Le Duc, D., Ricken, A., Burkhardt, R., Thiery, J., Pfannkuche, H., Polte, T., Grosse, J., Schöneberg, T., & Schulz, A. (2014). The G Protein-coupled Receptor P2Y₁₄ Influences Insulin Release and Smooth Muscle Function in Mice. *Journal of Biological Chemistry*, 289(34), 23353-23366. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.580803>
- Merz, J., Albrecht, P., von Garlen, S., Ahmed, I., Dimanski, D., Wolf, D., Hilgendorf, I., Härdtner, C., Grotius, K., Willecke, F., Heidt, T., Bugger, H., Hoppe, N., Kintscher, U., von zur Mühlen, C., Idzko, M., Bode, C., Zirlik, A., & Stachon, P. (2018). Purinergic receptor Y₂ (P2Y₂)- dependent VCAM-1 expression promotes immune cell infiltration in metabolic syndrome. *Basic Research in Cardiology*, 113(6), 45. <https://doi.org/10.1007/s00395-018-0702-1>
- Milam, K. M., Stern, J. S., Storlien, L. H., & Keesey, R. E. (1980). Effect of lateral hypothalamic lesions on regulation of body weight and adiposity in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 239(3), R337-R343. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1980.239.3.R337>
- Moore, D. J., Chambers, J. K., Wahlin, J.-P., Tan, K. B., Moore, G. B., Jenkins, O., Emson, P. C., & Murdock, P. R. (2001). Expression pattern of human P2Y receptor subtypes: a quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1521(1-3), 107-119. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(01\)00291-3](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(01)00291-3)
- Morton, G. J., Cummings, D. E., Baskin, D. G., Barsh, G. S., & Schwartz, M. W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*,

- 443(7109), 289-295. <https://doi.org/10.1038/nature05026>
- Morton, G. J., Meek, T. H., & Schwartz, M. W. (2014). Neurobiology of food intake in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(6), 367-378. <https://doi.org/10.1038/nrn3745>
- Myers, M. G., & Olson, D. P. (2012). Central nervous system control of metabolism. *Nature*, 491(7424), 357-363. <https://doi.org/10.1038/nature11705>
- Negishi, K., Payant, M. A., Schumacker, K. S., Wittmann, G., Butler, R. M., Lechan, R. M., Steinbusch, H. W. M., Khan, A. M., & Chee, M. J. (2020). Distributions of hypothalamic neuron populations coexpressing tyrosine hydroxylase and the vesicular GABA transporter in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, 528(11), 1833-1855. <https://doi.org/10.1002/cne.24857>
- Nieh, E. H., Matthews, G. A., Allsop, S. A., Presbrey, K. N., Leppla, C. A., Wichmann, R., Neve, R., Wildes, C. P., & Tye, K. M. (2015). Decoding Neural Circuits that Control Compulsive Sucrose Seeking. *Cell*, 160(3), 528-541. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.003>
- Nilsson, I. A. K., Lindfors, C., Schalling, M., Hökfelt, T., & Johansen, J. E. (2013). *Anorexia and Hypothalamic Degeneration* (ss. 27-60). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410473-0.00002-7>
- Ohno, K., & Sakurai, T. (2008). Orexin neuronal circuitry: Role in the regulation of sleep and wakefulness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(1), 70-87. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.08.001>
- Ohtani, M., Suzuki, J., Jacobson, K. A., & Oka, T. (2008). Evidence for the possible involvement of the P2Y6 receptor in Ca²⁺ mobilization and insulin secretion in mouse pancreatic islets. *Purinergic Signalling*, 4(4), 365. <https://doi.org/10.1007/s11302-008-9122-2>
- Ollmann, M. M., Wilson, B. D., Yang, Y.-K., Kerns, J. A., Chen, Y., Gantz, I., & Barsh, G. S. (1997). Antagonism of Central Melanocortin Receptors in Vitro and in Vivo by Agouti-Related Protein. *Science*, 278(5335), 135-138. <https://doi.org/10.1126/science.278.5335.135>
- Oltmans, G. A. (1983). Norepinephrine and dopamine levels in hypothalamic nuclei of the genetically obese mouse (ob/ob). *Brain Research*, 273(2), 369-373. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90865-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90865-X)
- Otgon-Uul, Z., Suyama, S., Onodera, H., & Yada, T. (2016). Optogenetic activation of leptin- and glucose-regulated GABAergic neurons in dorsomedial hypothalamus promotes food intake via inhibitory synaptic transmission to paraventricular nucleus of hypothalamus. *Molecular Metabolism*, 5(8), 709-715. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.06.010>
- Parandeh, F., Abaraviciene, S. M., Amisten, S., Erlinge, D., & Salehi, A. (2008). Uridine diphosphate (UDP) stimulates insulin secretion by activation of P2Y6 receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 370(3), 499-503. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.119>
- Pardo, V. G., Boland, R., & de Boland, A. R. (2006). 1 α ,25(OH)₂-Vitamin D3 stimulates intestinal cell p38 MAPK activity and increases c-Fos expression. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38(7), 1181-1190. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.12.018>
- Peters, G. J., van Groeningen, C. J., Laurensse, E. J., Lankelma, J., Leyva, A., & Pinedo, H. M. (1987). Uridine-induced hypothermia in mice and rats in relation to plasma and tissue levels of uridine and its metabolites. *Cancer Chemotherapy*

- and *Pharmacology*, 20(2), 101-108. <https://doi.org/10.1007/BF00253962>
- Pooler, A. M., Guez, D. H., Benedictus, R., & Wurtman, R. J. (2005). Uridine enhances neurite outgrowth in nerve growth factor-differentiated pheochromocytoma cells. *Neuroscience*, 134(1), 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.050>
- Prentki, M., Matschinsky, F. M., & Madiraju, S. R. M. (2013). Metabolic Signaling in Fuel-Induced Insulin Secretion. *Cell Metabolism*, 18(2), 162-185. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.05.018>
- Qian, S., Shi, Y., Senfeld, J., Peng, Q., & Shen, J. (2023). The P2Y2 receptor mediates terminal adipocyte differentiation and insulin resistance: Evidence for a dual G-protein coupling mode. *Journal of Biological Chemistry*, 300(2). <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105589>
- Rafehi, M., & Müller, C. E. (2018). Tools and drugs for uracil nucleotide-activated P2Y receptors. *Pharmacology & Therapeutics*, 190, 24-80. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.04.002>
- Ramnanan, C. J., Edgerton, D. S., & Cherrington, A. D. (2012). Evidence against a Physiologic Role for Acute Changes in CNS Insulin Action in the Rapid Regulation of Hepatic Glucose Production. *Cell Metabolism*, 15(5), 656-664. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.03.006>
- Ramos, E. J. B., Meguid, M. M., Campos, A. C. L., & Coelho, J. C. U. (2005). Neuropeptide Y, α -melanocyte-stimulating hormone, and monoamines in food intake regulation. *Nutrition*, 21(2), 269-279. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.06.021>
- Redzic, Z. B., Biringer, J., Barnes, K., Baldwin, S. A., Al-Sarraf, H., Nicola, P. A., Young, J. D., Cass, C. E., Barrand, M. A., & Hladky, S. B. (2005). Polarized distribution of nucleoside transporters in rat brain endothelial and choroid plexus epithelial cells. *Journal of Neurochemistry*, 94(5), 1420-1426. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03312.x>
- Richardson, U. I., Watkins, C. J., Pierre, C., Ulus, I. H., & Wurtman, R. J. (2003). Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Research*, 971(2), 161-167. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02333-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02333-3)
- Rieg, T., Bunday, R. A., Chen, Y., Deschenes, G., Junger, W., Insel, P. A., & Vallon, V. (2007). Mice lacking P2Y₂ receptors have salt-resistant hypertension and facilitated renal Na⁺ and water reabsorption. *The FASEB Journal*, 21(13), 3717-3726. <https://doi.org/10.1096/fj.07-8807com>
- Rieg, T., Gerasimova, M., Boyer, J. L., Insel, P. A., & Vallon, V. (2011). P2Y₂ receptor activation decreases blood pressure and increases renal Na⁺ excretion. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(2), R510-R518. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00148.2011>
- Roberts, C. A. (1973). Anticonvulsant effects of uridine: comparative analysis of metrazol and penicillin induced foci. *Brain Research*, 55(2), 291-308. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(73\)90296-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(73)90296-5)
- Rodbell, M., Krans, H. M., Pohl, S. L., & Birnbaumer, L. (1971). The glucagon-sensitive adenyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. IV. Effects of guanylnucleotides on binding of 125I-glucagon. *The Journal of biological chemistry*, 246(6), 1872-1876.
- Rodriguez-Diaz, R., Abdulreda, M. H., Formoso, A. L., Gans, I., Ricordi, C.,

- Berggren, P.-O., & Caicedo, A. (2011). Innervation Patterns of Autonomic Axons in the Human Endocrine Pancreas. *Cell Metabolism*, 14(1), 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.05.008>
- Rodriguez-Diaz, R., Dando, R., Jacques-Silva, M. C., Fachado, A., Molina, J., Abdulreda, M. H., Ricordi, C., Roper, S. D., Berggren, P.-O., & Caicedo, A. (2011). Alpha cells secrete acetylcholine as a non-neuronal paracrine signal priming beta cell function in humans. *Nature Medicine*, 17(7), 888-892. <https://doi.org/10.1038/nm.2371>
- Roh, E., Song, D. K., & Kim, M.-S. (2016). Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Experimental & Molecular Medicine*, 48(3), e216-e216. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.4>
- Salman, B. (2022). *Merkezi yolla uygulanan üridin ve üridin nükleotidlerinin kardiyovasküler parametreler üzerine etkileri*. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Sam, A. H., Troke, R. C., Tan, T. M., & Bewick, G. A. (2012). The role of the gut/brain axis in modulating food intake. *Neuropharmacology*, 63(1), 46-56. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.10.008>
- Sandoval, D. A., Obici, S., & Seeley, R. J. (2009). Targeting the CNS to treat type 2 diabetes. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(5), 386-398. <https://doi.org/10.1038/nrd2874>
- Savaş, H. B., & Gültekin, F. (2017). İnsülin Direnci ve Klinik Önemi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.264358>
- Savci, V., & Wurtman, R. J. (1995). Effect of Cytidine on Membrane Phospholipid Synthesis in Rat Striatal Slices. *Journal of Neurochemistry*, 64(1), 378-384. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.64010378.x>
- Schwartz, G. J. (2000). The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition*, 16(10), 866-873. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00464-0](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00464-0)
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661-671. <https://doi.org/10.1038/35007534>
- Senfeld, J., Peng, Q., Shi, Y., Qian, S., & Shen, J. (2023). A purinergic mechanism underlying metformin regulation of hyperglycemia. *iScience*, 26(6). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106898>
- Sergeeva, O. A., Klyuch, B. P., Fleischer, W., Eriksson, K. S., Korotkova, T. M., Siebler, M., & Haas, H. L. (2006). P2Y receptor-mediated excitation in the posterior hypothalamus. *European Journal of Neuroscience*, 24(5), 1413-1426. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05027.x>
- Sheng, Z., Santiago, A. M., Thomas, M. P., & Routh, V. H. (2014). Metabolic regulation of lateral hypothalamic glucose-inhibited orexin neurons may influence midbrain reward neurocircuitry. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 62, 30-41. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.08.001>
- Shimizu, N., Oomura, Y., Plata-Salamán, C. R., & Morimoto, M. (1987). Hyperphagia and obesity in rats with bilateral ibotenic acid-induced lesions of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Brain Research*, 416(1), 153-156. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91508-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)91508-3)
- Smith, E. R., Smedberg, J. L., Rula, M. E., Hamilton, T. C., & Xu, X. X. (2001). Disassociation of MAPK Activation and c-Fos Expression in F9 Embryonic

- Carcinoma Cells following Retinoic Acid-induced Endoderm Differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(34), 32094-32100. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105009200>
- Sohn, J.-W., Harris, L. E., Berglund, E. D., Liu, T., Vong, L., Lowell, B. B., Balthasar, N., Williams, K. W., & Elmquist, J. K. (2013). Melanocortin 4 Receptors Reciprocally Regulate Sympathetic and Parasympathetic Preganglionic Neurons. *Cell*, 152(3), 612-619. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.022>
- Stachowiak, M. K., Sar, M., Tuominen, R. K., Jiang, H. K., An, S., Iadarola, M. J., Poisner, A. M., & Hong, J. S. (1990). Stimulation of adrenal medullary cells in vivo and in vitro induces expression of c-fos proto-oncogene. *Oncogene*, 5(1), 69-73.
- Stanley, S., Wynne, K., McGowan, B., & Bloom, S. (2005). Hormonal Regulation of Food Intake. *Physiological Reviews*, 85(4), 1131-1158. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2004>
- Ste Marie, L., Miura, G. I., Marsh, D. J., Yagaloff, K., & Palmiter, R. D. (2000). A metabolic defect promotes obesity in mice lacking melanocortin-4 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(22), 12339-12344. <https://doi.org/10.1073/pnas.220409497>
- Steculorum, S. M., Paeger, L., Bremser, S., Evers, N., Hinze, Y., Idzko, M., Kloppenburg, P., & Brüning, J. C. (2015). Hypothalamic UDP Increases in Obesity and Promotes Feeding via P2Y6-Dependent Activation of AgRP Neurons. *Cell*, 162(6), 1404-1417. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.032>
- Steculorum, S. M., Timper, K., Engström Ruud, L., Evers, N., Paeger, L., Bremser, S., Kloppenburg, P., & Brüning, J. C. (2017). Inhibition of P2Y6 Signaling in AgRP Neurons Reduces Food Intake and Improves Systemic Insulin Sensitivity in Obesity. *Cell Reports*, 18(7), 1587-1597. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.01.047>
- Stuber, G. D., & Wise, R. A. (2016). Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward. *Nature Neuroscience*, 19(2), 198-205. <https://doi.org/10.1038/nn.4220>
- Suarez-Huerta, N., Pouillon, V., Boeynaems, J.-M., & Robaye, B. (2001). Molecular cloning and characterization of the mouse P2Y4 nucleotide receptor. *European Journal of Pharmacology*, 416(3), 197-202. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)00875-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)00875-5)
- Taborsky, G. J. (2010). The Physiology of Glucagon. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 4(6), 1338-1344. <https://doi.org/10.1177/193229681000400607>
- Taborsky, G. J., & Munding, T. O. (2012). Minireview: The Role of the Autonomic Nervous System in Mediating the Glucagon Response to Hypoglycemia. *Endocrinology*, 153(3), 1055-1062. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2040>
- Tai, T. Y., & Pek, S. (1976). Direct Stimulation by Growth Hormone of Glucagon and Insulin Release from Isolated Rat Pancreas. *Endocrinology*, 99(3), 669-677. <https://doi.org/10.1210/endo-99-3-669>
- Tao, Y.-X. (2005). Molecular mechanisms of the neural melanocortin receptor dysfunction in severe early onset obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 239(1-2), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.04.012>
- Tengholm, A., & Gylfe, E. (2017). cAMP signalling in insulin and glucagon secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(S1), 42-53. <https://doi.org/10.1111/dom.12993>
- Thiebaud, D., Jacot, E., DeFronzo, R. A., Maeder, E., Jequier, E., & Felber, J.-P.

- (1982). The Effect of Graded Doses of Insulin on Total Glucose Uptake, Glucose Oxidation, and Glucose Storage in Man. *Diabetes*, 31(11), 957-963. <https://doi.org/10.2337/diacare.31.11.957>
- Thorell, L., Sjöberg, L.-B., & Hernell, O. (1996). Nucleoides in human milk-Thorell 1996. *Pediatric Research*, 40.6, 845-852.
- Traut, T. W. (1994). Physiological concentrations of purines and pyrimidines. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 140(1), 1-22. <https://doi.org/10.1007/BF00928361>
- Tucker, R. M., & Tan, S.-Y. (2017). Do non-nutritive sweeteners influence acute glucose homeostasis in humans? A systematic review. *Physiology & Behavior*, 182, 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.09.016>
- Tura, A., Pacini, G., Yamada, Y., Seino, Y., & Ahren, B. (2019). Glucagon and insulin secretion, insulin clearance, and fasting glucose in GIP receptor and GLP-1 receptor knockout mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 316(1), R27-R37. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00288.2018>
- Ulbricht, R. J., Rivas, C. A., Marino, H., Snyder, E., James, D., Makhloufi, J., Johnson, N., Zimmerman, S., & Wang, J. (2023). Sex-specific effect of P2Y2 purinergic receptor on glucose metabolism during acute inflammation. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1248139>
- Ulus, I. H., Watkins, C. J., Cansev, M., & Wurtman, R. J. (2006). Cytidine and uridine increase striatal CDP-choline levels without decreasing acetylcholine synthesis or release. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 26(4-6), 563-577. <https://doi.org/10.1007/s10571-006-9004-5>
- Unger, R. H. (1981). The milieu interieur and the islets of Langerhans. *Diabetologia*, 20(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/BF00253809>
- Urasaki, Y., Pizzorno, G., & Le, T. T. (2014). Uridine Affects Liver Protein Glycosylation, Insulin Signaling, and Heme Biosynthesis. *PLoS ONE*, 9(6), 99728. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099728.g001>
- Vong, L., Ye, C., Yang, Z., Choi, B., Chua, S., & Lowell, B. B. (2011). Leptin Action on GABAergic Neurons Prevents Obesity and Reduces Inhibitory Tone to POMC Neurons. *Neuron*, 71(1), 142-154. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.028>
- Voss-Andreae, A., Murphy, J. G., Ellacott, K. L. J., Stuart, R. C., Nillni, E. A., Cone, R. D., & Fan, W. (2007). Role of the Central Melanocortin Circuitry in Adaptive Thermogenesis of Brown Adipose Tissue. *Endocrinology*, 148(4), 1550-1560. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1389>
- Wang, L., Albrecht, M. A., & Wurtman, R. J. (2007). Dietary supplementation with uridine-5'-monophosphate (UMP), a membrane phosphatide precursor, increases acetylcholine level and release in striatum of aged rat. *Brain Research*, 1133, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.11.048>
- Wang, L., Karlsson, L., Moses, S., Hultgårdh-Nilsson, A., Andersson, M., Bornä, C., Gudbjartsson, T., Jern, S., & Erlinge, D. (2002). P2 Receptor Expression Profiles in Human Vascular Smooth Muscle and Endothelial Cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 40(6), 841-853. <https://doi.org/10.1097/00005344-200212000-00005>
- Wang, L., Pooler, A. M., Albrecht, M. A., & Wurtman, R. J. (2005). Dietary Uridine-5'-Monophosphate Supplementation Increases Potassium-Evoked Dopamine Release and Promotes Neurite Outgrowth in Aged Rats. *Journal of Molecular*

- Neuroscience*, 27(1), 137-146. <https://doi.org/10.1385/JMN:27:1:137>
- Wang, S., Iring, A., Strilic, B., Albarrán Juárez, J., Kaur, H., Troidl, K., Tonack, S., Burbiel, J. C., Müller, C. E., Fleming, I., Lundberg, J. O., Wettschureck, N., & Offermanns, S. (2015). P2Y2 and Gq/G11 control blood pressure by mediating endothelial mechanotransduction. *Journal of Clinical Investigation*, 125(8), 3077-3086. <https://doi.org/10.1172/JCI81067>
- Wang, W., Cui, J., Ma, H., Lu, W., & Huang, J. (2021). Targeting Pyrimidine Metabolism in the Era of Precision Cancer Medicine. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.684961>
- Waterson, M. J., & Horvath, T. L. (2015). Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. *Cell Metabolism*, 22(6), 962-970. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.026>
- Wihlborg, A., Malmsjö, M., Eyjolfsson, A., Gustafsson, R., Jacobson, K., & Erlinge, D. (2003). Extracellular nucleotides induce vasodilatation in human arteries via prostaglandins, nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarising factor. *British Journal of Pharmacology*, 138(8), 1451-1458. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705186>
- Winter, T. A. (2006). The effects of undernutrition and refeeding on metabolism and digestive function. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 9(5), 596-602. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000241670.24923.5b>
- Wu, Q., Boyle, M. P., & Palmiter, R. D. (2009). Loss of GABAergic Signaling by AgRP Neurons to the Parabrachial Nucleus Leads to Starvation. *Cell*, 137(7), 1225-1234. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.022>
- Wu, Q., Clark, M. S., & Palmiter, R. D. (2012). Deciphering a neuronal circuit that mediates appetite. *Nature*, 483(7391), 594-597. <https://doi.org/10.1038/nature10899>
- Wurtman, R. J., Regan, M., Ulus, I., & Yu, L. (2000). Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochemical Pharmacology*, 60(7), 989-992. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(00\)00436-6](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(00)00436-6)
- Xu, B., Goulding, E. H., Zang, K., Cepoi, D., Cone, R. D., Jones, K. R., Tecott, L. H., & Reichardt, L. F. (2003). Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nature Neuroscience*, 6(7), 736-742. <https://doi.org/10.1038/nn1073>
- Yamamoto, T., Koyama, H., Kurajoh, M., Shoji, T., Tsutsumi, Z., & Moriwaki, Y. (2011). Biochemistry of uridine in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 412(19-20), 1712-1724. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.06.006>
- Yang, Y., Ye, Y., Deng, Y., & Gao, L. (2024). Uridine and its role in metabolic diseases, tumors, and neurodegenerative diseases. *Frontiers in Physiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1360891>
- Yang, Z.-J., Blaha, V., Meguid, M. M., Oler, A., & Miyata, G. (1999). Infusion of Nicotine Into the LHA Enhances Dopamine And 5-HT Release and Suppresses Food Intake. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64(1), 155-159. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(99\)00111-2](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(99)00111-2)
- Yi, C.-X., & Tschöp, M. H. (2012). Brain-gut-adipose-tissue communication pathways at a glance. *Disease Models & Mechanisms*, 5(5), 583-587. <https://doi.org/10.1242/dmm.009902>
- Yilmaz, M. S., Coskun, C., Suzer, O., Yalcin, M., Mutlu, D., & Savci, V. (2008). Hypotensive effects of intravenously administered uridine and cytidine in

- conscious rats: Involvement of adenosine receptors. *European Journal of Pharmacology*, 584(1), 125-136. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.01.044>
- Yu, J. H., & Kim, M.-S. (2012). Molecular Mechanisms of Appetite Regulation. *Diabetes & Metabolism Journal*, 36(6), 391. <https://doi.org/10.4093/dmj.2012.36.6.391>
- Yulyaningsih, E., Zhang, L., Herzog, H., & Sainsbury, A. (2011). NPY receptors as potential targets for anti-obesity drug development. *British Journal of Pharmacology*, 163(6), 1170-1202. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01363.x>
- Zhan, C. (2018). POMC Neurons: Feeding, Energy Metabolism, and Beyond. Q. Wu & R. Zheng (Ed.), *Neural Regulation of Metabolism. Advances in Experimental Medicine and Biology* (C. 1090). https://doi.org/10.1007/978-981-13-1286-1_2
- Zhang, X., & van den Pol, A. N. (2016). Hypothalamic arcuate nucleus tyrosine hydroxylase neurons play orexigenic role in energy homeostasis. *Nature Neuroscience*, 19(10), 1341-1347. <https://doi.org/10.1038/nn.4372>
- Zhang, Y., Ecelbarger, C. M., Lesniewski, L. A., Müller, C. E., & Kishore, B. K. (2020). P2Y2 Receptor Promotes High-Fat Diet-Induced Obesity. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00341>
- Zhang, Y., Guo, S., Xie, C., & Fang, J. (2020). Uridine Metabolism and Its Role in Glucose, Lipid, and Amino Acid Homeostasis. *BioMed Research International*, 2020, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2020/7091718>
- Zippel, N., Limbach, C. A., Ratajski, N., Urban, C., Luparello, C., Pansky, A., Kassack, M. U., & Tobiasch, E. (2012). Purinergic Receptors Influence the Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells and Development*, 21(6), 884-900. <https://doi.org/10.1089/scd.2010.0576>
- Zrenner, R., Riegler, H., Marquard, C. R., Lange, P. R., Geserick, C., Bartosz, C. E., Chen, C. T., & Slocum, R. D. (2009). A functional analysis of the pyrimidine catabolic pathway in Arabidopsis. *New Phytologist*, 183(1), 117-132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02843.x>

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	:	Serotonin
α	:	Alfa
ABC	:	Avidin biyotin kompleksi
AgRP	:	Agouti ilişkili peptit
α -MSH	:	α -melanosit uyarıcı hormon
ARC	:	Arkuat nükleus
ATP	:	Adenozin trifosfat
β	:	Beta
BAT	:	Kahverengi yağ doku
BDNF	:	Beyin kaynaklı büyüme faktörü
BOS	:	Beyin omurilik sıvısı
C	:	Sitidin
CART	:	Kokain amfetaminle düzenlenen transkript
CNT	:	Konsantre edici nükleozit taşıyıcısı
CRH	:	Kortikotropin salgılatıcı hormon
CTP	:	Sitidin trifosfat
DAG	:	Diaçilgliserol
dC	:	Deoksi sitidin
dl	:	Desilitre
DMN	:	Dorsamedial nükleus
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksi ribonükleik asit
DPD	:	Dihidropirimidin dehidrogenaz
dT	:	Deoksi timin
ENT	:	Dengeleyici nükleozit taşıyıcısı
GABA	:	Gama-amino bütirik asit
GİS	:	Gastointestinal sistem
GLUT4	:	Glukoz taşıyıcı peptit 4
HCL	:	Hidroklorik asit
im	:	İntramusküler
isv	:	İntraserebroventriküler
iv	:	İntravenöz
KBB	:	Kan beyin bariyeri
kDA	:	Kilo Dalton
kg	:	Kilogram
KO	:	Knock out
LH	:	Lateral hipotalamus
LTP	:	Uzun süreli potansiasyon
MC3R	:	Melanokortin 3 reseptörü
MC4R	:	Melanokortin 4 reseptörü
MCH	:	Melanin konsantre edici hormon
mg	:	Miligram
mIU	:	Mili ünite
ml	:	Mililitre
MSS	:	Merkezi sinir sistemi

NaOH	:	Sodyum hidroksit
ng	:	Nanogram
nm	:	Nanometre
NPY	:	Nöropeptit y
NTS	:	Nükleus tractur soliter
ob/ob	:	Obez knoc out
P	:	Fosfat
PBN	:	Parabrakial nükleus
pg	:	Pikogram
PKA	:	Protein kinaz A
PKC	:	Protein kinaz C
PLC	:	Fosfolipaz C
POMC	:	Proopiomelanokortin
PVN	:	Paraventriküler nükleus
RNA	:	Ribonükleik asit
sAMP	:	Siklik adenozin mono fosfat
TMN	:	Tuberomammiller nükleus
TRH	:	Tirotropin salgılatıcı hormon
U	:	Üridin
UDP	:	Üridin difosfat
µl	:	Mikrolitre
µM	:	Mikromolar
µmol	:	Mikromol
UMP	:	Üridin monofosfat
Upase	:	Üridin fosforilaz
UTP	:	Üridin trifosfat
VMN	:	Ventromedial hipotalamus
VTA	:	Ventral tegmental alan

8. EKLER

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görüle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Merkezi yolla uygulanan üridin ve üridin nükleotidlerinin kardiyovasküler, metabolik ve nöroendokrin etkilerinin araştırılması
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. Mehmet CANSEV BUÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Dr. Berna SALMAN Yüksek Lisans Öğr. Erkan ERMIŞ Doktora Öğr. Cansu KOÇ
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Serbest Araştırma Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.09.2021 – 01.09.2023
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	150 Adet Erkek Sıçan

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	04.06.2021

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2021 - 08 / 01	Tarih : 15.06.2021
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp- Anatomi	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H			
Dr.Öğr. Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	☐ E ☒ H			
Prof. Dr. Veli Yılğör ÇIRAK Üye	Veteriner- Parazitoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ☒ H			
Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ☒ H			
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootečni	Ziraat Fakültesi	☐ E ☒ H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇINKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	☐ E ☒ H			
Asiye Işıl SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	☐ E ☒ H			
Filiz TORUN Üye	Sivil Üye	Emekli	☐ E ☒ H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	☐ E ☒ H			

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00 /145
Konu: Dilekçeniz

28.09.2021

Prof. Dr. Mehmet CANSEV

İLGİ: 27.09.2021 Tarihli Dilekçeniz

Dilekçeniz Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 28.09.2021 tarihli toplantısında görüşülmüştür. "*Merkezi yolla uygulanan üridin ve üridin nükleotidlerinin kardiyovasküler, metabolik ve nöroendokrin etkilerinin araştırılması*" başlıklı araştırma projesine yardımcı araştırmacı olarak Prof. Dr. Özhan EYİGÖR, Doktora Öğrencisi Nursel HASANOĞLU AKBULUT ve Yüksek Lisans Öğrencisi Nergis COŞKAN'ın eklenmesi talebinizin uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Gökhan GOKTALAY
HADYEK Başkanı

9. TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında bana rehberlik eden, bilgi birikimi ve tecrübelerini cömertçe paylaşarak akademik gelişimime katkıda bulunan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet CANSEV'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Yönlendirmeleri, sabrı ve bilimsel bakış açısıyla her zaman yanımda olduğu için minnettirim. Kendisinden öğrendiğim değerli bilgiler ve akademik disiplin, sadece bu çalışmada değil, hayatım boyunca taşıyacağım önemli bir miras olacaktır.

Yüksek Lisans ve doktora eğitimim boyunca akademik ve bilimsel bir vizyon kazanmamda emekleri olan Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY ve kıymetli hocalarım Prof. Dr. R. Levent BÜYÜKUYSAL, Prof. Dr. Mine Sibel GÜRÜN, Prof. Dr. Sinan ÇAVUN, Prof. Dr. M. Sertaç YILMAZ ve Dr. Öğretim Görevlisi Gülce Sevdar ÇEÇEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince desteklerini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Özhan EYİGÖR hocama çok teşekkür ederim.

Desteğini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, bilime ve hayata dair çok şey öğrendiğim Kimyager Sami AYDIN'a teşekkür ederim.

Anabilim dalımızda öğrenimlerine devam eden değerli arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarımıza güler yüzleri ve destekleri için teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım, çalışmalarımdayardımları ve dostluklarıyla yanımda olan çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Berna SALMAN, Arş. Gör. Dr. Deniz Norouzi, Arş. Gör. Dr. Nursel Hasanoğlu AKBULUT ve Doç. Dr. Ayşen ÇAKIR'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte her zaman yanımda olan, sabırları, anlayışları ve sevgileriyle bana güç veren sevgili eşim Cemil ve oğlum Koray'a en derin teşekkürlerimi sunarım. Onların desteği olmasaydı, bu zorlu ama bir o kadar da anlamlı yolculuğu tamamlamak mümkün olmazdı. Ailemin varlığı, bu çalışmayı yaparken en büyük motivasyon kaynağım oldu ve her anlarında hissettirdikleri sevgi ve güven, bu yolculuğu anlamlı kıldı.

Hayatımın her döneminde yanımda olan, bana güç veren ve motive eden annem Nurten ve Mahmut abiye; Nevin annem ve Mehmet babama ve bana desteğini esirgemeyen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir (TOA-2021-684).

10. ÖZGEÇMİŞ

2006 yılında başladığı Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden İngilizce hazırlık dahil olmak üzere 2011 yılında mezun oldu. Takiben Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda ilk yüksek lisansını "Arpanın Cas Geni Homoloğunun Klonlanması ve Külleme Hastalığına Karşı Dirençlilikte Ekspresyon Seviyesinin İncelenmesi" tez başlığı ve 110T984 nolu TÜBİTAK proje bursu ile 2011-2013 yılları arasında gerçekleştirdi. 2014 yılında Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalında ikinci yüksek lisansına başladı. "Maternal CDP-kolin Tedavisinin Yenidoğan Sıçan Akciğer Dokusu Maturasyonu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması" tez başlığı ve KUAP(T)-2016/23 nolu BAP proje desteği ile 2019 yılında mezun oldu. Takiben 100/2000 programı ile 2019 yılında Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalında doktora başladı. 17.02.2020 tarihinde Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalında Arş. Gör. olarak göreve başladı ve halen devam ediyor.