Deniz Ekin YILDIRIM

BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2024

T.C.
BURSA ULUDAĞ
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

RATLARDA EPİFİZ BEZİNDE D VİTAMİNİ RESEPTÖRÜ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI, EPİFİZ BEZİ HORMONLARI OLAN SEROTONİN VE MELATONİN İLE D VİTAMİNİ İLİŞKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ

DENİZ EKİN YILDIRIM

DOKTORA TEZİ

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

RATLARDA EPİFİZ BEZİNDE D VİTAMİNİ RESEPTÖRÜ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI, EPİFİZ BEZİ HORMONLARI OLAN SEROTONİN VE MELATONİN İLE D VİTAMİNİ İLİŞKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ

DENİZ EKİN YILDIRIM

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN:

Doç. Dr. Duygu UDUM

Proje No- TGK-2022-744

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum "**Ratlarda Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi**" 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.

Deniz Ekin YILDIRIM

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

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

Adı Soyadı: Deniz Ekin YILDIRIM

Ana Bilim Dalı: Veteriner Biyokimya

Tez Konusu: Ratlarda Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları Olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
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

Doç. Dr. Duygu UDUM

İmza:

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK
İÇ KAPAK
ETİK BEYANI ..... **II**
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU ..... **III**
İÇİNDEKİLER ..... **IV**
TÜRKÇE ÖZET ..... **VIII**
İNGİLİZCE ÖZET ..... **IX**
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLER İLE İLİŞKİSİ ..... **X**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Epifiz Bezi 4
2.2. Epifiz Bezi Kalsifikasyonu (PGC), Melatonin Üretimi, Nörodejeneratif Hastalıklar ve Yaşlanma 7
2.3. PGC Oluşumu İçin Potansiyel Mekanizmalar 9
2.4. Melatonin 16
2.5. Melatonin Sentezi ve Salgısı 17
2.6. Melatonin Sentezini Etkileyen Faktörler 20
2.7. Melatoninin Etki Mekanizmaları 22
2.8. Melatonin Reseptörleri 23
2.9. Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri 28
2.10. İnsanlarda Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri 30
2.10.1 Suprakiazmatik nükleus (SCN) 30
2.10.2. Pars tuberalis 31
2.10.3. Retina 31
2.10.4. Hipokampus 32
2.10.5. Serebellum 33
2.11. Merkezi Dopaminerjik Sistem 33
2.12. Epifiz Bezi, Melatonin ve Sirkadiyen Ritim 33
2.13. Melatoninin Antioksidan Etkisi 38
2.14. Melatoninin Sinir Koruyucu Rolü 46
2.15. Uykunun Düzenlenmesi ve Melatonin 50
2.15.1. Uyku fenomolojisi ve fonksiyonu 50
2.15.2. Uyku fonksiyonları hala esrarengizdir 50
2.15.3. Uyanıklığı teşvik eden nörotransmitterlerin sayısı, uykuyu indükleyenlerden daha fazladır 51
2.15.4. Melatoninin uyku üzerine muhtemel etkileri olan molekülleri düzenler ve sirkadiyen ritmi kontrol eder 54

2.15.4.1. Melatoninin uyku düzenlenmesinde görevi olan momoaminler ile ilişkisi……..54
2.15.4.1.1. Melatonin ve serotonin ilişkisi……..54
2.16. Serotonin 59
2.17. İndolalkilamin 5-Hidroksitriptamin (5-HT; serotonin), Başlangıçta Nasıl Tanımlandı?..... 60
2.18. Serotonerjik Nöronların Nöroanatomik Organizasyonu 61
2.19. Serotonin Sentezi..... 65
2.20. Serotonin Sentezi Belli Koşullarda Artabilir..... 68
2.21. 5-HT Veziküllerde Depolanır ve Eksositotik Bir Mekanizma ile Salınır 68
2.22. 5-HT'in Sinaptik Aktivitesi, Başlıca Olarak Serotonerjik Terminallere Geri Alınmasıyla Sona Erer 72
2.23. Serotoninin Başlıca Katabolizması 74
2.24. Serotonin ve Davranış 76
2.25. Serotonin Nöroendokrin Fonksiyonları Düzenler 77
2.26. Serotonin Sirkadiyen Ritmi Düzenler 77
2.27. Serotonin ve İştah..... 78
2.28. Serotonin Reseptörleri..... 80
2.28.1. 5-HT1 reseptör ailesi, 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-ht1E ve 5-HT1F reseptörlerinden oluşur..... 81
2.28.2. 5-HT2 reseptör ailesi..... 86
2.28.3. 5-HT3 reseptörü 87
2.28.4. 5-HT4, 5-HT6 ve 5-HT7 reseptörleri..... 88
2.29. D Vitamini..... 88
2.30. D Vitamini Metabolizması ve Kalsemik Olmayan Fonksiyonları 94
2.31. D Vitamini ve Sinir Sistemi 96
2.32. Gelişen ve Olgun Beyinde D Vitamini Reseptörü 97
2.33. Beyinde D Vitamini Reseptörü Varlığı..... 101
2.34. Gelişmekte Olan Beyinde D Vitamini Reseptörü 103
2.35. Genomik Olmayan D Vitamini Sinyali..... 104
2.36. D Vitamini Eksikliği 104
2.36.1. D Vitamini eksikliğinin yetişkin beyin üzerinde kalıcı etkileri 105
2.36.2. D Vitamini eksikliği ve nörotransmitterler 106
2.36.3. D Vitamini eksikliği ve dopamin 107
2.36.4. D Vitamini eksikliğinin yetişkinlerde davranışlar üzerine etkisi 108
2.37. D Vitamini ve Yetişkin Beyinde Nörotransmitter Ekspresyonu 110

2.38. D Vitamini ve Aksonel Gelişim 112
2.39. D Vitamini ve L-Tipi Kalsiyum Kanalları 113
2.40. D Vitamini ve Reaktif Oksijen Türleri 114
2.41. D Vitamini ve Nörotrofik Faktörler 114
2.42. D Vitamini, Melatonin, Serotonin İlişkisi ve Epifiz Bezi 115
2.42.1. Triptofan hidroksilazlar ve D Vitamini 115
2.42.2. D Vitamini, melatonin ve uyku 120
2.42.3. Melatonin ve VDR ilişkisi 123
2.42.4. D Vitamini, serotonin, SERT ve MAO ilişkisi 123
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER 125
3.1. Deney Hayvanları 125
3.2. Kullanılan Gereçler 125
3.2.1. İmmunohistokimyasal boyama metodu için kullanılan gereçler 125
3.2.3. İntraperitoneal enjeksiyon için kullanılan ilaçlar 127
3.2.4. D Vitamini ölçümü için kullanılan gereçler 127
3.2.5. Ratlarda cerrahi ve anestezi işlemi için kullanılacak gereçler 127
3.3. Yöntem 127
3.3.1. Deney gruplarının oluşturulması ve yapılan uygulamalar 127
3.3.2. İntraperitoneal olarak uygulanacak D Vitamini ve melatoninin hazırlanması 129
3.3.3. Örneklerin toplanması 129
3.3.4. Melatonin ve serotoninin plazma konsantrasyonlarının ELISA yöntemiyle ölçülmesi 131
3.3.5. 25(OH)D ölçümü 132
3.3.6. Histolojik prosedür 132
3.3.7. İmmunohistokimyasal prosedür 132
3.3.8. Verilerin değerlendirilmesi 133
4. BULGULAR 134
4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular 134
4.1.1. Epifiz bezinin histolojik görüntüsü 134
4.1.2. İmmunuhistokimyasal olarak epifiz bezinde VDR ekspresyonu bulguları 135
4.1.3. İmmunuhistokimyasal olarak epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu bulguları 137
4.1.5. İmmunohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi 141
4.2. Biyokimyasal Bulgular 143
4.2.1. Biyokimyasal bulguların değerlendirilmesi 143

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 147
6. KAYNAKLAR 153
7. SİMGELER VE KISALTMALAR 200
8. EKLER 210
9. TEŞEKKÜR……..... 218
10. ÖZGEÇMİŞ……... 219

TÜRKÇE ÖZET

Triptofandan triptofan hidroksilaz (TPH) izoenzimleri aracılığıyla serotonin ve melatonin sentezi gerçekleşmektedir. Bu yolaklarda TPH'lar anahtar enzimdir. Vücutta, D vitamini dengesizliklerinin oluşturduğu klinik tablo ile melatonin ve serotonin metabolizması bozuklukları sonucu gelişen klinik bulguların benzerliği ve son zamanlarda D vitamininin bir nörohormon olarak adlandırılması bizi D vitamini ve epifiz bezi arasındaki ilişkiyi araştırmaya teşvik etmiştir. Ayrıca böyle bir çalışmanın daha önce yapılmamış olması sebebiyle özellikle nörodejeneratif hastalıklara yeni bir bakış açısı getirmek amaçlanmıştır.

Ratlarda yaptığımız bu çalışmada epifiz bezi, D vitamini, melatonin, serotonin ve TPH izoenzimleri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkartmak için kontrol grubu, D vit (+) grubu, D vit (-) grubu ve melatonin grubu olmak üzere dört farklı grup oluşturduk.

Epifiz bezinde yaptığımız immunohistokimyasal boyama ile D vitamini reseptörü (VDR) varlığı bulunmuştur. Ayrıca D vitamini ile melatoninin, VDR ile TPH izoenzimleri üzerine etkisi gösterilmiştir. Epifiz bezinde gruplar arasında yapılan ekspresyon şiddeti skorlaması (0 ile 3 arasında) sonucunda elde edilen istatistiki verilere göre; Kontrol grubu için, hem TPH1 (+++), hem TPH 2 (+++) hem de VDR (++) ekspresyon şiddetleri orta ile güçlü ekspresyon şiddeti olarak belirlenmiştir. Ayrıca bahsi geçen etkenlerin gruplar arası ekspresyon farklılıkları belirlenerek birbirleriyle olan ilişkileri ortaya konmuştur.

Ratlardan elde edilen kanlardan ise ELISA yöntemiyle D vitamini, serotonin ve melatonin ölçümleri yapılmıştır. D vit (+) grubunda kontrol grubuna kıyasla TPH ekspresyonları azalmasına rağmen kandaki melatonin seviyelerinin artması, D vitamininin periferik dokulardaki melatonin sentezi üzerine olan etkisinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak epifiz bezinde VDR varlığı kanıtlanmış ve epifiz bezi hormonları olan melatonin ve serotonin üzerine etkileri gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Epifiz bezi, D vitamini reseptörü, D vitamini, Melatonin, Serotonin, Triptofan hidroksilaz 1, Triptofan hidroksilaz 2.

İNGİLİZCE ÖZET

Investigatıon of The Presence of Vitamın D Receptors in The Pineal Gland, Biochemical and Immunohistochemical Determination of Vitamin D Relationship with Serotonin And Melatonin Which Are Pineal Gland Hormones in Rats

The synthesis of serotonin and melatonin from tryptophan occurs via the tryptophan hydroxylase (TPH) isoenzymes, with TPHs acting as the key enzymes in these pathways. In the body, the similarity between the clinical presentations caused by vitamin D imbalances and the clinical findings resulting from disruptions in serotonin and melatonin metabolism, along with the recent classification of vitamin D as a neurohormone, has prompted us to investigate the relationship between vitamin D and the pineal gland. Additionally, the fact that such a study has not been conducted before, aims to bring a new perspective to neurodegenerative diseases.

In this study conducted on rats, we created four different groups to elucidate the relationship between the pineal gland, vitamin D, melatonin, serotonin, and TPH isoenzymes: a control group, a vitamin D (+) group, a vitamin D (-) group, and a melatonin group.

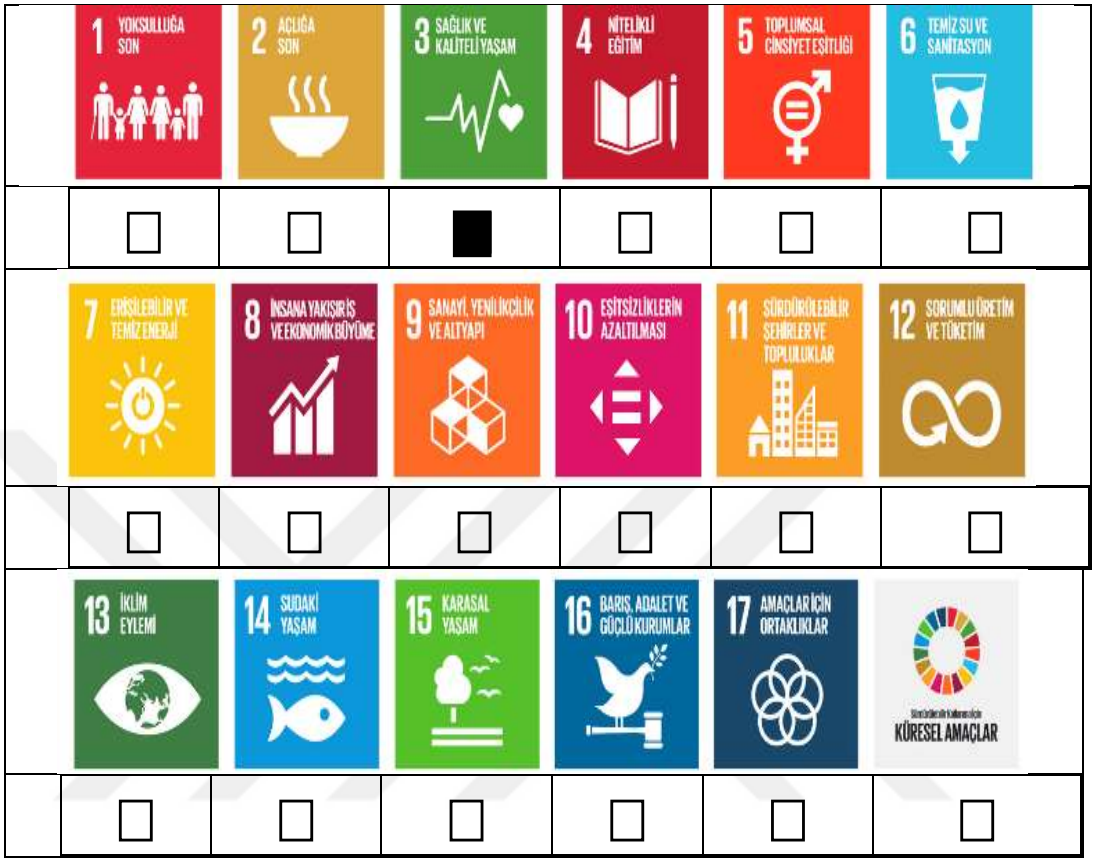
Using immunohistochemical staining on the pineal gland, we identified the presence of the vitamin D receptor (VDR). Additionally, the effects of vitamin D and melatonin on VDR and TPH isoenzymes were demonstrated. Based on the statistical data obtained from the expression intensity scoring (ranging from 0 to 3) conducted among the groups in the pineal gland, the control group showed medium to strong expression intensities for both TPH1 (+++), TPH2 (+++), and VDR (++).Additionally, the expression differences of the aforementioned factors between groups were identified, revealing their interrelationships.

Blood samples obtained from the rats were analyzed using the ELISA method to measure vitamin D, serotonin, and melatonin levels. The decrease in TPH expression in the vitamin D (+) group compared to the control group, accompanied by an increase in melatonin levels in the blood, suggests that the effect of vitamin D on peripheral tissues may contribute to melatonin synthesis.

In conclusion, the presence of VDR in the pineal gland has been demonstrated, and its effects on pineal gland hormones, namely melatonin and serotonin, have been shown.

Keywords: Pineal gland, Vitamin D receptor, Vitamin D, Melatonin, Serotonin, Tryptophan hydroxylase 1, Tryptophan hydroxylase 2.

BUÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ



Doktora tezi olarak sunduğum **"**Ratlarda Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları Olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi"başlıklı tez 3. Küresel Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri ile ilişkilidir.

1. GİRİŞ

Epifiz bezi, memeli beyninin geometrik merkezinde yer alan, hacmi yaklaşık 1 cm3 olan asimetrik bir oluşumdur ve epitalamusun bir parçasıdır (Bukreeva ve ark., 2023). İnsanlarda epifiz bezinin varlığı antik çağlardan beri bilinmektedir. Çağlar boyunca anatomistler, filozoflar, matematikçiler, kimyacılar gibi birçok bilim adamının ilgisini çekmiş olan bu bezin biyolojik fonksiyonları ilk olarak 1958 yılında ortaya konmuştur (Tan, Xu, Zhou, & Reiter, 2018). Epifiz bezinin bugün için bilinen temel fonksiyonu melatonin üreterek sirkadiyen ritmi düzenlemektir (Erlich, & Apuzzo, 1985).

Epifiz bezi kireçlenmesi ve kireçlenmeye bağlı olarak epifiz bezi fonksiyonlarında meydana gelen azalma günümüzde oldukça ilgi çeken bir konudur. Epifiz bezi kireçlenmesinin sebebi tam olarak anlaşılamamıştır ve hatta bu konuda araştırmacılar arasında birbirine zıt teoriler bulunmaktadır. Kimi araştırmacılar bunun fizyolojik bir süreç olduğunu iddia ederken bazı araştırmacılar ise patolojik bir süreç olduğunu iddia etmektedir. Epifiz bezinde kireçlenme arttıkça bezde involusyon şekillenir ve melatonin salgısı giderek azalır. Epifiz bezi kireçlenmesi, azalan melatonin seviyeleri ve nörolojik hastalıklar arasında güçlü bir bağ olduğu ortaya konmuştur. En dikkat çeken konulardan birisi ise Alzheimer hastalarında sağlıklı bireylere göre yüksek oranda epifiz bezinde kalsiyum kireçlerinin şekillenmesi, bezin hacminin küçülmesi ve dolayısıyla melatonin seviyelerinin azalmasıdır (Bukreeva ve ark., 2023). Bu konu üzerinde D vitamininin muhtemel etkisine bakacak olursak, D vitamini osteoblast hücrelerinde kalsiyum kanallarını güçlü ve hızlı bir şekilde modüle ettiği bilinmektedir ancak hipokampal nöronlarda L-tipi-voltaj-duyarlı kalsiyum kanallarını inhibe ettiği gösterilmiştir. Aynı etki kortikal nöronlarda da ispatlanmıştır ve D vitamininin nöronları kalsiyum toksisitesine karşı koruduğu düşünülmektedir (Eyles, Burne, & McGrath, 2013).

D vitamini yağda çözünen vitaminler grubuna dahil bir pro-hormondur. Deride prekürsör molekül olan 7-dehidrokolestrolün solar ultraviyole B (UVB) ile etkileşime girmesiyle sentezlenir. Daha sonra kan dolaşımına dahil olarak karaciğere gelir ve burada 25-hidroksivitamin D formuna hidroksillenir. Bir sonraki adımda temel olarak böbreklerde bulunan 1-α hidroksilaz enzimi aracılığı ile metabolik olarak aktif formu

olan 1α, 25-dihydroxyvitamin D (1α, 25-(OH)2D) haline dönüşür. Kalsitriol (1α, 25-(OH) 2D), D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanır ve hücre çekirdeğine taşınır. Burada retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerize olur. Ardından, kalsitriol-VDR-RXR kompleksi, çeşitli hedef genlerin promotörleri ve ko-aktivator molekülleri ile ilişkili olan D vitamini yanıt elementi (VDRE) olarak bilinen belirli bir DNA dizisine bağlanır. Düşük güneş ışığı maruziyeti, güneş kremleri kullanımı, ten rengi, mevsimler, yaş, enlem ve boylam gibi birçok etken D vitamini seviyelerini etkilemektedir. D vitamininin kalsiyum dengesi ve kemik sağlığı dışında metabolik hastalıklar, otoimmun durumlar, psikiyatrik hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi birçok hastalıkta etkisi vardır. Bu yaygın sistemik etkisi çeşitli organlarda eksprese edilen D vitamini reseptörü (VDR) varlığına dayandırılır (Muscogiuri ve ark., 2019).

Epifiz bezinde pinealosit adlı hücreler özellikle karanlıkta melatonin sentezinden sorumludurlar. Karanlıkta sempatik sinir terminallerinden salgılanan norepinefrin pinealositlerdeki adrenerjik reseptörleri uyararak melatonin sentezini tetikler (Lee, Hille, & Koh, 2021). Melatonin sentezi için öncelikle triptofan aminoasitinden serotonin sentezlenir. Sentezin ilk basamağında triptofandan, triptofan hidroksilaz (TPH) enzimi aracılığıyla 5-hidroksitriptofan (5-HTP) üretilir ve takip eden bir sonraki reaksiyonda 5-HTP, aromatik amino asit dekarboksilaz (AADC) ile 5-hidroksitriptamine (5-HT, serotonin) dönüştürülür. Daha sonra serotoninden iki farklı enzimin katalizlediği reaksiyonlar ile melatonin sentezlenir (Wang ve ark., 2024). Melatonin sirkadiyen ritmi düzenlemesinin yanı sıra antioksidan, antienflamatuvar, sinir koruyucu, glukoz dengesini düzenleme, antihipertansif, antikanser, immun sistem modülasyonu, üreme, ruh hali dengesi, diyabet ve ağrı gibi birçok hastalık ve mekanizmada rol alır (Ahmad ve ark., 2023). TPH, serotonin sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı katalizler. TPH enziminin TPH1 ve TPH2 olmak üzere iki izoformu vardır (Tidemand, Peters, Harris, Stensgaard, & Christensen, 2017). TPH1 bağırsak enterokromafin hücreleri, T hücreleri, plasenta gibi beyin dışı dokularda bulunur ve ayrıca diğer beyin bölümlerinin aksine epifiz bezinde de TPH1 izoformu bulunmaktadır. TPH2 ise tamamen rafe çekirdeklerinin ve enterik sinir sisteminin nöronlarına özgüdür. D vitamini beyinde TPH2 transkripsiyonunu arttırırken beyin dışı dokularda TPH1 transkripsiyonunu baskılamaktadır (Patricks, &

Ames, 2014). Ayrıca multiple skleroz (MS) hastalarında yapılan kronik bir çalışmada artan D vitamini seviyelerinin vücuttaki melatonin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Golan ve ark., 2013). Tüm bunlara ek olarak melatoninin suprakiazmatik nükleus (SCN) üzerindeki etkileri sayesinde uykuyu teşvik eden ana hormon olduğu bilinmektedir. Melatonin sentezinde meydana gelen azalma kötü uyku kalitesi ile ilişkilidir (Poza, Pujol, Albas, & Romero, 2022). Benzer bir şekilde D vitamini eksikliği de kötü uyku kalitesine yol açmaktadır (Gao ve ark., 2018).

Son zamanlarda, beyinde geniş bir dağılım gösteren D vitamini reseptörünün (VDR) varlığı dorsal rafe çekirdeğinde de gösterilmiştir (Liu ve ark., 2021). Dorsal ve medial rafe çekirdekleri beyindeki en geniş serotonerjik yapılardır. Serotoninin bilişsel fonksiyonları, uyku-uyanıklık döngüsünü, agresyonu ve duygu durumunu düzenlemek gibi çeşitli fonksiyonları vardır. Artan kanıtlara göre D vitamini eksikliği mental sağlığı negatif bir şekilde etkilemektedir. Son zamanlarda, D vitamininin serotonin ve melatonin metabolizmasında önemli bir rol aldığı ve uyku ve ruh halini düzenlediği düşünülmektedir (Huiberts, & Smolders, 2021).

Mevcut tez kapsamında epifiz bezi, epifiz bezi hormonları ve D vitamini arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Bu doğrultuda epifiz bezinde D vitamini reseptörü varlığı aranacak ve buna ek olarak her iki TPH izoformu ekspresyon seviyeleri araştırılacaktır. Ayrıca bu veriler üzerine D vitamini ve melatonin etkisi immunuhistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırılacaktır. Epifiz bezinde D vitamini reseptörünün varlığı ve D vitamininin TPH izoformları, melatonin ve serotonin seviyeleri üzerine olan etkilerinin gösterilmesi henüz mekanizmaları tam olarak çözülemeyen uyku, sirkadiyen ritim, ruh hali ve birçok nörodejeneratif hastalık konusunda yeni bir bakış açısı getireceği düşünülmektedir. Tüm bunlara ek olarak, epifiz bezi kireçlenmesinin sebepleri henüz kanıtlanamamış ve bu konuda tartışmalar hala süremektedir. D vitamini reseptörünün varlığı kanıtlandığı taktirde, ileri bir çalışma ile epifiz bezi hücreleri olan pinealositlerde hangi tip kalsiyum kanalının bulunduğu ve bu kanallara D vitamininin etkileri ortaya konabilir ve kireçlenme mekanizmalarının açıklanmasına katkı sağlayabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epifiz Bezi

Epifiz bezi, beynin geometrik merkezinde yer alan benzersiz bir organdır. Büyüklüğü kişiye göre değişiklik göstermektedir ve insandaki ortalama ağırlığı 150 mg civarındadır (Golan, Torres, Staskiewicz, Opielak, & Maciejewski, 2002). Epifiz bezi tüm omurgalılarda bulunur (Tan, Manchester, Fuentes-Broto, Paredes, & Reiter, 2011). Omurgalılarda epifiz bezinin boyutları, canlıların yaşadıkları alanlarında hayatta kalma koşulları ve coğrafi lokasyonlarıyla ilişkili olduğu görülmektedir. Daha soğuk ortamlarda epifiz bezleri daha büyüktür. Genel bir kural olarak, omurgalılarda epifiz bezi güneyden kuzeye veya ekvatordan kutuplara doğru gidildikçe büyür (Ralph, 1975). Aynı türün farklı bir ortama taşınması durumunda epifiz bezi boyutlarında bir değişiklik olup olmayacağı henüz bilinmemektedir (Tan, Xu, Zhou, & Reiter, 2018).

Birçok fizyolojik ya da patolojik durumun epifiz bezinin morfolojisini değiştirdiği bilinmektedir. Örneğin, genellikle obez bireylerde epifiz bezi zayıf kişilerden önemli derecede daha küçüktür (Grosshans ve ark., 2016). Ayrıca epifiz hacmi sağlıklı kontrollere kıyasla insomnia hastalarında önemli ölçüde azalmıştır ve epifiz hacminin küçülmesi fonksiyonel uyku bozukluğunun nedeni mi ya da sonucu mu olduğunu aydınlatmak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Bumb ve ark., 2014). Bu gözlemler epifiz bezi fenotipinin sağlık koşulları ya da çevresel faktörlerle değişebileceğine işaret etmektedir. Bugüne kadar en büyük epifiz bezi yeni doğan Güney Kutbu foklarında tespit edilmiştir ve yaklaşık olarak tüm beyinlerinin üçte birini kaplamaktadır (Bryden, Griffiths, Kennaway, & Ledingham, 1986; Cuello, & Tramezzanı, 1969). Bu foklar büyüdükçe epifiz bezleri küçülür. Ancak yetişkin bir fok balığında bile, epifiz bezi oldukça büyüktür ve ağırlığı yaklaşık olarak 4000 mg'a ulaşabilir, bu da insanınkinden 27 kat daha büyüktür. Bu hayvanların sahip oldukları oldukça büyük epifiz bezleri, tecrübe ettikleri zorlu hayatta kalma şartlarına bağlanır (Tan ve ark., 2005).

İnsan epifiz bezi, 2000 yılı aşkın bir süredir tanınmaktadır. Anatominin babası olarak bilinen Yunan anatomist Herophilus (M.Ö. 325-280), epifiz bezini bir hayvanın hafızasının valfi olarak tanımlamıştır. Fransız filozof, matematikçi ve bilim insanı Rene Descartes (1596-1650), epifiz bezini ruhun bulunduğu merkez ve tüm

düşüncelerin oluştuğu yer olarak görmüştür. Epifiz bezinin gerçek biyolojik işlevi ancak 1958 yılında ortaya çıkarılmıştır (Lerner, Case, Takahashi, Lee, & Mori, 1958). Bu bez, öncelikle melatonin adı verilen bir kimyasalı kan dolaşımına ve beyin omurilik sıvısına üreten ve salgılayan bir salgı bezidir. Ek olarak, N,N-dimetiltriptamin (DMT veya N,N-DMT) gibi metilenmiş molekülleri, (Hill, & Persinger, 2003; Guchhait, 1976) ve bazı peptidleri üretir (Khavinson, Kopylov, Vaskovsky, Ryzhak, & Linkova, 2017; Pavel, & Petrescu, 1966). DMT'nin, doğum sırasında, uyku esnasında (özellikle rüya görme anlarında) ve/veya ölümle yakın zamanlarda, "beden dışı" deneyimler oluşturmak için sadece epifiz bezi tarafından üretildiği düşünülmektedir (Nichols, 2017). Ancak, bu maddelerin tam olarak biyolojik etkileri henüz netleştirilmemiştir. Son zamanlarda, epifiz bezinin kolesterolden nörosteroidler sentezleyen önemli bir organ olduğu rapor edilmiştir. Bu nörosteroidler arasında testosteron, 5α ve 5β-dihidrotestosteron (5α ve 5β-DHT), 7α-hidroksipregnenolon (7α-OH PREG) ve estradiol-17β (E2) bulunmaktadır. Bu steroidlerin sentez mekanizması epifiz bezinde tanımlanmıştır. 7α-OH PREG, epifiz bezi tarafından sentezlenen ana nörosteroiddir. Bu steroidin sentezi ve bezden salınımı döngüsel bir ritme sahiptir ve bazı omurgalıların, özellikle kuşların hareket etkinliklerini düzenlemektedir (Tsutsui, Haraguchi, & Vaudry, 2018).

En yaygın kabul gören kavram, melatoninin epifiz bezinin tanımlanmış başlıca ürünü olduğudur. Melatonin, triptofan türevidir. İlk kez inek epifiz bezinden izole edilmiş ve başlangıçta bir nöroendokrin hormon olarak sınıflandırılmıştır (Reiter, 1991).

Epifiz bezi, başlıca pinealositler, mikroglia ve astrositlerden oluşur. Pinealositlerin kökeni henüz tam olarak belirlenememiştir. Mevcut bilgilere göre pinealositler, Pax6 gen ekspresyonuna sahip nöroepitel hücrelerinden farklılaşmaktadır (Rodriguez, Noctor, & Munoz, 2016). Bu hücreler melatonin sentez ve salınımı için özelleşmişlerdir (ve muhtemel bazı diğer maddeler). Melatonin sentezi temel olarak epifiz bezinin mitokondrilerinde gerçekleşir ve pinealositler bulundurdukları mitokondriler açısından iki adet karakteristik özelliğe sahiptir. İlk olarak, pinealositler, sinir hücrelerine göre çok daha fazla mitokondri içerir. İkinci olarak, bu mitokondrilerin morfolojisi, 24 saatlik bir dönem boyunca çekirdek bölünmesi, birleşmesi ve mitofaji aktiviteleriyle ilişkili olarak belirgin dinamik

değişiklikler sergiler (Tan, Manchester, Qin & Reiter, 2016). Yüksek mitokondri yoğunluğu nedeniyle, mitokondrilerin melatonin sentezi için başlıca alanlar olduğunu düşünülmüştür (Tan ve ark., 2013). Sonraki çalışmalar bu tahminin doğruluğunu kanıtlamıştır. Melatonin sentezi, hem hayvan hem de bitki hücrelerinin mitokondrilerinde tespit edilmiştir (He ve ark., 2016; Wang ve ark., 2017). Son zamanlarda bu bilgi Suofu ve arkadaşları tarafından da doğrulanmıştır (Suofu ve ark., 2017). Onlar pinelositlerde ve nöronal hücrelerde mitokondrilerin, melatonin üretiminin özel bölgeleri olduğunu rapor etmişlerdir. Melatonin sentezinin tam olarak gerçekleştiği alt bölge mitokondri matriksidir. Bu nedenle, pinealositlerdeki birçok mitokondri, melatoninin fonksiyonlarıyla ilişkilidir. Bu bilgiler, doğal olarak mitokondri haricinde melatonin üretimini dışlamaz. Sitoplazmada, melatonin aynı şekilde sentezlenebilir. Örneğin, mitokondri içermeyen kırmızı kan hücreleri ve trombositlerde melatonin sentezlerler (Rosengarten, Meller, & Friedhoff, 1972; Launay ve ark., 1982). Sonuç olarak, özellikle asetil koenzim A' ya ulaşılabilirlik nedeniyle ve asetil koenzim A daha çok mitokondride bulunması nedeniyle, mitokondri dışı melatonin sentezi mitokondriye oranla verimli değildir (Tan ve ark., 2016).

Omurgalılarda epifiz bezinde kalsiyum birikimi birkaç on yıl önce saptanmıştır (Lilja, 1948; Goree, Wallace, & Bean, 1963). Bazı araştırmacılar, şizofreni ve meme karsinomu gibi epifiz bezi kireçlenmesinin belirli endokrin hastalıklarla ilişkili olduğuna inanmaktadır (Bersani ve ark., 1999; Sandyk, 1992, 1993; Sandyk, & Kay, 1991, 1992). Diğerleri ise bunun doğal bir süreç olduğunu ve insanda şekillenen herhangi bir fizyopatolojik durum ile ilişkili olmadığını düşünmektedirler (Doyle, & Anderson, 2006). Son zamanlarda yapılan ek çalışmalar, epifiz bezi kireçlenmesinin gerçekten insanlarda melatonin üretimini azaltabileceğini ve nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma üzerinde doğrudan etkisi olduğunu göstermektedir (Friedland, Luxenberg, & Koss, 1990; Kay, & Sandyk, 1991; Turgut ve ark., 2008).

2.2. Epifiz Bezi Kalsifikasyonu (PGC), Melatonin Üretimi, Nörodejeneratif Hastalıklar ve Yaşlanma

Epifiz bezi kireçlenmesi (diğer adları; beyin kumu, psammoma cisimcikleri ve epifiz birikintileri) insanlarda en erken 1653 yılında gözlemlenmiştir. Epifiz bezi kireçlenmesinin varlığı, insan, öküz, koyun, at, eşek, maymun, inek, çöl faresi, sıçan, kobay, tavuk ve hindi gibi geniş bir tür yelpazesinde tanımlanmıştır (Tan, Xu, Zhou, & Reiter, 2018). Bu nedenle, epifiz kalsiyum metabolizması ve epifiz bezi kireçlenmesi türler arasında yaygın bir fenomendir. Bu oran yaşlanmayla birlikte artar ve bazı türlerde epifiz bezi kireçlenme oranları yaşla birlikte %100'e kadar yükselebilir (Japha, Eder, & Goldsmith, 1976; Przybylska-Gornowicz, Lewczuk, Prusik, & Bulc, 2009). İronik olarak, kireçlenme aynı zamanda yeni doğan insanlarda da olduğu gözlemlenmiştir (Maslinska, Laure-Kamionowska, Deręgowski, & Maslinski, 2010; Winkler, & Heimke, 1987). Sonuç olarak, bazıları epifiz bezi kireçlenmesinin fizyolojik bir süreç olabileceğini ve patolojik veya yaşlanma değişiklikleriyle ilişkili olmadığını düşünmektedir. Bazı araştırmacılar ise, bu kireçlenme durumunun epifiz bezinin kendi metabolik aktivitesiyle ilişkili olabileciğini savunmuşlardır. Çöl faresi deneylerinde, epifiz bezi işlevini tamamen durdurduğuna inanılan üst servikal ganglionektomi ile epifiz bezinde kalsiyum birikintileri engellenmiştir (Champney, Joshi, Vaughan, & Reiter, 1985; Reiter, Welsh, & Vaughan, 1976). Kısa fotoperiyoda maruz kalan çöl fareleri, uzun fotoperiyoda maruz kalanlara göre belirgin bir şekilde daha yüksek miktarda epifiz kireç birikimi sergilemiştir. Ayrıca, çift taraflı optik enükleasyona (gözün çıkarılması) sahip çöl farelerinde epifiz bezi kireçlenmesi artmıştır. Bu durumda, hayvanlar tamamen fotoperiyodik etkiden yoksundur ve daha fazla melatonin üretilir. Bu kanıtlar, epifiz bezi kireçlenmesinin metabolik teorisini desteklemiştir (Tan ve ark. 2018).

Ancak, büyük miktarda kanıt, epifiz bezi kireçlenmesinin insanlarda patolojik bozukluklar ve yaşlanma ile ilişkili olduğunu göstermektedir. On yıllar önce yapılan birçok çalışma, epifiz bezi kireçlenmesi ile şizofreni arasındaki ilişkiyi vurgulamaktadır (Sandyk, & Kay, 1992; Sandyk, 1990a, 1990b; Sandyk, & Kay, 1991). Diğer hastalıklar arasında, hipertansiyon ile ilişkili böbrek hastalığı nedeniyle hayatını kaybedenlerin epifiz bezlerinde yüksek oranda kalsiyum içeriği tespit edilmiştir (Hinterberger, & Pickering, 1976). Güncel çalışmalarda epifiz bezi

kireçlenmesi ve nödodejeneratif hastalıklar arasında güçlü bir ilişki olduğu rapor edilmiştir, özellikle epifiz bezi kireçlenmesi ile Alzheimer hastalığı ilişkilendirilmektedir (Mahlberg ve ark., 2008). Bu ilişki, bu bez tarafından sentezlenen melatonin seviyeleri ile bağlantılıdır. Melatonin'in güçlü antioksidan işlevi ve antiinflamatuar aktivitesi ile bir sinir koruyucu olduğu iyi bilinmektedir (Berkiks ve ark., 2017; Leeboonngam, Pramong, Saeung, Govitrapong, & Pujito, 2017; Liu ve ark., 2017; Reiter ve ark., 2016; Wang ve ark., 2017). Beyin, lipit açısından oldukça zengin, antioksidatif enzimlerin sentezi (katalaz gibi) bakımından eksiktir ve büyük miktarda oksijen tüketir. Tüm bu durumlar, beyni diğer organlara göre oksidatif stres açısından daha savunmasız hale getirir. Endojen melatonin seviyesinin azalması, nöronların oksidatif stres veya beyin iltihabına daha az dirençli hale gelmesine neden olacaktır. Birçok çalışma, Alzheimer hastalığı ile serum ve/veya beyin omurilik sıvısı (BOS) melatonin seviyeleri arasındaki olumsuz ilişkiyi bildirmiştir (Liu, Zhou, Heerikhuize, Hofman, & Swaab, 1999; Zhou, Liu, Kamphorst, Hofman, & Swaab, 2003). Mekanistik araştırmalar, melatoninin antioksidan ve antiinflamatuar etkilerinin yanı sıra, Alzheimer hastalığının (AD) en önemli belirteçlerinden biri olan amiloid protein salınımını ve birikimini doğrudan inhibe ettiğini ortaya çıkardı (Lahiri, 1999; Pappolla ve ark., 1998). Aynı zamanda melatonin, AD'nin başka bir biyobelirteci olan tau proteininin aşırı fosforilasyonunu baskılayarak, hücre içi nörofibrilleri azalttığı bilinmektedir (Deng, Xu, Duan, Zhang, & Wang, 2005; Li, Wang, Zhang, Wang, & Wang 2005; Wang ve ark., 2005).

Yaşlanma ile melatonin üretimi arasındaki ilişkiye bakacak olursak, çoğu omurgalıda melatonin sentezinin yaşlanma ile beraber azaldığı görülmektedir. Bu durumun öne çıkan iki sebebi vardır. Bunlardan ilki, yaşlanma sırasında melatonin sentetik kapasitesi, epifiz bezindeki β-adrenerjik reseptör yoğunluğunun azalması nedeniyle zayıflar (Dax, & Sugden, 1988; Henden ve ark., 1992) ve dolayısıyla arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) gen ekspresyonu ve fosforilasyonu baskılanır (Paltsev ve ark., 2016). İkinci neden ise melatonin tüketiminin artmasıdır. Bu durum, yaşlanma ile birlilte metabolizmada oluşan değişikliklere bağlıdır. Örneğin, yaşlı hücrelerde genç hücrelere göre daha fazla reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir ve yaşlanan organizmalarda aşırı üretilen ROS'ları nötralize etmek için, özellikle merkezi sinir sisteminde, endojen antioksidan olarak melatonin kullanılır. Her iki etki de

omurgalılarda yaşlanma sürecinde melatonin seviyelerinin azalmasına neden olabilir. Ayrıca, düşük melatonin seviyeleri yaşlanmanın bir biyobelirteci olarak kabul edilmektedir (Brazao ve ark., 2017; Obayashi, Saeki, & Kurumatani, 2014; Sharma ve ark., 1989). Sıçanlarda pinealektomi ile epifiz kaynaklı melatonin üretimi ortadan kaldırıldığında, oksidatif hasar görmüş ürünlerin birikimi yaşlanma süreçlerini hızlandırmaktadır (Reiter ve ark., 1999). Buna karşılık, genç epifiz bezleri yaşlı hayvanlara nakledildiğinde veya dışarıdan melatonin takviyesi yapıldığında, deney hayvanlarının yaşam sürelerinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Pierpaoli, & Regelson, 1994).

PGC, genellikle düşük melatonin seviyeleri ve Alzheimer, MS gibi nörodejeneratif hastalıklar, migren, semptomatik intraserebral kanama, semptomatik serebral infarkt, uyku bozuklukları, yön duygusunun eksikliği ve pediatrik primer beyin tümörü gibi çeşitli patolojik değişikliklerle ilişkilendirilir (Daramola, & Olowu, 1972; Kitkhuandee, Sawanyawisuth, Johns, Kanpittaya, & Johns, 2014; Kunz, Bes, Schlattmann, & Herrmann, 1998; Mahlberg ve ark., 2008; Sandyk, & Pardeshi, 1990; Sandyk, & Kay, 1992; Tuntapakul, Kitkhuandee, Kanpittaya, Johns, & Johns, 2016). İlginç bir şekilde, PGC genellikle beyinle ilgili bozukluklarla ilişkilendirilirken, tüm dokulara destek veren kanda düşük melatonin seviyeleri tespit edilse bile, diğer organ patofizyolojileriyle pek az ilişkilendirilir. Bu gözlem, epifiz bezinden doğrudan beyin omurilik sıvısına yüksek düzeyde salınan melatoninin biyolojik sirkadiyen ritimi düzenlediğini ve nöronal antioksidan olarak hizmet ettiği hipotezini daha da desteklemektedir (Reiter, Tan, Kim, & Cruz, 2014; Tan, Manchester, & Reiter, 2016).

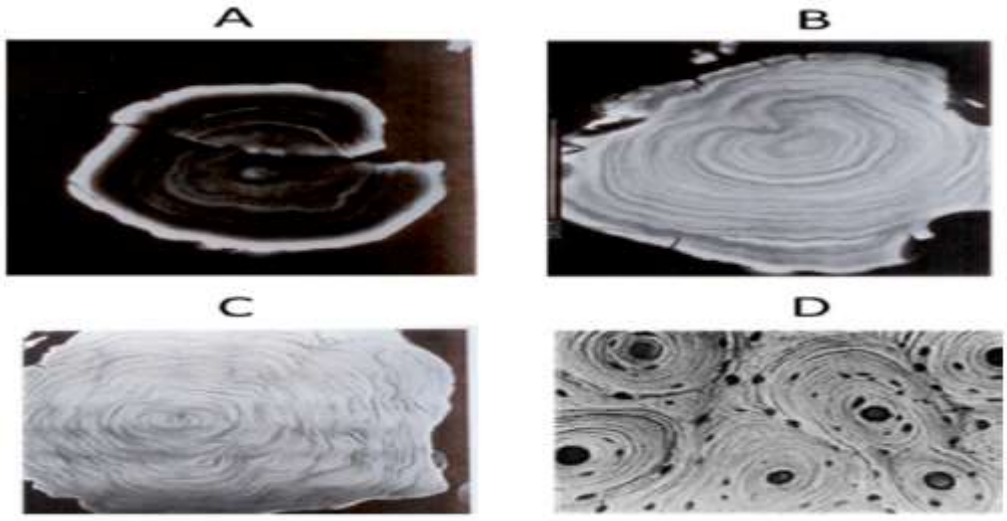
2.3. PGC Oluşumu İçin Potansiyel Mekanizmalar

PGC, omurgalılarda yaygın bir durum olmasına rağmen, önemi göz ardı edilmiş ve bu önemli konuya yıllardır gereken ilgi gösterilmemiştir. Günümüze kadar, kesin oluşum süreçleri ve mekanizmaları hakkında pek bilgi bulunmamaktadır. Bugüne kadar elde ettiğimiz bilgilere göre, PGC'nin iki kökeni vardır; pinealositler ve pinealosit dışı hücreler. Pinealoist dışı hücrelere bağlı kireçlenme kökenlerine bakacak olursak, bazı çalışmalar, bazen PGC'nin yalnızca bağ dokusuyla sınırlı olduğunu ve kireçli birikintilerin bezin bağ doku stroması içinde oluştuğunu göstermektedir (Tan ve ark., 2018). Bu birikintiler, bağ dokusu içinde yaşlanma ile ilişkili kalsiyum birikimini temsil eder. Bu tür kireçlenme, habenüler komissür ve koroid pleksusta

bulunanla benzerdir (Macpherson, & Matheson, 1979). Bağ dokusu kaynaklı PGC, sıçan ve Pirbright beyaz kobayında yaygındır (Jung, & Vollrath, 1982; Diehl, 1978). Bunlara ek olarak, insan epifiz bezi örneklerinin analizinde Maslinska ve arkadaşları, PGC'nin başlatılmasının triptaz içeren mast hücreleriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir. Sistemik veya lokal patolojik koşullarda, triptaz içeren mast hücreleri epifiz bezi içine sızarlar ve triptaz gibi biyolojik olarak aktif maddeler salarlar. Epifz bezi içine salınan triptaz maddesi de kalsifikasyona katılır. Bu süreç, yaşla ilgili değil patolojiktir çünkü çocuklarda da meydana gelir (Maslinska ve ark., 2010).

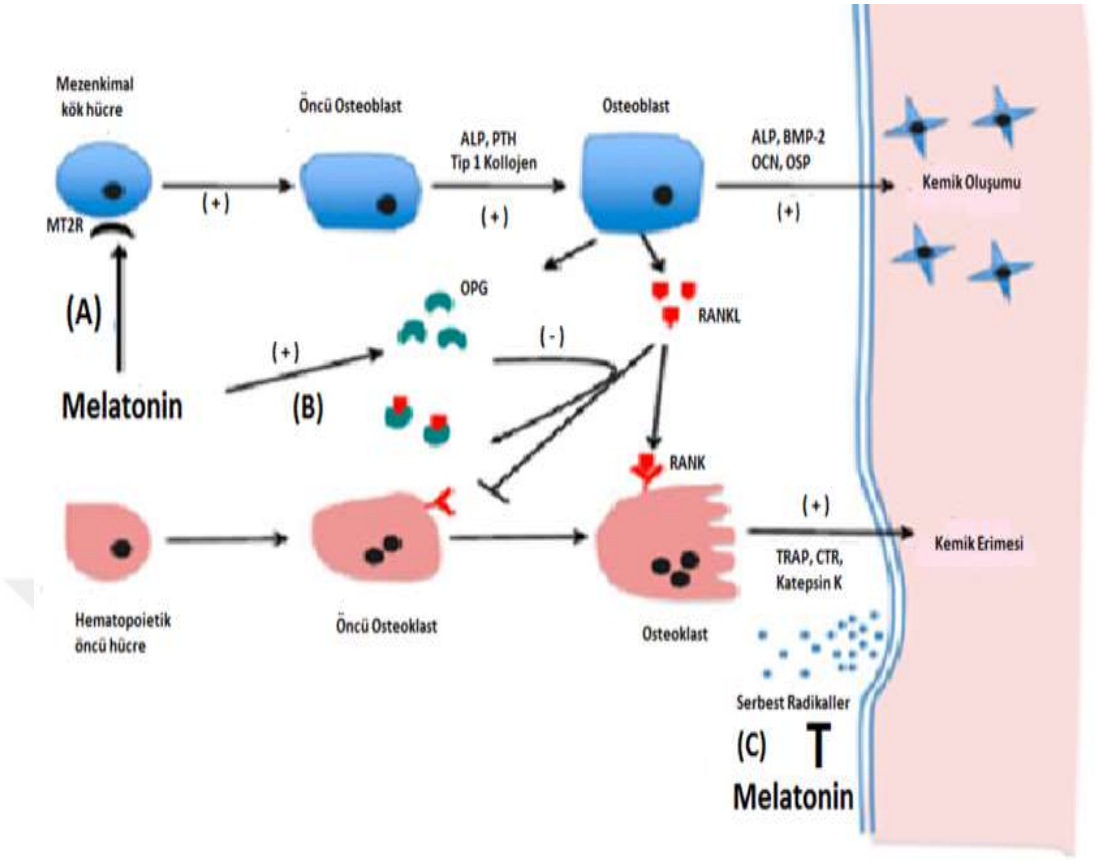
Pinealosit kökenli PGC'ye gelince, iki kuramdan bahsedilmektedir. Bunlardan biri Lukaszyk ve Reiter tarafından önerilmiştir (Lukaszyk, & Reiter, 1975; Pavel, & Patreski, 1966). Pinealositler hücre dışı alana salgılayacakları polipeptitleri, kendi hipotetik taşıyıcı proteinleri olan nörofizin ile birleştirerek hücre dışı alana yaydığını bildirmektedirler. Ekzositotoik mikroveziküllerde bulunan epifiz polipeptidleri aktif olarak kalsiyumla yer değiştirirler. Daha sonra kalsiyum-taşıyıcı kompleksi oluşur ve komşu kireçlenmelerin yüzeyinde birikir. Bu nedenle, kireçlenme oluşumu epifiz bezinin salgı fonksiyonu ile de ilişkilidir. Örneğin, çöl faresinde üst servikal gangliyonektomi sonrası PGC tamamen inhibe edilir; bu, bezin işlevsel aktivitesindeki azalmaya bağlanmıştır (Reiter, Welsh, & Vaughan, 1976). Ancak, bu pinealositlerin hücre içi kireçlenmesini açıklamaz. Kristic pinealosit kaynaklı PGC'yi açıklamak için başka bir mekanizma önermektedir. Pinealositlerin sitoplazmik matriksi, vaküoller, mitokondriler ve endoplazmik retikulumunun başlangıçta hücre içi kireçlenme bölgeleri olduğunu öne sürmektedir. Bu bölgeler, özellikle sitoplazmik matriks içindeki yerler, hidroksiapatit kristallerinin daha fazla eklenmesi ile acervuli'ye dönüşmektedir. Bu hücreler yavaşça dejenerasyona uğramakta, ölmekte, parçalanmakta ve acervuli hücre dışı boşluğa ulaşmaktadır. Hücre içi kalsiyum seviyelerinin yükselmesinin nedeni, kalsiyum ATPaz (Ca2+-ATPaz) bu katyonu hücreden uzaklaştırama kapasitesindeki yetersizlikten kaynaklı olabilir; böylece hiperkalsemik hücre içi ortam, kristallenmenin başlaması için uygun hale gelmektedir. Ca2+-ATPaz'ın başarısızlığı, yaşlanmanın veya patolojik koşulların doğal bir süreci olabilir (Krstic, 1986). Dolayısıyla, PGC normal koşullardan ziyade omurgalılarda değişmiş moleküler süreçlerin sonucunda meydana gelmektedir. Ancak, bu kuramlar PGC oluşumunun mekanizmalarını tamamen açıklayamaz. Burada, önceki önerileri

tamamlayan bir ek spekülasyon daha bulunmaktadır. Görünüşe göre PGC bazı durumlarda pasif bir süreçten ziyade aktif bir süreçtir. Daha önce, epifiz bezinin damar yapısının ve kan akış hızının böbreğe benzer olduğu, epifiz bezinin böbrek gibi kan filtrasyon işlevine sahip olabileceği hipotez olarak öne sürülmüştür (Tan, Manchester, & Reiter, 2016). Peki, bu iki organ aarsında kireçlenme yönünden benzerlik var mıdır? Epifiz bezi kireçlenmelerinin bileşiminin böbrek taşıyla tamamen farklı olduğu belgelenmiştir. Böbrek taşlarının yapısı genellikle kalsiyum oksalattan oluşur ve oluşumu basitçe yüksek kalsiyum ve oksalat seviyelerinden kaynaklanır (Khan ve ark., 2016). PGC'nin temel bileşeni hidroksiapatittir [Ca10(PO4)6(OH)2] ve bu madde omurgalılarda kemiklerin başlıca yapısal unsurudur (Galliani, Falcieri, Giangaspero, Valdre, & Mongiorgi, 1990; Krstic, 1986). Pineal kireçlenmelerdeki kalsiyum/fosfor (Ca/P) oranı, dişin mine ve dentin tabakasındaki gibidir. Bocchi ve Valdre, pineal kireçlenmelerinin inorganik içeriği ve kristalografik özellikleri, mine ve dentin arasında özellikler taşıyan daha çok patolojik kemikleşme yerine fizyolojik bir kemikleşme türüne işaret ettiklerini belirtmişlerdir (Bocchi, & Valdre, 1993). Kemikte hidroksiapatitin nasıl oluştuğu çok net olmasa da, oluşumunun kemik hücrelerinin işbirliği ve programlanmış bir süreçle gerçekleştiğinden şüphe yoktur. Ayrıca, komapakt kemiğin ana birimi olan osteonlara yapısal olarak benzeyen katmanlı epifiz kireçlenmesi sıklıkla gözlemlenir (Vigh ve ark., 1998; Schmid, & Raykhtsaum, 1995). (Şekil1).



Şekil 1. Farklı yaşlardaki lamine pineal bez kireçlenmesi ve yoğun kemik osteonlarına benzerliği. (A) 14 yaşındaki bireyin epifiz bezinde kireçlenme; (B) 47 yaşındaki; (C) 62 yaşındaki; (D) osteonlar (Schmid, & Raykhtsaum, 1995).

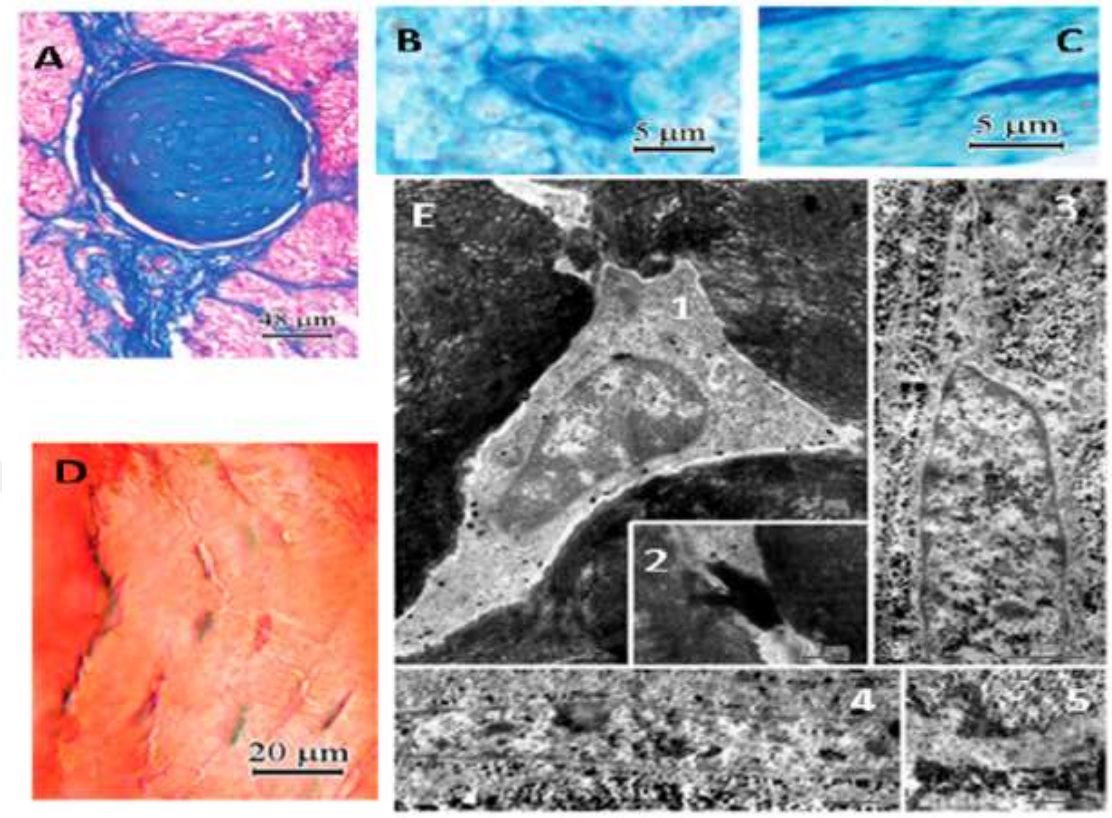
Lamine pineal taşı, oluşumunun rastgele değil, düzenli ve programlı olduğunu gösterir. Örneğin, insanlarda lamine pineal taşları yaşlanmayla ilişkilidir. Birey ne kadar yaşlı ise, o kadar fazla tabaka bulunur (Şekil 1) (Schmid, & Raykhtsaum, 1995). Bir hipoteze göre, epifiz bezinin kireçlenmesi en azından kısmen, kemik oluşumuna benzer olabilir; yani epifiz kalsiyum birikimi, belirli koşullar altında farklılaşmış kemik hücreleri tarafından oluşturulabilir. Son zamanlarda, pek çok çalışma, melatoninin mezenkimal kök hücrelerinin (MKH) in vivo veya in vitro koşullarda osteoblast benzeri hücrelere farklılaşma yeteneğini kolaylaştırdığını rapor etmiştir (Chu ve ark., 2017; Maria ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2012;). Mezenkimal hücreler, kuşlarda ve sıçanlarda epifiz gelişiminin erken aşamasında bulunurlar (Calvo, & Boya, 1981; Shimauchi, Yahata, Matsubara, & Araki, 2002). Bu hücreler, bezin gelişimi sırasında ve sonrasında epifiz bezinin foliküler oluşumunda önemli bir rol oynarlar. Ayrıca, domuz ve sıçan epifiz bezinde çizgili kas liflerinin bulunduğu belgelenmiştir. Bu çizgili kas lifleri, ektodermal kökenli olmaktan ziyade mezenkimal kökenlidir (Diehl, 1978; Hayano, Sung, Mastri, & Hill, 1976). Bu gözlemler, MKH'lerin epifiz bezinde bulunduğunu ve kas hücrelerinin yanı sıra muhtemelen osteoblastlar ve hatta osteositler gibi farklı hücre tiplerine farklılaşma kapasitesine sahip olduklarını göstermektedir. Epifiz bezindeki MKH'ler, erken embriyonik döneminden kalma mezenkimal doku kökenli olabilirler ve/veya damar kökenli olabilirler. MKH'lerin osteoblastlara/osteositlere farklılaşması, melatonine bağımlı gibi görünmektedir. Bu geçişin sinyal iletim yolu muhtemelen melatonin membran reseptörü 2 (MT2) aracılığıyla gerçekleşir (Diehl, 1978). Detaylı mekanizma Maria ve Witt-Enderby tarafından gösterilmiştir. Basitçe, melatonin, MKH'lerde bulunan MT2'ye bağlanarak onları pre-osteoblastlara farklılaşmaya teşvik eder. Aynı zamanda melatonin, paratiroid hormonu (PTH), tip I kollajen ve alkalen fosfataz (ALP) seviyelerini artırır; bu faktörler pre-osteoblastların osteoblastlara dönüşmesini daha da teşvik eder. Son olarak, melatonin osteopontin (OSP), kemik morfojenetik protein 2 (BMP-2), osteokalsin (OCN) ve ALP gen ekspresyonunu artırır ve osteoblast proliferasyonunu, osteosit oluşumunu, mineralizasyonu ve kemik oluşumunu kolaylaştırır (Maria, & Witt-Enderby, 2014). (Şekil 2).



Şekil 2. Melatonin'in kemik oluşumu üzerindeki etkilerinin önerilen mekanizmaları. (A) Melatonin, MT2 aracılığıyla MKH'lerin osteoblastlara farklılaşmasını indükler; (B) preosteoblastlarda osteoprotegerin (OPG) ifadesini teşvik eder, bu da RANKL'yi etkisiz hale getirerek osteoklastogenezin baskılanmasına yol açar; ve (C) melatonin'in serbest radikal temizleme ve antioksidan özellikleri aracılığıyla, osteoblast ve osteoklast kaybını radikal kaynaklı olarak korur. PTH (paratiroid hormonu); OSP (osteopontin); BMP-2 (kemik morfojenetik protein 2); ALP (alkalen fosfataz); OCN (osteokalsin); TRAP (tartarat dirençli asit fosfataz); RANKL (NFκB ligandının reseptör aktivatörü); OPG (osteoprotegerin) (Maria, & Witt-Enderby, 2014).

MT2, moleküler teknikler ve klasik farmakoloji kullanılarak MKH'lerde tanımlanmıştır (Lee, Jung, Oh, Yun, & Han, 2014; Radio, Doctor, & Witt-Enderby 2006). Farelerde MT2'nin transgenik olarak deaktive edilmesi, osteoblast proliferasyonunu ve kemik oluşumunu engellemiştir (Sharan, Lewis, Furukawa, & Yadav, 2017). Bu durum, epifiz bezinin, içinde MKH'leri içeren bir yolakla kemik benzeri yapı (kalsifikasyon) oluşturma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu sürecin tetikleyeni, epifiz bezi tarafından üretilen yüksek melatonin seviyeleridir. Kuşlarda PGC süreci, kemik oluşumunu hatırlatan bir yapıya benzer ve bu durum epifiz bezi kireçlenmesinin kemik oluşumuna benzediği hipotezini güçlü bir şekilde destekler. Bu sürecin gerçekleşmesi için kollajen fibrilleri, fosfat ve kalsiyum gibi bir mikroçevre gereklidir. Osteosit benzeri hücreler epifiz bezi kireçlenmesinin

merkezinde bulunurken, çevresel bölüm osteoblast benzeri hücreleri ve yoğun paketlenmiş kollajen fibrillerini içerir (Przybylska-Gornowicz ve ark., 2009) (Şekil 3).



Şekil 3. Hindi pineal bezi kireçlenmesinde bulunan hücrelerin histolojisi ve ultra yapısı. (A) Mallory boya ile belirlenen olgun kalsiyum birikintileri. Birikinti içinde iki tür hücre bulunmaktadır (toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesit); (B) çokgen hücreler; (C) uzun hücreler; (D) Birikintilerde kalsiyumun varlığı Alizarin kırmızı S ile gösterilmiştir; birikinti içinde bulunan hücrelerin karakteristik görünümüne dikkat edin; (E) Kalsifiye bölgede bulunan hücrelerin ultra yapısı (PPA yöntemi ile sabitleme). 1: merkezi kalsifikasyon bölgesinde mineralize kollajen fibrillerle çevrili osteosit benzeri hücre. Hücre etrafında "hale" görünümü ve büyük ölçüde hücre zarının dışında yer alan piroyantoimonat çökeltileri dikkat çeker, 2: osteosit benzeri hücre süreçlerinin birleşim yeri, 3: kalsifikasyon bölgesinin çevresel kısmında fibrosit benzeri görünüm gösteren bir hücre. Kollajen ve kalsiyum çökeltileri içeren hücre dışı matrikse dikkat edin, 4: kalsifikasyon bölgesinin çevresel kısmında hücreler arası boşluklarda çok sayıda kalsiyum çökeltileri, 5: birikintinin orta bölümünde dağınık çökeltilere sahip hücre süreci. Bitişik kollajen ve piroyantoimonat çökeltileri zengin hücre dışı matriks dikkat çeker (Przybylska-Gornowicz ve ark., 2009).

Tan ve arkadaşları mevcut bilgilere dayanarak, "osteosit benzeri hücreler" ve "osteoblast benzeri hücrelerin", epifiz bezindeki MKH'lerden melatoninin etkisi altında farklılaşan osteositler ve osteoblastlar olduğunu öne sürdüler. Eğer epifiz bezi mikroçevresi PGC oluşumunu kolaylaştırıyorsa, neden PGC genellikle yaşlanma ve bazı patolojik durumlarla ilişkilendirilir? Şu an için bu soruyu kesin olarak cevaplayamasakta, PGC'nin yaşlanma/patoloji ile ilişkisini gösteren bazı ipuçları bulunabilir (Tan ve ark., 2018):

1- Kronik damar inflamasyonu: Epifiz bezi, bol miktarda arter, gözenekli kapillerler ve venlerle karmaşık bir damar sistemine sahiptir. Özellikle epifiz bezindeki kan filtrasyon hızı böbreğinkinin çok gerisinde olmasına karşın diğer organlardakinden fazladır. Bunlar, yaşlanma veya belirli hastalıklar sırasında bezin kronik damar iltihabına duyarlı hale gelmesine neden olur. Vasküler inflamasyon, bez içindeki MKH'lerin göçünü ve adezyonunu harekete geçirir veya pro-inflamatuar sitokinlerin (TGF-β (Dönüşen büyüme faktörü beta) veya TNF-α (Tümör nekroz faktör alfa) gibi) artan seviyeleri nedeniyle de novo olarak MKH'lerin proliferasyonunu teşvik eder. Vasküler MKH'ler ile inflamatuar mediatörler arasındaki etkileşim, özellikle interleukin-22, yüksek seviyelerdeki epifizyal melatoninin etkisi altında MKH'lerin proliferasyonuna, göçüne ve osteojenik farklılaşmasına yol açar ve sonunda PGC oluşumuna neden olur (Ciavarella ve ark., 2017; El-Zayadi ve ark., 2017).
2- Beyin dokusu hipoksisi: Hipertansiyon, uyku apnesi, inme ve hatta solunum bozuklukları gibi birçok patolojik durum beyin dokusu hipoksisine neden olabilir. Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1α ((HIF)-1α), hipoksik bölgelerdeki MKH'lerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve adezyonunu teşvik eden önemli bir düzenleyicidir (Ciria ve ark., 2017; Lee, Yoon, & Lee, 2017; Li ve ark., 2017). Genel olarak hipoksi, kemik rezorpsiyonunu artırırken osteoblastik farklılaşmayı ve kemik oluşumunu baskılar (Zhang ve ark., 2017; Knowles, 2015). Ancak, bu durum epifiz bezi için geçerli olmayabilir. Karanlık fazda, epifiz bezinde yüksek seviyelerde melatonin üretilir. Hipoksik koşullar altında melatonin, p38 mitojenle aktive olan protein kinazlar (p38 MAPK) ve protein kinaz D1 (PRKD1) sinyal yollakları aracılığıyla MKH'lerin osteoblastlara farklılaşmasını ve mineralizasyonunu teşvik edebilir. (Son ve ark., 2014). Ayrıca, melatonin osteoklast aktivitesini ve osteoklastogenezi de inhibe eder (Kim, Kim, Bae, & Kim, 2017; Zhou ve ark., 2017) ve özellikle inflamatuar koşullar altında bu inhibisyon etkisi artar (Ping ve ark., 2017).
3- İntrakraniyal basınç: İntrakraniyal basınç genellikle idiyopatik intrakraniyal hipertansiyon, beyin travması ve inme gibi serebral hastalıklarla beraber arttığı gibi (Levine, Hanson, & Nickles, 1994), Alzheimer hastalığı gibi durumlarda da artabilir (Wostyn, Audenaert, & De Deyn, 2008). Yüksek basınç, epifiz

filtrasyon oranını bozabilir ve kronik inflamasyon yoluyla endoepitelyal hücre hasarına neden olabilir. Basınç aynı zamanda kemik yenilenmesini ve mineralleşmeyi teşvik eder, böylece PGC oluşumunu destekler (Tan ve ark., 2018).

2.4. Melatonin

Melatonin, ilk kez 1958 yılında, kurbağanın koyu renkli derisinde pigment hücrelerindeki melatonin granüllerinin kümeleşmesi ve böylece derinin rengini açması etkisi ile gözlemlenen, epifiz bezi kaynaklı bir molekül olarak tanımlanmıştır. Ancak, daha sonraki çalışmalar memelilerde melatoninin pigment üzerinde aynı etkiye sahip olmadığını ortaya koymuştur (Lerner, 1961).

Melatonin özellikle geceleri epifiz bezinden salgılanan bir hormondur. Karanlıkta en yüksek seviyelere ulaşan melatonin düzeyleri yaşla ve çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Melatonin uyku-uyanıklık döngüsünün, ergenlik gelişiminin ve mevsimsel adaptasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Melatonin, hafıza ile ilişkilidir ve aynı zamanda, vücut duruşunun ve denge kontrolünün düzenlenmesine katkı sağladığı gösterilmiştir (Pandi-Perumal ve ark., 2008). Melatonin, hipokampal nöronları doğrudan etkileyerek hafıza oluşumunu düzenler (Comai, & Gobbi, 2014). Melatoninin antinosiseptik, antidepresan, anksiyolitik, antineofobik (yeni şeylerden korkma) ve lokomotor aktivite düzenleyici etkileri vardır (Uz ve ark., 2005). Melatoninin sinir koruyucu, anti-inflamatuar, ağrı düzenleyici, kan basıncını düşürücü, retinal, vasküler, mevsimsel üreme, over fizyolojisi, osteoblast farklılaşması, anti-tümör ve antioksidan etkileri bulunmaktadır (Comai, & Gobbi, 2014; Li ve ark., 2013).

Dopaminerjik sistem, davranış ve ödüllendirme için önemlidir ve aynı zamanda kokain gibi madde bağımlılığı durumlarında da rol oynar. Melatonin ise dopamin salınımını baskılar (Uz ve ark., 2005). Mesolimbik dopaminerjik sisteminde melatonin reseptörü ile ilişkili siklik AMP (cAMP) artışı, melatoninin bağımlılık davranışlarının düzenlenmesinde etkisinin olabileceğini gösterir (Pandi-Perumal ve ark., 2008). Melatonin, dopamin bağımlılığı ile ilişkili olan davranış bozukluklarını düzeltebilir ve kokaini bırakmanın yaratacağı zorlukları hafifletebilir (Uz ve ark., 2005). Melatoninin diğer etkileri arasında hipotalamus ve retina üzerindeki dopamin salınımının inhibisyonu yer alır (Pandi-Perumal ve ark., 2008). Ayrıca, melatoninin

anti-eksitatör etkileri, muhtemelen antioksidan etkisinin bir sonucudur (Bondy, & Sharman, 2007). Farmakolojik dozlarda çocuklara uygulandığında, epileptiform aktivitenin şiddeti ve sıklığında azalma meydana gelir (Fauteck, Schmidt, Lerchl, Kurlemann, & Wittkowski, 1999).

Yüksek melatonin seviyesi, adet düzensizlikleri, oligospermi ve gecikmiş ergenlikle ilişkilendirilmiştir (Genell, 2002). Melatonin, hipotalamik nöronlardan gonadotropin-salgılatıcı hormonun (GnRH) sekresyonunu düzenler. GnRH, luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormonun (FSH) üretimini kontrol eder. Melatonin granüloza hücrelerinden progesteron salınımını uyarır (Dubocovich, Rivera-Bermudez, Gerdin, & Masana, 2003). Melatonin ayrıca östrojen reseptörünün ekpresyonunu baskılar ve östrojen aktivasyonunu engeller (Carlberg, 2006).

Melatonin uygulamasıyla iyileştiği rapor edilen bazı nörolojik hastalıklar şunlardır: Parkinsonizm (Thomas, & Mohanakumar, 2004), Alzheimer (Srinivasan, Pandi-Perumal, Cardinali, Poeggeler, & Hardeland, 2006), beyin ödemi ve travmatik beyin yaralanması (Denghan, Hadad, Asadikram, Najafipour, & Shahrokhi, 2013), alkol bağımlılığı (Baydas, Yasar, & Tuzcu, 2005), depresyon (Weil, Hotchkiss, Gatien, Pieke-Dahl, & Nelson, 2006), serebral iskemi (Lee ve ark., 2005), hiperhomosisteinüri (Baydas, Özer, Yasar, Tuzcu, & Koz, 2005), glioma (Martin ve ark., 2006), fenilketonüri (Martinez-Cruz, Osuna, & Guerrero, 2006).

Endojen melatonin üretiminin değişkenlik gösterdiği bozukluklar aşağıdaki gibidir; Uyku bozuklukları, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, glokom, depresyon, meme kanseri, prostat kanseri, hepatoma, melanom, konjestif kalp yetmezliği, kardiyak sendrom X ve sepsis (Ekmekcioglu, 2006; Pandi-Perumal ve ark., 2008). Melatonin üretimi yaşlanma, çeşitli kanser türleri, Alzheimer hastalığı, senil demans ve pineal kalsifikasyon gibi durumlarla azalır (Kunz ve ark., 1999). Melatonin düzeyinin azaldığı diğer bozukluklar arasında stres, ağrı, endokrin ve metabolik bozukluklar, özellikle tip 2 diyabet ve akut aralıklı porfiriya yer alır (Emet ve ark., 2016).

2.5. Melatonin Sentezi ve Salgısı

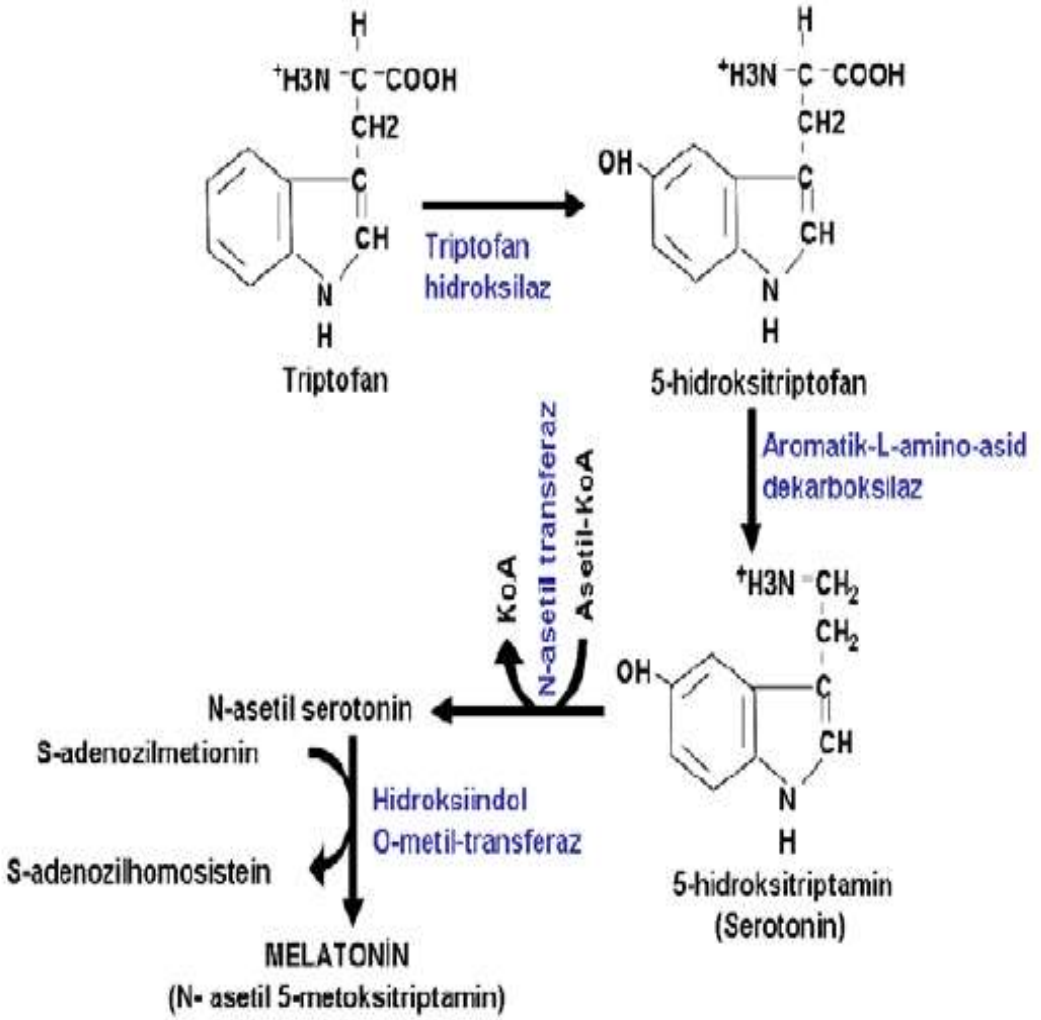
Epifiz bezinde bulunan pinealositler ışığa duyarlı hücrelerdir ve böylece melatonin sentez ve salınımı ışıkla beraber düzenlenir. Işık pineaolsitlerde melatonin sentezini inhibe eder ve karanlıkta ışık inhibisyonu ortadan kalktığı için pinealositlerin

melatonin salgılaması yeniden artar. Özellikle gece saatleri, yaklaşık olarak 23:00 ile 05:00 arasında, melatonin salgılaması en üst düzeye ulaşır ve kandaki melatonin konsantrasyonu 3 ila 10 katına kadar yükselir (Çam, & Erdoğan, 2003). Melatonin salınımı belirli bir biyolojik ritme sahiptir. Bu ritim, akşam saatlerinde, yaklaşık olarak 21.00-22.00 civarında artmaya başlar ve gece saatlerinde, özellikle 02.00-04.00 arasında en yüksek seviyeye ulaşır. Sabah saatlerinde, yaklaşık olarak 05.00-07.00 civarında azalmaya başlar ve 07.00'den sonra bazal seviyelere düşer. Melatonin dolaşımdaki seviyesi, sabah saatlerinde ortalama olarak 0-20 pg/dl düzeylerindeyken, gece saatlerinde 50-200 pg/dl düzeylerine yükselir. Bir gece boyunca yaklaşık olarak 30 mg melatonin sentezlenir (Claustrat, Brun, & Chazot, 2005; Çam, & Erdoğan, 2003; Mollaoğlu, & Özgüner, 2005).

Melatonin, esansiyel bir aminoasit olan triptofandan sentezlenen bir indol bileşiğidir. Metabolizması çoğunlukla karaciğer tarafından gerçekleştirilir. Karaciğerde metabolize olan melatonin, 6-hidroksi-melatonine dönüştürülür ve bu bileşen daha sonra idrar yoluyla atılır. Özellikle çocuklarda, epifiz bezi işlevlerinin değerlendirilmesinde bu idrar bileşiği kullanılmaktadır. Bu, melatonin seviyelerini izlemek ve epifiz bezi fonksiyonunu değerlendirmek için araç olarak kullanılan bir yöntemdir (Webb, & Domingo, 1995). Vücuttaki melatoninin temel kaynağı epifiz bezi olmasına rağmen diğer bazı organlarda da melatonin sentezi gerçekleşir. Epifiz bezi, vücudun melatonin üretiminde önemli bir rol oynar ve kan dolaşımındaki melatonin miktarının yaklaşık %80'ini sentezler (Özçelik, Erdem, Bolu, & Gülsün, 2013). Melatonin sentezi için gerekli olan hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimi, sadece epifiz bezinde değil, aynı zamanda diğer vücut dokularında da bulunur. Bu durum, melatonin sentezinin sadece epifiz bezinde sınırlı olmadığını ve diğer dokularda da gerçekleşebileceğini göstermektedir. Bu dokular arasında Harder bezinin yanı sıra lakrimal bez, retina, eritrositler, trombositler ve bazı gastrointestinal sistem hücreleri yer alır. Ancak, bu dokuların ürettikleri melatonin miktarının kan dolaşımındaki toplam melatonin seviyesine katkısının çok küçük olduğu belirtilmektedir. Yani epifiz bezi, melatonin üretiminde başlıca kaynaktır ve vücuttaki diğer dokuların ürettiği melatonin miktarı genellikle göz ardı edilebilir derecededir. Bu nedenle melatonin düzeyleri çoğunlukla epifiz bezi tarafından üretilen melatonin

tarafından belirlenir (Bourne, & Mills, 2006; Cardinali, & Pevet, 1998; Özçelik ve ark., 2013).

Triptofan, melatonin sentezinin öncü maddesi olarak görev yapar. Epifiz bezi, bu aminoaisidi plazmadan alır. Triptofan, vücut için esansiyel aminoasitlerden birisidir, yani vücut tarafından üretilemez ve dışarıdan besinlerle alınması gereklidir. Pinealositlerde, triptofan, triptofan hidroksilaz adlı bir enzim tarafından önce 5-hidroksitriptofan'a dönüştürülür. Bu adım, nörotransmitter olarak bilinen serotoninin üretim yolu için ilk adımdır ve bu yoldaki hız kısıtlayıcı basamağı oluşturur. Bu reaksiyon sırasında triptofan hidroksilaz, tetrahidrobiopterin (BH4) ve oksijen (O2) gibi kofaktörleri kullanır. Ayrıca, B6 vitamini, bu reaksiyonun koenzimi olarak görev yapar (Rahman ve ark., 1982). Oluşan 5-hidroksitriptofan (5-HTP), vücutta serotonin ve melatonin gibi önemli moleküllerin sentezi için öncü bir ara metabolittir. Ayrıca, 5-HTP kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçebilir (Gomes, & Soares-da-Sİlva, 1999). 5-hidroksitriptofan molekülü L-aminoasit dekarboksilaz enzimi ile reaksiyona girerek karboksil grubunu kaybeder ve 5-hidroksitriptamin’e (serotonin) dönüşür. 5-hidrositriptamin kan-beyin bariyerini geçemez. Serotonin bir sonraki aşamada N-asetil transferaz (NAT) enzimi aracılığı ile asetillenerek N-asetilserotonin’e dönüşür. N-asetilserotonin, hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimi aracılığıyla melatonine dönüşür. Gece saatlerinde serotonin miktarının azalması ve bu süreçle birlikte melatonin sentezinin artması, serotoninin melatonine dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır (Cardinali, & Pevet, 1998; Palaoğlu, & Beşkonaklı, 1998; Touitou, 2001; Nowak, & Zawilska, 1998) (Şekil 4).



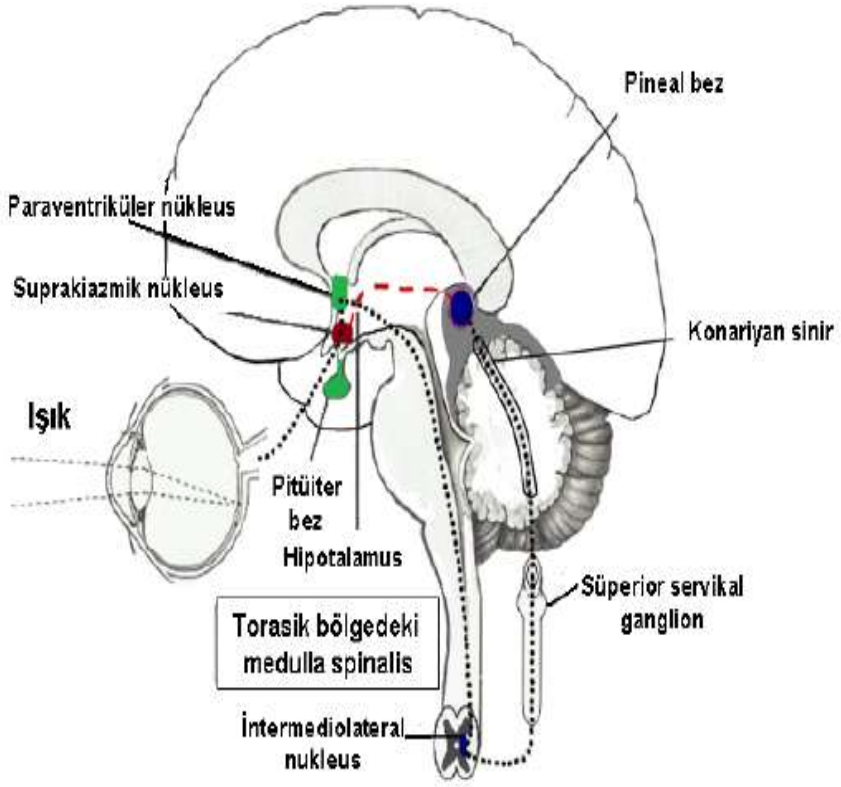
Şekil 4. Melatonin sentezi, ara basamakları ve görev alan enzimler (Cardinali, & Pevet, 1998).

NAT enzim aktivitesinin ve melatonin sentezinin karanlıkta pik yaptığı deneylerde gösterilmiştir. Bu saatler, epifiz bezinde norepinefrin aktivitesinin ve bezi innerve eden sempatik sinir liflerinin uyarımının üst düzeyde olduğu saatlerdir. Işık etkisi altında sempatik uyarım baskılanır ve bunun sonucu olarak NAT enzim aktivitesi ve melatonin sentezi azalır (Özgüner, Özcankaya, Delibaş, Koyu, & Çalışkan, 1995).

2.6. Melatonin Sentezini Etkileyen Faktörler

Melatonin sentezini ve salınımını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır, ancak bunlar arasında en önemlisi ışıktır. Ortamın aydınlık veya karanlık olması, yani gece ve gündüz durumu, melatonin sentezini ve salınımını belirleyen temel bir faktördür. Bu mekanizma fotonöroendokrin kontrol olarak adlandırılır ve sayesinde melatonin sirkadiyen bir ritim gösterir (Claustrat ve ark., 2005; Macchi, & Bruce, 2004). Özetle, melatonin karanlıkta artarken, ışıkla varlığında baskılanır (Claustrat ve ark., 2005; Özgüner ve ark., 1995).

Melatonin sentezini baskılayan en önemli faktör olan ışık, retinada bulunan fotoreseptörler vasıtasıyla retinohipotalamik yolla önce suprakiyazmatik nükleusa (SCN) ve ardından paraventriküler nükleusa aktarılır. Paraventriküler nükleustan çıkan uyarılar, medulla spinalisin intermediolateral kolonundan geçerek bir sempatik ganglion olan süperior servikal gangliona ulaşır. Daha sonra süperior servikal gangliondan çıkan uyarımlar, postganglionik sinirler ve takiben konariyan sinirler aracılığıyla epifiz bezine ulaşır. Süperior servikal gangliondan çıkan uyarıların pinealositleri uyarıcı etkisi karanlıkta artarken, ışık ile baskılanır (Cardinali, & Pevet, 1998) (Şekil 5).



Şekil 5. Memelilerde melatonin üretim yolağı: Memelilerdeki melatonin üretimindeki günlük ritmi kontrol eden sirkadian saat, optik kiazmanın hemen üzerinde bulunan hipotalamusun suprakiazmik nükleusundadır. SCN nöronları paraventriküler nükleus'a (PVN) ilerler ve PVN nöronları ile sinaptik temas yapar. PVN nöronları, spinal kordun üst torasik segmentindeki intermediolateral nükleus (IMLN) ile sinaptik kontakt yapmak için mezensefalik periakuaduktal gri cevher (PAG) yoluyla orta hatta yakın ilerler. Orada preganglionik nöronlar süperior servikal gangliadaki (SCG) hücrelerle inerve olur. Bu SCG hücreleri internal koroid sinir (ICN) ve konarian sinirler aracılığıyla pineal glanda projeksiyonlar gönderir. Geceleri suprakiyazmik nukleustan gelen uyarılar pineal glanda sonlanan postganglionik sinirlerden norepinefrin (NE) salınımına neden olur. Geceleri karanlıkta suprakiyazmik nukleustan gelen sinyaller pineal glanda akar. Suprakiyazmik nukleus tarafından pineal glandın uyarılması giderek gece boyunca azalır. Işık retina ve bir retinohipotalamik projeksiyon aracılığıyla ritim periyodunu denetler. Işık aynı zamanda suprakiyazmik nukleustan epifiz bezine çıkışları kontrol eder. Böylece geceleyin ışığa maruz kalma epifiz bezinin suprakiyazmik stimulasyonunu sonlandırır (Cardinali, & Pevet, 1998).

Epifiz bezinde en çok dikkat çeken nörotransmitter norepinefrindir. Norepinefrin, pinealositlerin membranlarında bulunan postganglionik reseptörlere (β1 ve α1 adrenerjik reseptörler) bağlanarak etki gösterir. Özellikle, β1 reseptörlerinin uyarılması, melatonin sentezinin büyük bir kısmının (yaklaşık %85'i) gerçekleşmesine katkı sağlar, aynı şekilde α1 reseptörlerinin uyarılması da sentezin yaklaşık %15'ini etkiler (Macchi, & Bruce, 2004; Palaoğlu, & Beşkonaklı, 1998). Karanlık uyarısı ile baraber salgılanan norepinefrin hormonu, epifiz bezi özelleşmiş hücreleri olan pinealoistlerin yüzeyinde bulunan adrenerjik reseptörleri aktive ederek intraselüler işlevlerde değişiklikler meydana gelmesini sağlar. Öncelikle, pinealosit hücre membranlarında bulunan bu reseptörlerin uyarımı sonucu adenil siklaz aktivasyonu gerçekleşir. Bu aktivasyon, hücre içinde siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyelerinin artmasına yol açar. Ardından, N-asetil transferaz (NAT) enzimi aktivitesi artar. Bu süreçlerin sonucunda melatonin sentezi ve salınımı artmış olur (Claustrat ve ark., 2005; Palaoğlu, & Beşkonaklı, 1998; Touitou, 2001).

β-blokör ilaçlar melatonin sentezini etkileyebilir. β-blokör ilaçların pineaolositlerde bulunan β-adrenerjik reseptörler vasıtasıyla melatonin sentezini baskıladığı tahmin edilmektedir. Ayrıca β-blokörlerin gece salgılanan melatonin düzeylerini azaltarak uykusuzluğa sebep olduğu bildirilmiştir (Claustrat ve ark., 2005; Özgüner ve ark., 1995; Stoschitzky ve ark., 1999; Touitou, 2001).

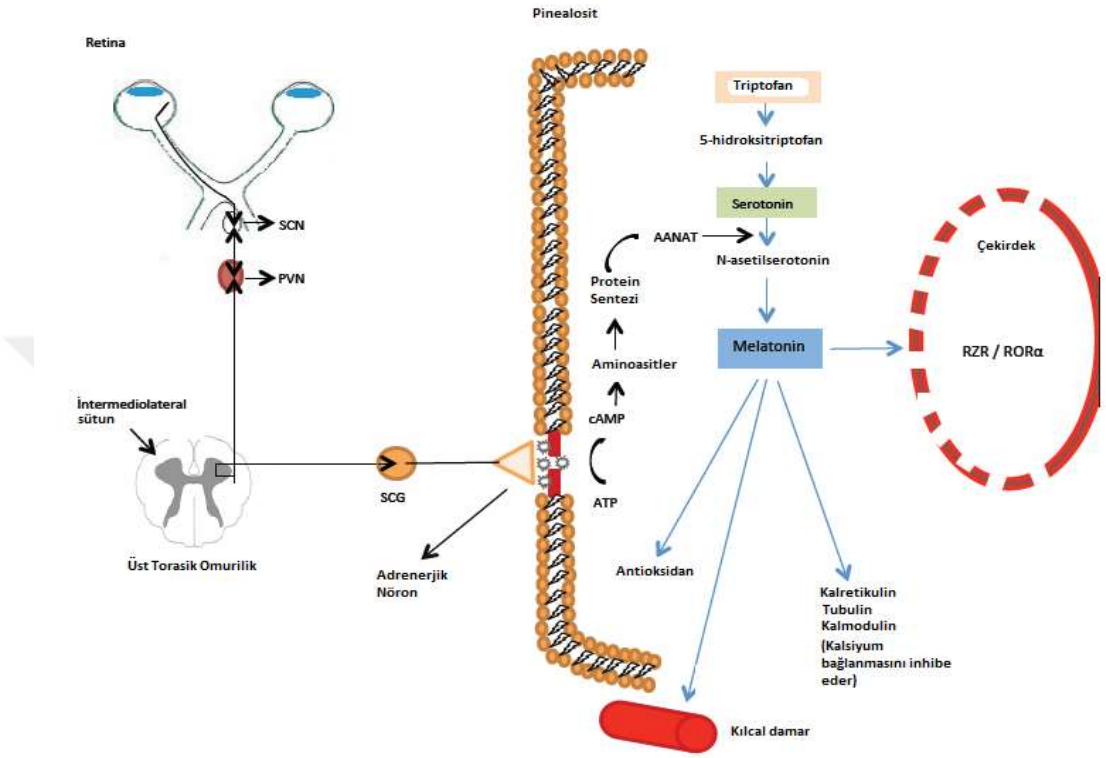
2.7. Melatoninin Etki Mekanizmaları

Melatonin, memelilerde dört mekanizma aracılığıyla etkilerini gösterir:

1- Plazma membranındaki melatonin reseptörlerine bağlanır
2- Kalmodulin gibi hücre içi proteinlere bağlanır
3- Orphan nüklear reseptörlere bağlanır
4- Antioksidan etki mekanizmaları vardır

Melatonin, hücre içi proteinler olan kalmodulin, kalretikulin ve tubulin ile etkileşime girer (Pandi-Perumal ve ark., 2008). Kalmodulin, hücre içi ikincil bir habercidir. Melatonin, doğrudan kalsiyumun kalmoduline bağlanmasını engeller (Ekmekcioglu, 2006; Pandi-Perumal ve ark., 2008) (Şekil 3). Kanserdeki anti-proliferatif etki, muhtemelen bununla ilişkilidir. Retinoid-ilişkili Orphan Nükleer Hormon Reseptör Ailesi (RZR/ROR), melatoninin immünomodülatör etkilerinden

sorumludur. Bu mekanizma ile mononükleer hücrelerde interlökin-2 (IL-2) ve interlökin-6 (IL-6) üretilir (Ekmekcioglu, 2006) (Şekil 6).



Şekil 6. Gözlerden epifiz bezine doğru olan sinirsel yol. Adrenerjik uyarımlardan sonra, pinealositlerde melatoninun hücre içi sentezi ve etkileri özetlenmiştir. SCN: Suprakiazmatik nukleus; PVN: Hipotalamusun paraventriküler nükleusu; SCG: Üst servikal gangliyon; RZR/RORα: Retinoid-İlişkili Orphan Çekirdek Hormon Reseptörü (Ekmekcioglu, 2006).

2.8. Melatonin Reseptörleri

Melatonin reseptörlerinin vücutta bulunduğu bazı yerler arasında beyin, retina, kardiyovasküler sistem, kalp ventriküler duvarı, aorta, koroner ve serebral arterler, karaciğer ve safra kesesi, duodenal enterositler, kolon, sekum ve vermiform apandiks, cilt, parotis bezi, ekzokrin pankreas, böbrek, bağışıklık sistemi hücreleri, trombositler, kahverengi ve beyaz adipositler, prostat ve meme epitel hücreleri, over/granüloza hücreleri, miyometriyum, plasenta ve fetal böbrek örnek gösterilebilir (Uz ve ark., 2005). Gastrointestinal sistemde, melatonin reseptörleri en yaygın olarak jejenum mukozası ve kolon mukozasında bulunur (Pandi-Perumal ve ark., 2008).

Melatoninin üç farklı membran reseptörü ve bir nükleer reseptörü bulunur, ayrıca bağlandığı farklı reseptör türleri de vardır:

1- Melatonin reseptör tip 1a (MT1, Mel 1a, ML1a, ML1): Bu, insan kromozom #4'te kodlanır ve 351 aminoasitten oluşur (Li ve ark., 2013). MT1 reseptörü, çeşitli G-proteinlere bağlanarak adenilat siklaz inhibisyonunu oluşturur (Comai, & Gobbi, 2014). MT1 reseptörleri insan derisinde yaygın olarak bulunur. Yaşlanma süreci ve Alzheimer hastalığı sırasında, suprakiazmatik nükleus (SCN) ve korteks içinde MT1 reseptörünün ekspresyonu azalır (Pandi-Perumal ve ark., 2008). MT1 reseptörleri, suprakiazmatik nükleustaki (SCN) nöronal deşarj hızını azaltır ve prolaktin salınımını baskılar (Dubocovich ve ark., 2003).

2- Melatonin reseptör tip 1b (MT2, Mel 1b, ML1b): İnsan kromozomu #11'de kodlanır ve 363 aminoasitten oluşur (Li ve ark., 2013). MT2 reseptörü, çeşitli G-proteinlere bağlanarak adenilat siklaz inhibisyonu oluşturur. Ayrıca, çözünür guanilat siklaz yolunu inhibe eder (Comai, & Gobbi, 2014). Melatonin reseptörü aktivasyonu yoluyla adenilat siklaz inhibisyonu meydana gelir ve siklik AMP (cAMP) üretimi azalır (Chaste ve ark., 2011; Levoye ve ark., 2006). Cildin içinde, MT2 reseptörleri normal ve malign melanositlerin yanı sıra ekrin ter bezlerinde bulunur (Pandi-Perumal ve ark., 2008). MT2 reseptörleri, ratlarda hipokampus'taki gama aminobütirik asit tip A (GABA-A) reseptörü ile ilişkili işlevleri inhibe eder (Dubocovich ve ark., 2003). Alzheimer hastalığında MT2 reseptör ekspresyonu azalır. MT2 reseptörleri, antidepresan aktivitede rol oynar (Hardeland, 2012). MT2 reseptörleri uyku bozukluklarının, anksiyete, depresyon, Alzheimer hastalığı ve ağrının patofizyolojisi ve farmakolojisinde rol oynar. MT2 reseptörleri, hipnotik ajanların geliştirilmesi için yeni bir hedef olabilir. MT2 reseptörleri, melatoninin anksiyolitik etkilerinden sorumludur. Farmakolojik çalışmalar, MT2 reseptörlerinin özellikle Hızlı Göz Hareketi Olmayan Uyku (NREMS) olarak bilinen uyku döngülerini düzenlediğini göstermiştir (Comai, & Gobbi, 2014).

3- Mel1c: insanlarda bulunmayan, ancak balıklar, amfibiler ve kuşlarda bulunan bir melatonin reseptörü alt türüdür (Li ve ark., 2013). Tavuklarda, Mel1c

reseptörünün ritmi, MT1 ve MT2'nin tam tersidir. Bu reseptörün seviyesi gündüz en yüksekken gece en düşüktür (Li ve ark., 2013; Rada, & Wiechmann, 2006).

4- MT3, Kinon redüktaz 2 enzimi (QR2): MT3 reseptörü, farklı hamster organlarında daha düşük melatonin affinitesi ile farmakolojik temellere dayalı olarak tanımlanmıştır (Ekmekcioglu, 2006). Bu MT3 proteini, insan kinon redüktaz 2 enzimine %95 benzerlik gösteren bir detoksifikasyon enzimidir. Diğer MT-reseptör türlerine karşı, bu reseptörün hızlı bir birleşme/ayrılma kinetiği vardır ve melatonin bağlanması 4 °C'de zirve yapar, diğer reseptör türlerinin ise yükselen sıcaklıklarda daha yüksek bağlanma oranları vardır (Nosjean ve ark., 2000). Ancak, tüm yazarlar MT3 reseptörü ve QR2'nin aynı molekül olduğu fikrini desteklememektedir (Mailliet ve ark., 2005). MT3 proteini işlevleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Son bir çalışmada, bu proteinin tavşanlarda göz içi basıncının düzenlenmesine katkıda bulunabileceği önerilmiştir (Pintor, Pelaez, Hoyle, & Peral, 2009). Gelecekteki çalışmalar, bu muhtemel melatonin reseptörünün daha fazla işlev ve özelliklerini aydınlatacaktır (Ekmekcioglu, 2006).

5- Retinoid-ilişkili Orphan nükleer hormon reseptörü (RZR/RORα): Melatonin, RZR/ROR için doğal bir ligand gibi görünmektedir. RZR/RORα birçok organlarda eksprese edilirken, RZRβ özellikle beyin ve retinada bulunur (Smirnov, 2001). RZR/ROR ailesinin üçüncü üyesi olan RORγ, insan iskelet kası tamamlayıcı DNA'sında (cDNA) tercihen eksprese edilir (Hirose, Smith, & Jetten, 1994). İmmünomodülatör etkiler ve muhtemelen sirkadiyen etkilerin bir kısmı, kısmen bu mekanizma aracılığıyla iletilir. Örneğin, melatonin tarafından bu nükleer reseptörlerin aktive edilmesi, insan B hücre hatlarında 5-lipooksijenaz mRNA ekspresyonunun baskılanmasına neden olduğu gösterilmiştir (Steinhilber ve ark., 1995). Ayrıca, insan mononükleer immün hücreleri tarafından IL-2 ve IL-6 üretiminin düzenlenmesi, bu mekanizma aracılığıyla iletiliyor gibi görünmektedir (Carrillo-Vico ve ark., 2005; Garcia-Maurino, Gonzalez-Haba, Calvo, Goberna, & Guerrero, 1998).

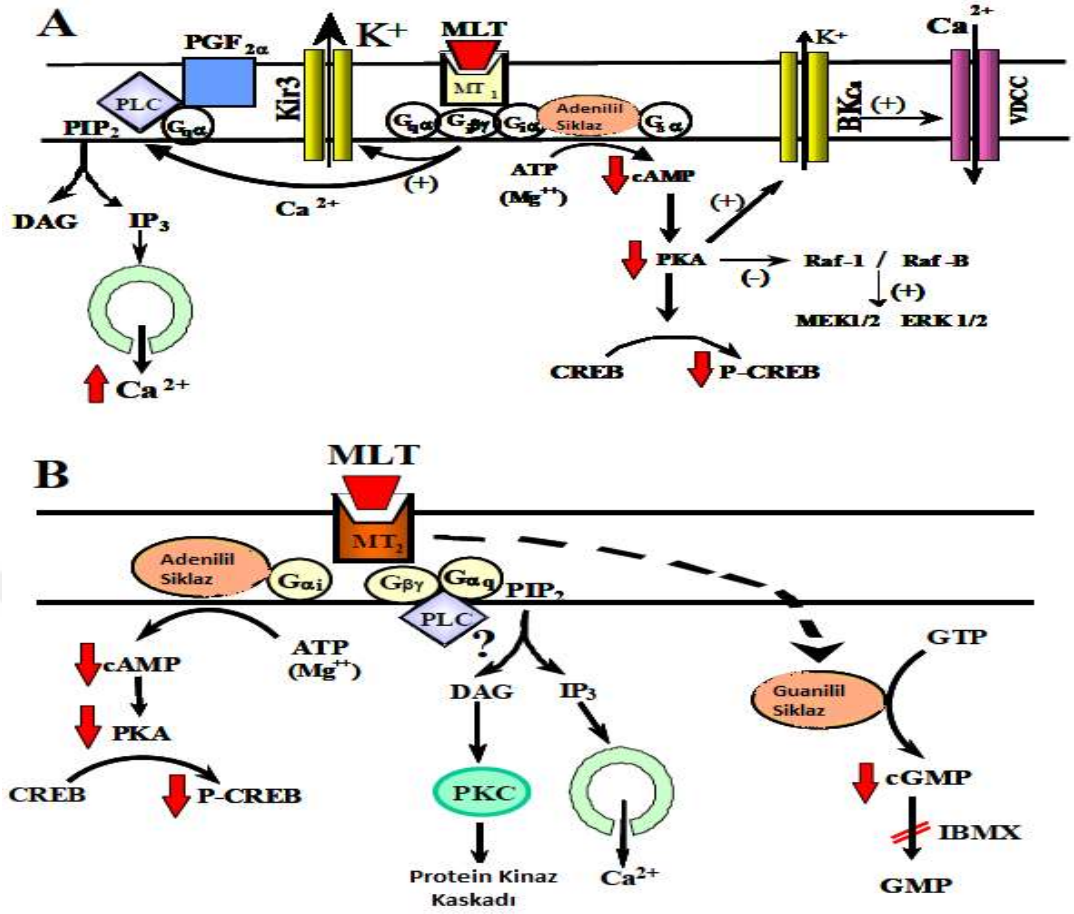
6- G proteinine bağlı reseptör 50 (GPR50): H9 veya ML1X olarak da bilinir ya da "Melatonin-ilişkili Orphan reseptör" olarak adlandırılır. Bu reseptör, G-

proteinlere bağlanan X-ilişkili kalıtımsal bir reseptördür. Memeli olmayan canlılarda bulunmuştur ve Mel1c ile ortologdur (Dufourny ve ark., 2008). Bu reseptörün geni X kromozomunda (Xq28) bulunur ve 618 aminoasitten oluşur (Li ve ark., 2013). Melatonin ile ilişkili reseptör (GPR50), son zamanlarda insanlar dahil memelilerde tanımlanmıştır. Bu reseptör, melatonin reseptörlerine yapısal olarak benzerdir ve aminoasit seviyesinde %45 homolojiye sahiptir ancak melatonini bağlama yeteneğine sahip değildir (Reppert, Weaver, Ebisawa, Mahle, & Kolakowski Jr, 1996). Yine de bu reseptörün melatoninin MT1'e bağlanmasında etkili olduğu bilinmektedir (Hirsch-Rodriguez, Imbesi, Manev, Uz, & Manev, 2007). GPR50, beyin ve periferde bulunur. Doğal ligandı henüz tanımlanmamıştır. GPR50'de bir silme mutasyonu bipolar bozukluk ve majör depresyonla ilişkilendirilmiştir (Thomson ve ark., 2005). GPR50'nin melatonine karşı hiçbir eğilimi yoktur; ancak MT1 ile dimerize olduğunda, melatonin sinyalini inhibe eder (Chaste ve ark., 2010; Levoye ve ark., 2006). GPR50'nin melatonin dışında diğer işlevleri de vardır (Li ve ark., 2013). GPR50, nörit büyüme inhibitörü (NOGO-A) (Li ve ark., 2013; Grunewald, Kinnell, Porteous, & Thomson 2009) ve glukokortikoid reseptör sinyal koaktivatör ve histon asetiltransferaz (TIP60) ile etkileşime girer (Li, Hand, Meng, Loudon, & Bechtold 2011; Li ve ark., 2013).

Şu zamana kadar insanlarda eksprese edilen plazma membranında yerleşmiş iki farklı melatonin reseptörü tanımlanmıştır, MT1 ve MT2 (Şekil 7) (Dubocovich ve ark., 2003). Her iki reseptör türü de, farklı ekspresyon profillerine sahip birçok farklı dokuda tanımlanmıştır (Delagrange ve ark., 2003). MT1 reseptörleri cAMP oluşumunu önlemek için inhibitör Gi proteini ile eşleşir. Çeşitli G-proteinlerle (i, o, q, z, 12, 13, 14, 16) etkileşimleri de tanımlanmıştır (Barrett, Conway, & Morgan, 2003; New, Tsim, & Wong, 2003). MT1 reseptörünün aktivasyonu, forskolin tarafından uyarılan cAMP oluşumunun, protein kinaz A (PKA) aktivitesinin ve cAMP-duyarlı element bağlayıcı proteinin (CREB) fosforilasyonunun inhibisyonuna yol açar. CREB, bir transkripsiyon faktörüdür (Masana, & Dubocovich, 2001). Ayrıca MT1 reseptör aktivasyonu; a) Mitojen-aktivasyonlu protein kinaz (MAP kinaz) fosforilasyonunu artırarak muhtemelen

sinirsel olmayan dokularda filamentöz yapıların sentezinin başlatılmasına yol açar (Witt-Enderby ve ark., 2000), b) ATP veya Prostaglandin F2α tarafından tetiklenen fosfoinosit dönüşümünü, heterotrimerik G-proteinin beta ve gama alt birimleri aracılığıyla artırır (Godson, & Reppert, 1997; Roka ve ark., 1999), c) Melatoninin iyon kanallarındaki işlevsel yanıtları düzenler. Örneğin, sıçan arterlerinin vazokonstriksiyonu melatoninin neden olduğu, kalsiyum tarafından aktive edilen potasyum kanallarının blokajı vasıtasıyla gerçekleştiği gösterilmiştir (Geary, Duckles, & Krause, 2009). Farelerin SCN'sinde melatonin, hipofiziyer adenilat siklazı aktive eden polipeptit (PACAP) aracılığıyla CREB fosforilasyonunu inhibe eder. Bu etki, MT1 reseptörleri tarafından arabuluculuk edildiği gibi, genetik olarak MT1 silinmiş farelerde mevcut değildir (Gall, Weaver, Kock, Korf, & Stehle, 2000).

MT1 reseptörünün ikincil haberci yollarına benzer şekilde, MT2 reseptörünün aktivasyonu da forskolin tarafından uyarılan cAMP oluşumunu inhibe eder (Reppert ve ark., 1995).



Şekil 7. MT1 ve MT2 melatonin reseptörleri tarafından aktive edilen muhtemel sinyal yolakları. **A:** MT1 melatonin reseptörleri, Gi ve Gq/11 ile eşleşen çoklu sinyal yolaklarına sahiptir. **B:** MT2 melatonin reseptörü aktivasyonuna eşleşen sinyal yolakları. PIP2, Fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat; PLC, Fosfolipaz C; DAG, diaçilgliserol; PKA, Protein kinaz A; CREB, cAMP'ye duyarlı element bağlayıcı protein; ER, Endoplazmik retikulum; VSCC, voltaj bağımlı potasyum kanalı; BKCa, kalsiyum aktivasyonlu potasyum kanalı; PGF2α, prostaglandin F2α; IBMX, izobutilmetilksantin; ATP, adenozin trifosfat; MLT, melatonin; GTP, guanozin trifosfat; GMP, guanozin monofosfat (Dubocovich ve ark., 2003).

2.9. Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri

Sığır beyninde özel [3H]-melatonin bağlanma bölgelerinin ilk tanımlanmsını takiben (Cardinali, Vacas, & Boyer, 1979), tavşan retinasında melatonin reseptör aktivasyonuna verilen işlevsel yanıtlar raporlandı (Dubocovich, 1983). Bağlama çalışmaları ve reseptör oto-radyografisi için geliştirilen yüksek bağlama afiniteli radyoligand olan 2-[125I]-iyodomelatonin, farklı nöronal dokularda melatonin reseptörlerinin tanımlanmasını mümkün kıldı (Dubocovich, & Takahashi, 1987; Vanecek, Pavlik, & Illnerova, 1987). 2-[125I]-İyodomelatonin melatonin bağlama bölgeleri, insan dahil farklı türlerde retinada, süperkiazmatik nükleusta (SCN), talamus bölgesinde, beyincik moleküler tabakasında ve hipofizin pars tuberalis'inde ki nöronal hücrelerde lokalize olduğu gösterilmiştir (Al-Ghoul, Herman, & Dubocovich,

1998; Fujieda, Hamadanizadeh, Wankiewicz, Pang, & Brown, 1999; Vanecek, 1998). 2-[125I]-iyodomelatonin, hem MT1 hem de MT2 rekombinant reseptörlere bağlanır. Ancak, bu radyoligandın memeli dokularındaki özgül bağlanması, MT1 melatonin reseptörleri ile sınırlı gibi görünmektedir (Dubocovich, Yun, Al-Ghoul, Benloucif, & Masana, 1998; Liu ve ark., 1997), çünkü MT1 reseptörünün genetik olarak silindiği farelerin SCN ve talamus bölgelerinde 2-[125I]-iyodomelatonin bulunmamaktadır (Liu ve ark., 1997). Ayrıca, seçici MT2 melatonin reseptör ligandı 4P-PDOT, farelerin SCN'sinde 2-[125I]-iyodomelatonin ile yarışmaya girmediği gösterilmiştir (Dubocovich ve ark., 1998).

Ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) kullanılarak, MT1 mRNA ekspresyonu SCN, beyincik, serebral korteks, talamus, hipokampus ve retina bölgelerinde bulunduğu tespit edilmiştir, MT2 mRNA ekspresyonu ise retina, hipokampus ve tüm beyin boyunca dağılım göstermektedir (Mazzucchelli ve ark., 1996; Reppert, Weaver, & Ebisawa, 1994; Reppert ve ark., 1995; Roy, Angelini, Fujieda, Brown, & Belsham, 2001; Scher, Wankiewicz, Brown, & Fujieda, 2002). Ayrıca, in situ hibridizasyon histokimyası, her iki reseptörün de SCN ve insan beyinciklerinde eksprese edildiğini ortaya çıkarmıştır (Al-Ghoul ve ark., 1998; Dubocovich ve ark., 1998; Hunt, Al-Ghoul, Gillette, & Dubocovich, 2001; Mazzucchelli ve ark., 1996; Poirel, Masson-Pevet, Pevet, & Gauer, 2002).

Spesifik anti-MT1 melatonin reseptör antikorları kullanılarak immunositokimya, in situ hibridizasyon ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile kombine yapılan çalışma sonucunda çeşitli türlerin retina hücrelerinde MT1 reseptörlerinin hücresel ekspresyonlarında farklılıklar ortaya konmuştur. Guinea pig ve sıçan retinasında MT1 melatonin reseptörleri immünaktivitesi, iç plexiform katmanlar, dış plexiform katmanlar, ganglion hücreleri, amakrin hücreler ve yatay hücrelerde lokalize iken, fotoreseptör hücrelerinde ekspresyonu bulunmamıştır (Fujieda ve ark., 1999; Fujieda ve ark., 2000). Buna karşılık, insan retinasında MT1 melatonin reseptörleri çubuk fotoreseptör hücrelerinde eksprese edildiği rapor edilmiştir (Meyer ve ark., 2002; Savaskan ve ark., 2002; Scher ve ark., 2002). Tirozin hidroksilaz ve MT1 melatonin reseptör antikoru ile çift immün etiketleme deneyleri, guinea pig retinasının dopaminerjik amakrin hücrelerinde MT1 reseptörünün yerelleşimini göstermiştir (Fujieda ve ark., 2000). Ancak tavşan

retinasında, melatonin, hMT2 melatonin reseptörünün farmakolojik profiline benzerlik gösteren presinaptik melatonin heteroreseptörleri aracılığıyla dopamin salınımını inhibe etmektedir (Dubocovich, Masana, Iacob, & Sauri, 1997). Son olarak, guinea pig retinasında GABAerjik amakrin hücreler de MT1 melatonin reseptörlerini eksprese ederler, bu da melatoninin bu nörotransmitterin düzenlenmesinde bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Fujieda ve ark., 2000).

2.10. İnsanlarda Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri

2.10.1 Suprakiazmatik nükleus (SCN)

İnsanlarda, MT1 reseptör alt tipinin SCN'deki ekspresyonu ilk kez Weaver ve Reppert tarafından gösterilmiştir (Weaver, & Reppert, 1996). MT2 reseptörünün insan SCN bölgesinde transkripsiyonu tespit edilememiştir, ancak farelerde bulunmuştur (Dubocovich ve ark., 1998). Melatoninun SCN'deki rolü, birkaç kemirgen çalışmasında açıklanmıştır ve bu durum insanlar için de geçerli olabilir. Genel görüş, melatonin'in endojen bir senkronizatör olduğudur (Cajochen, Krauchi, & Wirz-Justice, 2003). Melatonin, SCN'ye gecenin bilgisini sağlar ve melatonin salınımının zamanlaması ışık/karanlık döngüsüne göre ayarlanır. Sıçanlarda sirkadiyen ritimleri sabitleme, güçlendirme ve karşılıklı faz ilişkilerini sürdürme yeteneğine sahiptir (Korf, Von-Gall, & Stehle, 2003). Bu etkilerin arkasındaki mekanizmalar, nöronal ateşlemenin inhibe edilmesidir ki bu, SCN'nin senkronize edici uyarılara hassasiyetini tanımlamak için önemli olabilir. İnsanlarda bu, uyku düzenlemesine katkıda bulunabilir (Ekmekcioglu, 2006).

İnsanlarda yapılan çeşitli çalışmalar melatonin uygulamasından sonra vücut sıcaklığı, endojen melatonin ve uyku zamanı gibi temel fizyolojik parametrelerde faz değişimlerinin meydana geldiğini göstermiştir. Sabah uygulamasından sonra faz gecikmeleri gözlenirken, akşam uygulamasından sonra faz gelişmeleri meydana gelir (Lewy, Ahmed, Jackson, & Sack, 1992). Ayrıca, melatonin uygulamaları, jet lag ve vardiyalı çalışma gibi ışık-karanlık programının akut faz kaymalarından sonra yeniden ayarlanmasının kolaylaştırılmasına yardımcı olur (Arendt, Skene, Middleton, Lockley, & Deacon, 1997). Tüm bu çalışmalar, melatoninin SCN'de MT-reseptörlerine bağlandıktan sonra sirkadiyen ritimleri senkronize etmeye katıldığını göstermektedir. Tablo 1'de merkezi sinir sistemi melatonin reseptörleri dağılımı özetlenmektedir (Ekmekcioglu, 2006).

Tablo 1. İnsan Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri (Ekmekcioglu, 2006).

Lokalizasyon	Reseptör Alt tipi	Fonksiyonlar (Varsayılan)
SCN	MT1	• Sirkadiyen ritmin modülasyonu • Uyku
Çeşitli Retina Hücreleri	MT1,MT2	• Dopamin salınımını tetikleyen uyarımın inhibisyonu • Çubuk fototransdüksiyon yollarının ve fotoreseptör işlevlerinin modülasyonu • Düşük ışık yoğunluklarına uyum
Hipokampus	MT1, MT2	• Hafıza, nöronal aktivitenin uyarılması ve inhibisyonu • Alzheimer Hastalığı'ndaki değişkenlikler • GABAA reseptör işlevinin baskılanması yoluyla nöbet eşiğinin artırılması?
Serebellum	MT1, MT2	• Glutamaterjik sinapslarla etkileşimler?
Merkezi Dopaminerjik Sistem	MT1	• Dopamin sentezinin ve salınımının modülasyonu • Dopamin reseptörlerinin aktivasyonu • Kokain kaynaklı davranışların modülasyonu
Çeşitli Bölgeler	MT1	• ?

2.10.2. Pars tuberalis

Farelerin hipofizlerinin pars tuberalisinde MT1 reseptörlerinin aktivasyonu, saat geni ekspresyonunu uyarmış (Von-Gall ve ark., 2002) ve prolaktin salınımının fotoperiyodik düzenlemesi ile ilişkilendirilmiştir (Morgan, 2000). Bununla birlikte, insanların pars tuberalisinde melatonin reseptör ekspresyonunun olmadığı görünmektedir (Thomas, Purvis, Drew, Abramovich, & Williams, 2002).

2.10.3. Retina

İnsan retinasında her iki tip MT-reseptör de tanımlanmıştır (Reppert ve ark., 1995). MT reseptörü retinada çeşitli hücre tiplerinde lokalize olabilir (Scher, Wankiewicz, Brown, & Fujieda, 2002) ve bu hücreler arasında horizontal, amakrin, ganglion hücre gövdeleri ve çubuk fotoreseptör hücreler sayılabilir (Ekmekcioglu, 2006).

Ayrıca, melatoninin, insanlar dahil çoğu omurgalı türünde öncelikle fotoreseptör hücreleri tarafından sentezlendiği iyi bilinmektedir (Iuvone ve ark., 2005). Bu hücrelerden melatonin çoğunlukla gece saatlerinde salınır ve ışık melatonin sentezleyen enzim aktivitelerini bastırır. Melatonin, düşük ışık yoğunluğuna uyum sağlama süreçlerini düzenler. Ayrıca, retinada dopaminerjik nöronlarda melatonin reseptörleri bulunur. Melatonin, ışık tarafından uyarılan dopamin salınımı ile karşıt bir

etki gösterir. Dopamin, ışığa uyum sağlama ve görsel hassasiyetteki sirkadiyen değişikliklerin bir aracısı olabileceği öne sürülmüştür (Djamgoz, & Wagner, 1992).

2.10.4. Hipokampus

Her iki tip MT-reseptörü de insan hipokampusunda bulunmuştur (Savaskan ve ark., 2002; Savaskan ve ark., 2005). MT-reseptörleri özellikle piramidal nöronlarda eksprese edilir. Melatoninin farelerde hipokampal nöronlar üzerinde konsantrasyona bağlı olarak uyarıcı veya inhibe edici etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Hogan, El-Sherif, & Wieraszko, 2001; Musshoff, Riewenherm, Berger, Fauteck, & Speckmann, 2002). Bu nedenle, hipokampal nöronların aktivitesinin melatonin salınımının sirkadiyen ritmi tarafından etkilendiği öne sürülmektedir. Savaskan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar, Alzheimer hastalarında MT-reseptörlerinin ekspresyonlarının modüle edildiğini, MT2-alt tipi seviyelerinin düştüğünü ve artmış MT1 ekspresyonunun olduğunu gösterdi. Nedeni net olmasa da, bulgular Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilen nörodejenerasyon nedeniyle ya da telafi edici bir MT1 artışını ve/veya bozulmuş MT2 ekspresyonunu düşündürmektedir. Ayrıca, her iki reseptör de hipokampüsün farklı alanlarında yerleşim gösterir. MT1 reseptörü özellikle hipokampusun ana çıkışı olan CA1 alt alanındaki nöronlarda eksprese edilir. Buna karşılık, MT2 reseptörleri özellikle entorinal korteksten gelen glutamaterjik uyarıcı girişleri alan CA4 ve CA3 piramidal nöronlarda belirgin bir şekilde bulunmuştur (Savaskan ve ark., 2002; Savaskan ve ark., 2005).

Ayrıca, melatoninin antioksidan etkilerinin Alzheimer hastalığında amiloid-β tarafından indüklenen nöropatolojiye karşı nöronları koruduğu belirtilmelidir (Srinivasan ve ark., 2005).

Hipokampal MT-reseptörlerinin muhtemelen epileptik süreçlerde de rol oynadığı düşünülmektedir. Literatürde melatoninin epilepsi üzerindeki rolü tartışmalıdır. Çocuklarda farmakolojik dozlarda melatonin, epileptiform aktivitenin şiddetinde ve/veya sıklığında azalmaya neden olmaktadır (Fauteck, Schmidt, Lerchl, Kurlemann, & Wittkowski, 1999). Sıçan çalışmalarında pinealektominin, uzun süren status epileptikus'u takip eden epileptojenik süreçlere yatkınlığın arttığını, kronik faz sırasında spontan nöbetlerin daha fazla sayıda gerçekleştiğini ve artmış nöron kaybı ile sonuçlandığını göstermiştir (De-Lima ve ark., 2005). Melatonin uygulaması bahsedilen tüm bu negatif etkileri tersine çevirmiştir. Ancak, diğer bazı kemirgen

çalışmaları ise melatoninin nöbetlere yol açan etkilerinin olabileceğini öne sürmektedir. Örneğin melatonin, MT2-reseptörünün aktivasyonu yoluyla CA1 piramidal hücrelerinde, GABA-A reseptör aracılı akımları azaltarak inhibitör nöronal fonksiyonları değiştirdiği gösterilmiştir (Musshoff ve ark., 2002). Ayrıca, farelerde yapılan son bir çalışmada, pilokarpinle epileptik nöbetler oluşturulan deneklerde MT2 reseptör antagonistı olan 4-PDOT'un intrahipokampal uygulamasının antikonvülzan etkiler sergilediği gösterilmiştir (Stewart, & Leung, 2005).

2.10.5. Serebellum

MT1 ve MT2 reseptörleri, insan beyincik korteksinin farklı hücre popülasyonlarında eksprese edilmektedir (Al-Ghoul ve ark., 1998). MT1 reseptörleri granül hücreleri ve sepet-yıldız hücrelerinin hücre gövdelerinde yerleşir. Ayrıca, immünohistokimyasal çalışmalar, MT-reseptörlerin glutamaterjik sinapslarla ko-lokalize olduğunu önermektedir. Glutamat, uyarıcı bir nörotransmitterdir ve melatonin, özellikle yüksek olduğu gece saatlerinde, glutamat üzerine inhibisyon etkileri gösterir (Ekmekcioglu, 2006).

2.11. Merkezi Dopaminerjik Sistem

Uz ve arkadaşlarının son makalesinde, MT1 reseptörünün dopaminerjik davranışlarla ilişkilendirilen çeşitli bölgelerde bulunduğu gösterilmiştir. Bu bölgeler arasında Brodmann bölgesi 10 (örneğin prefrontal korteks), putamen, substantia nigra, amigdala ve hipokampus bulunur (Uz ve ark., 2005). Dopaminerjik sistem, hareket ve ödül gibi psikolojik faktörler için önemlidir ve aynı zamanda uyuşturucu madde bağımlılığı (örneğin kokain) gibi bağımlılık yapan ilaçların pekiştirici etkilerini üretmek için de önemlidir. Melatonin tedavisi, kokainin indüklediği davranışsal hassasiyetlerin gelişimine engel olabilir (kokain bırakıldığında yaşanan endişe ve depresyon gibi) (Sircar, 2000).

2.12. Epifiz Bezi, Melatonin ve Sirkadiyen Ritim

Sirkadiyen kelimesi, "circa" (yaklaşık) ve "dies" (gün) kelimelerinden türetilmiştir ve takriben bir gün anlamını taşır. Sirkadiyen ritim kavramı, dünyanın kendi ekseni etrafında 24 saat süren tam bir turunun sonucu meydana gelen aydınlık ve karanlık siklusunun, yaşayan tüm varlıklar üzerinde oluşturduğu döngüsel, fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal etkileri ifade eder (Akbay, 2020; Sukumaran, Almon, Dubois, & Jusko, 2010).

Sirkadiyen ritimler (yaklaşık bir gün süren), yaşamımızı domine eder, en belirgin olarak bunu uyku-uyanma döngüsü üzerinden gerçekleştirir. Gerçekten de neredeyse tüm hayati öneme sahip fizyoloji ve metabolizma sirkadiyen kontrol altındadır (Czeisler, 2016; Potter ve ark., 2016). Vücut genelinde dağılmış hücresel 'saatler' tarafından yönlendirilen bu ritimler, bizi dünyaya hazırlayarak beyni ve diğer dokuları, beklenen gündüz veya beklenen geceye uygun çok farklı, genellikle birbirine zıt işlevleri yerine getirmeye ayarlar (Reppert, & Weaver, 2002). Hücresel düzeyde, bu ritimler, dokuya özgü gen ekspresyonlarının uygun bir şekilde zamanlanmış günlük programlarının bir ürünüdür (Mure ve ark., 2018; Zhang, Lahens, Ballance, Hughes, & Hogenesch, 2014). Beyinin sirkadiyen programının bozulması uyku verimliliği ve bilişsel performasın yanı sıra ilişkili süreçler olan sinaptogenezis ve beyin metabolitlerinin temizlenmesini riske atar (Roh ve ark., 2012; Xie ve ark., 2013).

Sirkadiyen sistemin odak noktası, sirkadiyen programın tümünü yöneten ve hipotalamusun ön lobunda yer alan suprakiyazmatik çekirdekteki (SCN) ana saattir (Reppert, & Weaver, 2001). Memelilerde sirkadiyen zamanlama, birden fazla sirkadiyen osilatörün hiyerarşik olarak düzenlendiği bir sistemde gerçekleşir. Ana saat mekanizmasının osilatör yapısı, tek nöronlar içinde bulunur (Welsh, Logothetis, Meister, & Reppert, 1995), ve yaklaşık 20.000 nöronu içeren çift taraflı SCN'nin çoğunun 'saat hücreleri' olabileceği düşünülür. SCN içinde işlevsel olarak farklı populasyonlara ait saat hücreleri için moleküler kanıtlar ortaya çıkmaya başlamıştır (Hamada, Lesauter, Venuti, & Silver, 2001; Jagota, Iglesia, & Schwartz, 2000; Low-Zeddies, & Takahashi, 2001).

Enteresan bir şekilde, vücudun çeşitli bölgelerine yayılmış sirkadiyen osilatörler de bulunmaktadır, SCN'de hücre içi saat mekanizmasında yer alan genlerin başka beyin bölgelerinde, çeşitli organlarda ve hatta kültür ortamındaki ölümsüz hücre hatlarında ritmik olarak eksprese edildiği bulunmuştur (Balsalobre, Damiola, & Schibler, 1998; Yamazaki ve ark., 2000; Zylka, Shearman, Weaver, & Reppert, 1998). SCN dışındaki, in vivo eksprese edilen 'köle' osilatörler, ana saatten gelen bilgi olmadan sadece birkaç gün boyunca 24 saatlik osilasyonları sürdürebilir. SCN, köle osilatörlerin zamanlamasını senkronize eder. Senkronize edilmiş köle osilatörler, sırasıyla, fizyolojide ve davranışta yerel ritimleri düzenler. Hiyerarşik çoklu osilatör sistem birçok fizyolojik sisteme dağılarak bu sistemleri düzenlemektedir ve tam bir

faz kontrolü ve denge sağlıyor gibi görünmektedir (Pando, Morse, Cermakian, & Sassone-Corsi, 2002).

Gerçekten de, genetik çalışmalar, SCN saatinin zamanlama mekanizmasının ve köle osilatörlerin moleküler bileşiminin çok benzer olduğunu göstermiştir (Yagita, Tamanini, Van Der Horst, & Okamura, 2001). Ana saatin kendi kendini sürdürebilen osilatuar fonksiyonunu, köle osilatörlerin zayıflayan osilasyonundan ayıran gerçek mekanizma bilinmemekle birlikte, mekanizmanın SCN'de yalnızca eksprese edilen belirli bir öğe (gen/protein) varlığından çok, genel olarak saat protein seviyeleri ve/veya kinetiği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Reppert, & Weaver, 2002).

Farelerde hücresel saat mekanizması, etkileşen pozitif ve negatif transkripsiyonel geri bildirim döngülerini içerir ve bu geri bildirim döngüleri önemli saat bileşenlerinin RNA ve protein seviyelerinde tekrarlayan ritimlerini yönetir. İki temel transkripsiyon faktörü, CLOCK ve BMAL1 (ayrıca MOP3 olarak da adlandırılır), ritmik transkripsiyonel artışı sağlar ve sistem için temel itici gücü oluşturur (Bunger ve ark., 2000; Gekakis ve ark., 1998; Hogenesch, Gu, Jain, & Bradfield, 1998; King ve ark., 1997). CLOCK-BMAL1 heterodimerler, E kutusu arttırıcılarına bağlanarak transkripsiyonu aktive eder ve bu, nükleotid dizisi CACGTG'ye sahip olanlar için yüksek derecede seçicidir (Gekakis ve ark., 1998; Hogenesch ve ark., 1998). Negatif geribildirim, CLOCK-BMAL1 sürücüsünün ritmik olarak inhibitörler tarafından baskılanmasını içerir. Özellikle, CLOCK-BMAL1 heterodimerleri üç periyot geninin (mPer1-mPer3 farede) ve iki kriptokrom geninin (mCry1 ve mCry2) ritmik transkripsiyonunu aktive eder. Sonuçta ortaya çıkan mPER ve mCRY proteinleri çekirdeğe geri translokasyon yapar, burada mCRY proteinleri CLOCK ve/veya BMAL1 ile doğrudan etkileşime girerek transkripsiyonu inhibe eder ve negatif geribildirim döngüsünü kapatır (Kume ve ark., 1999; Okamura ve ark., 1999; Shearman ve ark., 2000; Vitaterna ve ark., 1999).

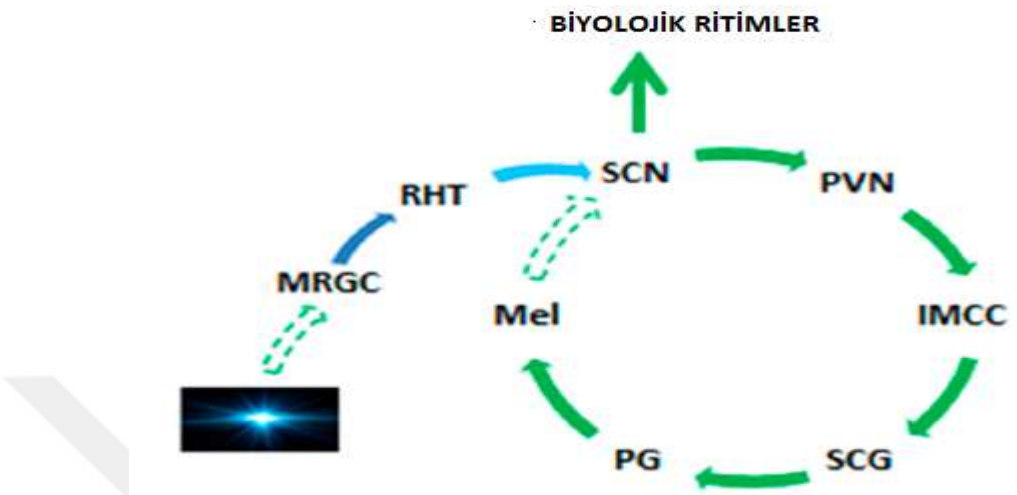
Pozitif geribildirim döngüsü, BMAL1 transkripsiyonunun ritmik olarak düzenlenmesini içerir. BMAL1 RNA seviyeleri, mPer ve mCry RNA'larına göre 12 saatlik bir farkla zirveye ulaşır (Shearman ve ark., 2000; Oishi, Fukui, & Ishida, 2000). Son çalışmalar, pozitif geribildirim döngüsünün düzenlenmesine ilişkin gözden geçirilmiş bir bakış sağlamaktadır: pozitif döngüyü oluşturmak için CLOCK–BMAL1 heterodimerleri, mPer ve mCry transkripsiyonunu etkinleştirmenin yanı sıra orphan

nükleer reseptör geni Rev-Erbα'nın transkripsiyonunu da etkinleştirir (Preitner ve ark., 2002). Rev-Erbα proteinleri daha sonra, promotöründeki Rev-Erb/ROR yanıt elementleri aracılığıyla BMAL1 transkripsiyonunu baskılar (Preitner ve ark., 2002; Ueda ve ark., 2002). Sonuç olarak, BMAL1 RNA seviyeleri düşerken, mPer ve mCry RNA seviyeleri yükselir. mCRY proteinleri nükleusa girdiğinde mPer ve mCry transkripsiyonunu inhibe ederken (CLOCK–BMAL1 üzerindeki etkileri aracılığıyla), aynı zamanda Rev-Erbα transkripsiyonunu inhibe eder ve sonuç olarak Bmal1 transkripsiyonunun aktivasyonu gerçekleşir (Preitner ve ark., 2002; Ueda ve ark., 2002; Yu, Nomura, & Ikeda, 2002). mPER2, Rev-Erbα ekspresyonu inhibe edildiğinde BMAL1 transkripsiyonu üzerinde pozitif bir etki sağlayabilir (Shearman ve ark., 2000). Bu nedenle, pozitif ve negatif transkripsiyon geri besleme döngüleri, CLOCK–BMAL1 heterodimerleri tarafından ortaklaşa düzenlenir, döngü dinamiklerindeki farklılıklar ise ortaklaşa düzenlenen protein ürünlerinin diferansiyel aktivitelerinden kaynaklanır (Reppert, & Weaver, 2002).

Negatif geri besleme döngüsünün mPER ve mCRY verileri, işlevsel bir sirkadiyen saatin sürdürülmesi için esastır. mPer1 ve mPer2 genlerinin birlikte veya her iki mCry geninin de bozulması, çift-nakavt hayvanlar sabit koşullara konulduğunda hemen davranışsal aritmiklik oluşturur (Bae ve ark., 2001; Horst ve ark., 1999; Vitaterna ve ark., 1999; Zheng ve ark., 2001). Aile üyeleri arasında fonksiyonun kısmi bir telafisi vardır çünkü saat tek gen mutasyonlarından sonra devam eder (Bae ve ark., 2001; Cermakian, Monaco, Pando, Dierich, & Sassone-Corsi, 2001; Horst ve ark., 1999; Vitaterna ve ark., 1999; Zheng ve ark., 1999; Zheng ve ark., 2001). mPER3, çekirdek saat geri besleme döngülerinin sürdürülmesinde kritik bir rol oynamaz, çünkü moleküler ve davranışsal ritimler mPer3 eksik farelerde korunur ve hem homozigot mPer1 hem de mPer2 mutanlarıyla sinerji yoktur (Bae ve ark., 2001; Shearman, Jin, Lee, Reppert, & Weaver, 2000). Bunun yerine, mPER3 muhtemelen bir çıkış sinyali olarak işlev görür (Reppert, & Weaver, 2002).

Epifiz bezi, insan beyninin geometrik merkezine yerleştirilmiş olup doğrudan üçüncü ventrikül ile bağlantılıdır. Bu, bir çevresel organ (CVO) olarak sınıflandırılmış ve omurgalılarda biyolojik ritim düzenlemesine katılan bir yapıdır. Bu bağlamda, biyoritimleri düzenleyen yapıları suprakiazmatik çekirdek (SCN)-melatonin döngüsü olarak adlandırıyoruz. Bu döngü, melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri

(MRGC), retina-hipotalamik trakt (RHT), SCN, paraventriküler çekirdek (PVN), intermedyolateral hücre sütunu, sempatik servikal gangliyonlar (SCG), epifiz bezi ve SCN'yi etkileyen melatonin ritmini içerir (Şekil 8) (Tan ve ark., 2018).



Şekil 8. SCN-melatonin döngüsünün görselleştirmesi. Katı oklar nöronal bağlantıları ve nöronal projeksiyon yönünü gösterir. Kesikli oklar giriş sinyallerini gösterir. SCN, biyolojik ritimleri ve melatonin sirkadiyen ritmini belirleyen ana saattir. İçsel sirkadiyen aralığı 24 saatten uzundur. Doğal fotoperiyot (fotoğraflar), melatonin sirkadiyen ritmini 24 saate ayarlamak için bir giriş sinyali olarak görev yapar; karşılığında melatonin, SCN'nin biyolojik ritmini tekrar 24 saate ayarlamak için fotoperiyot sinyali olarak işlev görür. MRGC: melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri; RHT: retino-hipotalamik trakt; SCN: suprakiazmatik çekirdek; PVN: paraventriküler çekirdek; IMCC: intermedyolateral hücre sütunu; SCG: sempatik servikal gangliyon; PG: pineal bezi. Mel: melatonin (Tan ve ark., 2018).

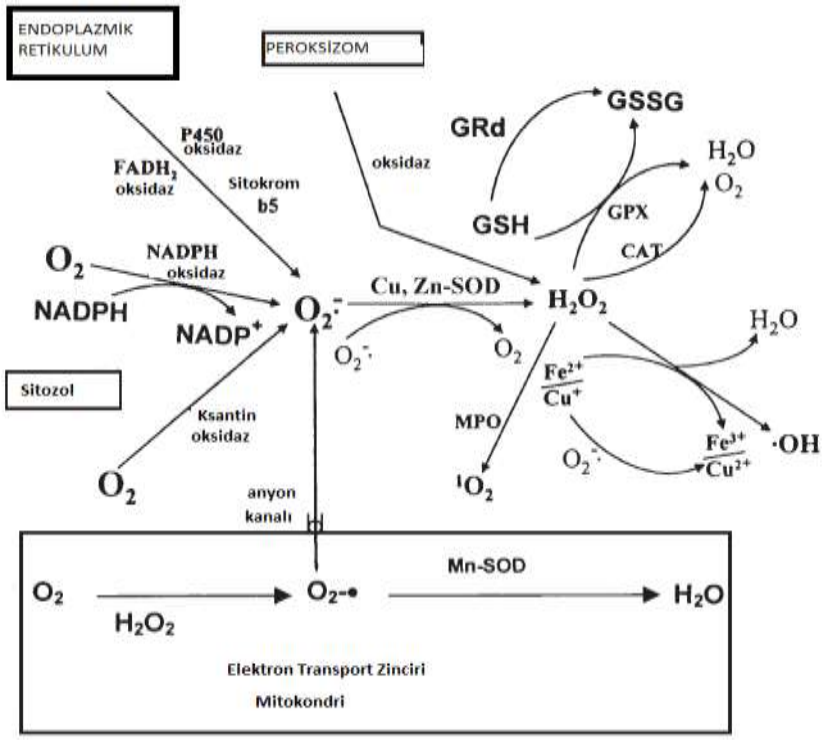
Döngünün herhangi bir kusuru, azalmış bir melatonin sirkadiyen ritmi ve kronobiyolojinin bozulmasıyla sonuçlanır. Örneğin, SCN veya PVN lezyonları, servikal ganglion engellenmesi veya pinealektomi, omurgalılarda melatonin ritminin kaybı ile her zaman birlikte görülür. Bu döngü, omurgalıların biyolojik ritimlerini düzenlemek için önemlidir (Tan ve ark., 2018). SCN'nin ana saat olduğuna inanılır. Bu zamanlayıcının içsel döngüsü, 24 saatten daha uzundur. SCN'nin faaliyeti, çevresel fotoperiyot ipuçları tarafından 24 saatlik döngüye senkronize edilir. Melatonin ise SCN'nin aktivitesini senkronize eden majör kimyasal mesajdır (Mcarthur, Gillette, & Prosser, 1991).

Melatonin membran reseptörleri, omurgalıların SCN'sinde tanımlanmış (McMahon, Iuvone, & Tosini, 2014; Waly, & Hallworth, 2015) ve buradaki sinyal iletim yolakları MT1 ve MT2 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmektedir, aynı zamanda melatonin bu reseptörler aracılığıyla Periyot 1 (Per1) ve Periyot 2 (Per2) saat genlerinin ekspresyonunu arttırmaktadır (Gauer, Masson-Pevet, Skene, Vivien-Roels,

& Pevet, 1993; Kandalepas, Mitchell, & Gillette, 2016; Waly, & Hallworth, 2015). Melatonin'in geri bildirim bilgisi olmadan, SCN doğal fotoperiyodik değişiklikleri uygun şekilde yorumlayamaz (Hastings, Herbert, Martensz, & Roberts, 1985) ve 24 saatten daha uzun bir döngüye sahip olur. Bu durumda SCN, 24 saatten daha uzun olan sıradışı bir melatonin sirkadiyen ritmi sergilemesi için epifiz bezine talimat verir. Bu fenomen, tamamen kör hayvanlarda ve insanlarda gözlemlenmekte, çünkü gözleri, özellikle de melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri (MRGC), çevresel fotoperiyodik bilgiyi uygun şekilde alamaz (Lewy, & Newsome, 1983; Nakagawa, Isaki, Sack, & Lewy, 1992; Palm, Blennow, & Wetterberg, 1991).

2.13. Melatoninin Antioksidan Etkisi

Oksidatif hasar moleküler oksijenin (O2) hücreler tarafından verimsiz kullanılması sonucu ortaya çıkar. Hücreler tarafından absorbe edilen O2, mitokondride ATP şeklinde enerji üretmek için kullanılır (Acuna-Castroviejo ve ark., 2001). Hücre içine alınan O2'nin küçük bir miktarı geleneksel metabolizmalardan kaçarak yüksek reaktiviteye sahip hücre altı bölümler için zararlı olan ürünlere indirgenir (Şekil 9). Serbest radikaller değerlik yörüngelerinde paylaşılmamış elektrona sahiptirler. Bu elektron eksikliği durumu bu ajanları oldukça reaktif yapar ve çevresindeki moleküllerden elektron koparark ya da onlara elektron vererek zarar verir. Lipidlere ve proteinlere zarar verdikleri halde en büyük hasarı DNA'nın aldığı görülmektedir ve zararlı etkileri sadece bu büyük moleküllerle sınırlı değildir. En reaktif radikallerden biri olan hidroksil radikali (OH) karşılaştığı ilk molekülle etkileşime girdiğinden dolayı yarı ömrü oldukça kısadır (Reiter ve ark,. 2004).

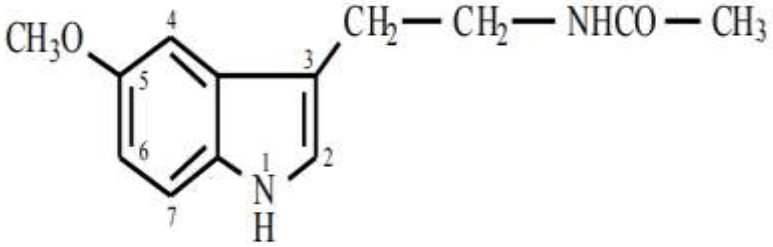


Şekil 9. Moleküler oksijen (O2) bir çok serbest radikale ve ilişkili reaktif türlere indirgenir. Süperoksit anyon radikalinin (O2-) reaktif olduğu düşünülmezken, hidroksil radikali (OH) üretildiği yerde herhangi bir moleküle hızlıca zarar verir. Çeşitli enzimler (O2-) oluşumuna neden olur ve ayrıca elektron transport zincirindeki elektron sızıntısından dolayı mitokondride radikaller bolca üretilir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) gibi birçok enzim bu reaktanları daha az toksik ya da toksik olmayan ürünlere metabolize eder. Hidrojen peroksit (H2O2) GPX tarafından metabolize edildiği zaman, glutatyon (GSH) glutatyon disülfite (GSSG) indirgenir, daha sonra glutatyon disülfit (GSSG) glutatyon redüktaz (GRd) enzimi tarafından tekrar glutatyona (GSH) çevrilir (Reiter ve ark,. 2004).

O2'den şekillenen radikaller ve radikal ürünlerden oksijen temelli olarak bahsedilir. Ek olarak, oldukça zararlı nitrojen temelli ajanlar bulunmaktadır; örneğin nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit anyonu (ONOO). Peroksinitrit anyonu, süperoksit anyon radikali (O2) ile NO eşleşmesinden meydana gelir. Son olarak, hipokloroz asit, serbest radikal olmamasına rağmen oldukça zararlıdır ve klorin temelli reaktan olarak tanımlanır (Reiter ve ark,. 2004).

Neyse ki, organizmada direkt olarak hem radikalleri hemde ilişkili reaktanları detoksifiye edebilen bir seri ajan (tamamına serbest radikal temizleyicileri denmektedir) ve/veya bu zararlı molekülleri zararsız ürünlere metabolize eden moleküller vardır (örneğin antioksidatif enzimler). Artan kanıtlara göre melatonin direkt olarak serbest radikal temizleyicidir (Allegra ve ark., 2003; Reiter, Acuna-Castroveijo, Tan, & Burkhardt, 2001; Tan ve ark., 2002), ayrıca indirekt antioksidan özelliğide vardır (Reiter, Tan, Osuna, & Gitto, 2000; Rodriguez ve ark., 2004).

Melatonin bir indolamindir. Melatonin bir heterosiklik indol içerir, ayrıca 5-metoksi grubu ve 3-amid grubu olarak adlandırılan iki adet yan zincir bulundurur. Melatoninin kimyasal yapısı Şekil 10'daki gibidir (Tan ve ark., 2002).



Şekil 10. Melatoninin kimyasal yapısı (Tan ve ark., 2002).

Melatonin spesifitesini ve amfifilik özelliğini belirleyen iki önemli fonksiyonel grup içerir; 5-metoksi gurubu ve N-asetil yan zinciri. Özellikle melatoninin amfifilik karakterde olmasından dolayı plasenta ve kan-beyin bariyeri gibi tüm morfofizyolojik bariyerlerden kolayca diffuze olabilir (Carloni, Facchinetti, Pelizzi, Buonocore, & Balduini 2018; Motta-Teixeira ve ark., 2018). Melatoninin çekirdek yapısı serbest radikalleri temizlemek için gerekli olan indol heterosikliktir. Yüksek rezonans kararlılığına ve elektroaktiviteye sahip elektronca zengin indol parçası melatoninin serbest radikal temizleme kapasitesini belirler (Poeggeler, Reiter, Tan, Chen, & Manchester, 1993). Melatonin tüm organizmaya dağılır ve tüm hücrelere kolayca girebilir. Melatoninin dağılımında herhangi bir engel yoktur. Kan-beyin bariyerinin yapısı bazı diğer antioksidanların difüzyonu için engel oluşturabilirken melatonin için bir bariyer oluşturmaz. Melatoninin yüksek oranda yağda çözündüğü bilinmektedir ancak önemli ölçüde suda çözünürlük sergilediği de görülmektedir. Hücre içindeki melatonin, en yüksek seviyede hücre çekirdeğinde ölçülmekle beraber tüm hücre altı bölümlere dağıldığı görülmektedir. Organlar ve hücreler içindeki bu her yere dağılım antioksidan olarak fonksiyon gösteren moleküller için bir avantajdır, böylece tüm molekülleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyabilir. Çoğu antioksidanların aksiyon alanları çözünülebilirliklerine göre sınırlıdır; örneğin E vitamini özellikle lipid etkiliyken C vitamini yalnızca sulu ortamlarda etkilidir. Böylece, melatonin diğer antioksidanlara göre makromoleküler korumada fonksiyon gösterebileceği çevre açısından avantaja sahip olduğu görülmektedir (Huether, Kochen, Simat, & Steinhart, 1998). E vitamini gibi yağda çözünen antioksidanlar özelikle hücre membranı gibi lipid ortamda etkilidir. Ancak E vitamini, nükleusun içi sıvı ortamdan oluştuğundan

dolayı nükleer DNA'yı oksidatif zarardan korumada etkisizdir. Bunun aksine C vitamini, suda kolay çözünebildiği için sitozolde oldukça etkiliyken hücre membranında etkisi oldukça azdır (Reiter ve ark., 2004).

Melatonin başka önemli bir özelliği uygulamasının kolay olması ve hızlıca emilmesidir. Kanda melatonin seviyeleri oral sindirimin ardından hemen yükselir. Ayrıca melatonin tüm oral mukozadan ve intranasal uygulamayı takiben emilir. Son olarak, melatonin toksisitesi, yüksek farmakolojik seviyelerde bile minimal gözükmektedir. Böylece, günlük 1 gr melatonin verilen insanlarda bile, kanda indolaminlerin aşırı yükselmesine sebep olan bir dozdur, günlük uygulanmasını takiben herhangi bir akut toksisiteye sahip değildir ve 30 günlük tedavi periyodunun sonunda olağan dışı metabolik ya da hematolojik paternler üretilmemiştir. Ayrıca, melatonin için her ne kadar bu tür amaçlara yönelik 1200mg/kg doz uygulamaları yapılmış olsa da LD 50 değeri oluşturmak mümkün olmamıştır (Hueter ve ark., 1998).

Melatoninin direkt ve indirekt antioksidan etkisi olduğu bilinmektedir (Barlow-Walden ve ark.,1995; Poeggeler ve ark., 1994). Melatonin indirekt etkisini diğer antioksidan enzimlerin sentezini arttırarak gösterir. Direkt antioksidan etkisini ise karşılaştığı serbest radikallerle etkileşime girerek gösterir. Melatoninin direkt serbest radikal temizleyici aksiyonu reseptör bağımsız iken, indirekt antioksidatif fonksiyonu hücrelerin membranlarında ya da çekirdeklerinde bulunan reseöptörler aracılığıyladır (Reiter ve ark. 2004; Karbownik, & Reiter,2000).

Melatonin çeşitli reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri ve bunun yanı sıra organik radikallerle etkili bir şekilde etkileşime girmesinin yanı sıra, ayrıca antioksidan enzimlerin sentezini arttırır ve pro-oksidan enzimlerin sentezini inhibe eder (Tablo 2'de görüldüğü gibi) (Hardeland, 2005; Hardeland, Pandi-Perumal, & Cardinali, 2006; Suzen, Bozkaya, Coban, & Nebioğlu 2008; Toma´s-Zapico, & Coto-Montes, 2005).

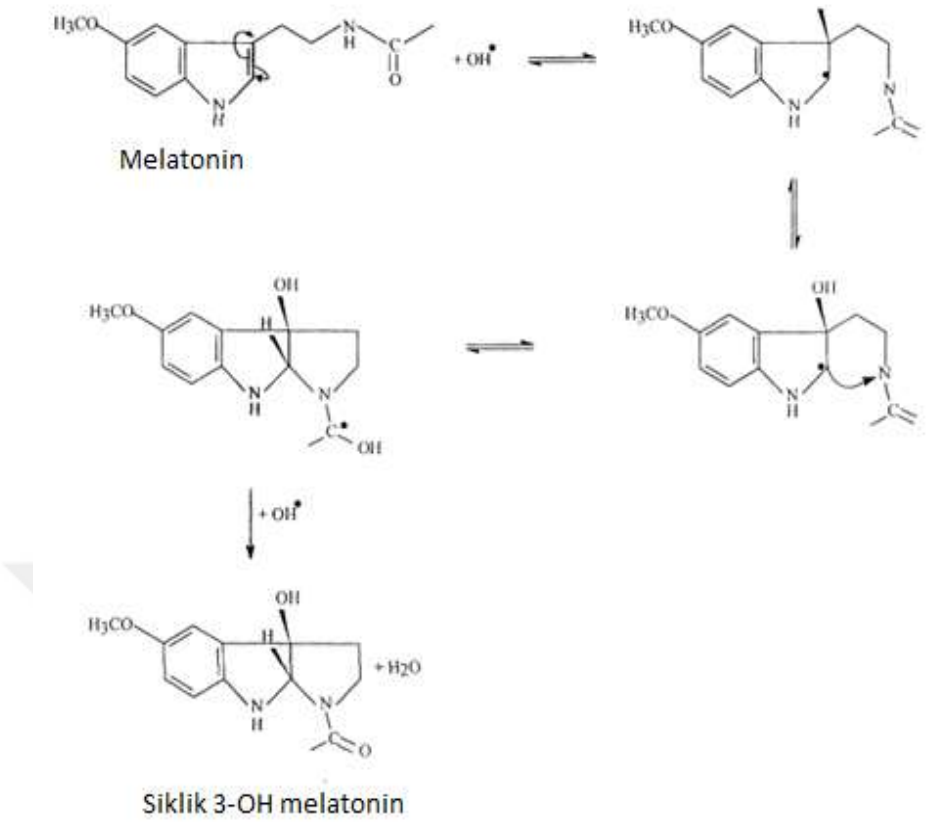
Tablo 2. Melatonin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerine direkt etkisi bunun yanı sıra antioksidatif ve pro-oksidatif enzimler üzerine etkileri (Hardeland, 2005).

ROS/RNS/Enzim	Melatonin Etkisi
ROS/RNS	
Hidrojen peroksit	↓
Hidroksil radikali	↓
Singlet oksijen	↓
Nitrik oksit	↓
Peroksinitrit anyonu	↓
Antioksidatif enzimler	
Süperoksit dismutaz	↑
Katalaz	↑
Glutatyon peroksidaz	↑
Glutatyon redüktaz	↑
Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz	↑
Gama-glutamilsistein sentaz	↑
Pro-oksidatif enzimler	↓
Nitrik oksit sentaz	↓
Lipo-oksijenaz	

Melatonin direkt olarak OH radikali, H_2O_2, tekli oksijeni (O_2) temizler ve lipid peroksidasyonunu engeller. Melatonin, süperokit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz gibi birçok antioksidan enzimin sentezini uyarır. Melatonin glutatyon sentezinde anahtar enzim olarak görev olan γ-glutamilsistein sentaz enzimini uyararak hücre içi glutatyon seviyesini arttırır, ayrıca pro-oksidatif enzimler olan nitrik oksit sentaz ve lipoksijenaz enzimlerini inhibe eder. Melatonin mikrozomal membranları stabilize eder ve böylece oksidatif hasara karşı dirençli olmalarını sağlar (Karbownik, Garcia, Lewinski, & Reiter 2001). Melatonin elektron transport zincirinin etkinliğini arttırır ve sonuç olarak elektron sızıntısını ve serbest radikal üretimini azaltır (Reiter, Tan, Manchester, & Qi 2001). Melatonin 8-hidroksi-2-deoksiguanozin oluşumunu azaltır, bu molekül DNA'ya zarar veren bir moleküldür, melatonin klasik antioksidanlar olan C vitamini ve E vitamini ile kıyaslandığında DNA'yı bu moleküle karşı korumada 60-70 kat daha etkilidir (Qi ve ark., 2000).

Yüksek toksisiteye sahip hidroksil radikali DNA'da oksidatif hasara ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin oluşumuna sebep olmaktadır (Qi ve ark., 2000). 8-hidroksi-2-deoksiguanozin karsinojenez için anahtar biyolojik belirteçtir ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin oluşumu DNA replikasyonu sırasında yanlış birleşmeye neden olmaktadır (Shibutani, Takeshita, & Grollman 1990; Qi ve ark., 2000). İn vitro çalışmalarda hidroksil toksisitesini azaltmada melatoninin, glutatyon ve mannitole oranla daha etkili olduğu gösterilmiştir (Poeggeler ve ark., 1994).

Melatoninin yüksek toksisiteye sahip hidroksil (OH) radikalini nötralize ettiği birçok raporda doğrulanmıştır (Anisimov ve ark., 2006; Karbownik, & Reiter, 2000; Kozina, Arutjunyan, & Khavinson 2007; Reiter ve ark., 2003; Reiter ve ark., 2004; Reiter, Tan, & Burkhardt 2002; Tan ve ark., 2002). Melatonin iki adet hidroksil radikalini kendine bağlar ve sonuç olarak siklik-3-hidroksimelatonine (siklik-3-OHM) dönüşür (Allegra ve ark., 2003; Karbownik, & Reiter, 2000; Reiter, Tan, & Burkhardt 2002). Bu yolakta, bir molekül hidroksil radikali yakalanır ve melatoninin indol halkasının 3. pozisyonuna eklenerek 3-hidroksimelatonin nötral radikali şekillenir, daha sonra molekül içi tekrar düzenleme ile siklik 3-hidroksimelatonin radikali oluşur. Melatoninin indol halkasının 2. karbonu ile yan zincirdeki nitrojen atomu arasında bağ kurulurak molekül siklik hale gelir. Son olarak siklik 3-hidroksimelatonin radikali ikinci bir hidroksil radikaliyle etkileşime girerek siklik 3 –hidroksimelatonin ve bir molekül su açığa çıkar (Tan ve ark., 1998). Siklik 3-hidroksimelatonin oluşumu ve hidroksil radikalini temizleme yolağı Şekil 11'de gösterilmiştir (Allegra ve ark., 2003).

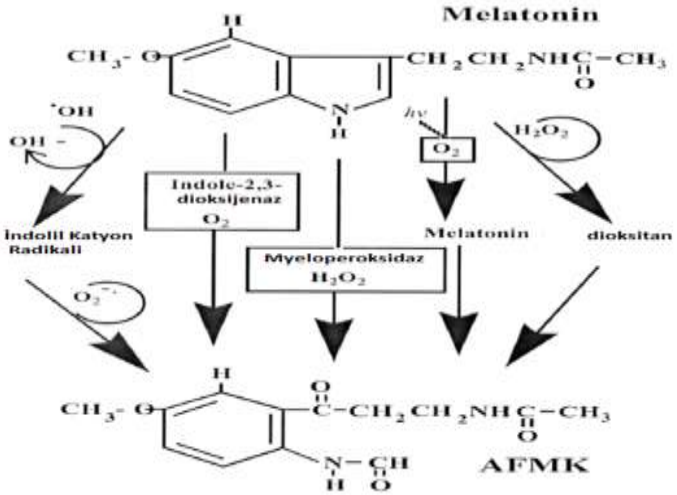


Şekil 11. Melatoninin hidroksil radikali ile etkileşim yolağı (Allegra ve ark., 2003).

Melatoninin direkt antioksidan etkisi sadece elektron vericisi olarak fonksiyon görmesi değil ayrıca buna ek olarak melatoninden N-asetil-N-formil-5-metoksiykynuramine (AFMK) ve N-asetil-5-metoksikynuramine (AMK) gibi koruyucu metabolitlerin oluşumu söz konusudur. Son zamanlarda mitokondriyal metabolizma üzerine yapılan çalışmalar melatonin ve AMK 'nin solunum zinciri boyunca elektron akışını desteklediğine işaret eder ayrıca mitokondriyal membran potansyelinin kırılmasını önlerler, elektron sızıntısını azaltırlar ve böylece superoksit anyon olşumunu inhibe ederler (Hardeland, 2005).

AMFK, endojen üretrilen bir amindir, melatonin metabolitidir ve ayrıca kyunuramine ailesinin bir üyesi olarak sınıflandırılır. Elde edilen kanıtlara göre melatonin AMFK 'ya enzimatik ya da oksidatif yolaklar sayesinde metabolize olur. 1974 yılında Hirata ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, in vitro ve in vivo, epifiz bezinin ana ürünü olan melatoninin sıçan beyninde enzimatik olarak AMFK' ya çevrildiğini göstermişlerdir (Hirata, Hayaishi, Tokuyama, & Senoh, 1974). Bu dönüşümü sağlayan enzim indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimidir ve melatonini

parçalayarak AMFK oluşumunu sağlar. Yirmi yıl sonra, Hardeland ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara göre hidroksil radikali varlığında melatonin bir elektron vererek reaktantı nötralize eder ve sonuç olarak melatonil radikali şekillenir (Hardeland, Reiter, Poeggeler, & Tan, 1993). Bu melatonil radikali süperoksit anyonu ile etkileşime geçer ve AMFK oluşur. Son zamanlarda, araştırmacılar AMFK oluşumunda birçok farklı yolak tanımlamışlardır. Oliveira ve arkadaşlarının gözlemlerine göre aktive olan nötrofillerde miyeloperoksidazın katalizlediği oksidasyon ile melatonin AMFK'ya dönüştürülür (Silva, Ximenes, Catalani, & Campa, 2000). Enzimatik reaksiyondan farklı olarak Andrisano ve arkadaşları, AMFK ile birebir aynı yapıda bir melatonin metaboliti tanımlamışlardır (Andrisano, Bertucci, Battaglia, & Cavrini). Bu metabolitin melatoninin fotodegradatif ürünü olduğunu iddia etmişlerdir. (Aslında bu metabolit AMFK idi). Oksijen kullanımıyla beraber melatoninin AMFK'ya oksidatif dönüşümü için fotonlar gerekli enerjiyi sağlamaktadırlar. Son zamanlarda gösterildi ki melatonin direkt olarak hidrojen peroksitle etkileşime girebilir ve AMFK şekillenebilir (Tan ve ark., 2000). AMFK, prekürsörü olan melatoninden enzimatik ve enzimatik olmayan birçok yolak vasıtasıyla üretilmesi Şekil 12'de gösterilmiştir (Şekil 12) (Tan ve ark., 2001).



Şekil 12. Melatoninden AMFK oluşum yolakları. OH = Hidroksil radikali, O2- = Süperoksit anyonu, H2O2= Hidrojen peroksit (Tan ve ark., 2001).

Daha sonra AMFK, arilamin formamidaz ve katalaz yolakları vasıtasıyla AMK metabolitine dönüşebilir (Tan ve ark., 2000). Elektrofizyolojik ve biyokimyasal deneylere göre melatoninin sinir hücrelerini koruyucu özellikte bir molekül olmasının

sebeplerinden bir tanesi nitrik oksit sentaz enzimini (nNOS) inhibe etmesidir ve böylece nitrik oksit (NO) üretimini azaltır (Escames, Leon, Lopez, & Acuna-Castroviejo, 2004; Leon ve ark., 2000). Yapılan bazı çalışmalara göre nNOS inhibisyonunda asıl sorumlu olan melatoninin kendisi değil metabolitidir (Escames ve ark., 2001; Escames, Leon, Lopez, & Acuna-Castroviejo, 2004; Leon ve ark., 1998). Çalışmalardan elde edlilen en çarpıcı sonuç AMK 'nın melatonine kıyasla nNOS aktivitesi üzerine çok daha güçlü inhibitör etki yapmasıdır (Leon ve ark., 2006).

AMFK, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin oluşumunu inhibe etmektedir, lipid peroksidasyonunu azaltır ve ayrıca hipokampal nöronları oksidotoksik hücre ölümünden kurtarır (Burkhardt ve ark., 2001; Tan ve ark., 2001). AMFK'nın deformile ürünü AMK çok daha ilgi çekicidir ve bunun için birkaç sebep vardır: ilk olarak radikal temizleyici özelliği önemli ölçüde AMFK'dan fazladır (Hardeland, 2005) ve ikinci olarak asetilsalisilik asitten çok daha güçlü bir şekilde siklooksijenaz inhibitörü olarak hareket eder (Kelly, Amato, & Seamark, 1984).

Ayrıca, melatoninden sentezlenen kynuraminlerin özellikle karaciğer dışı dokularda oldukça önemli olduğu gözükmektedir. Eski literatür bilgilerine göre neredeyse melatoninin hepsi karaciğerde 6-hidroksimelatonine metabolize olduğu söylenmektedir ve sonra konjugasyona uğrayıp atıldığından bahsedilir (Bubenik, 2001; Bubenik, 2002; Huether ve ark., 1998; Messner, Hardeland, Rodenbeck, & Huether, 1998). Son zamanlardaki tahminlere göre, tüm melatoninin yaklaşık %30 kadarı pirol halkasının parçalanması ile sonuçlanan indirgenmeye uğramaktadır (Ferry ve ark., 2005). AMK, merkezi sinir sisteminde melatoninin ana metaboliti olarak tanımlanmıştır (Hirata ve ark., 1974). Melatonin sisterna magna içerisine enjekte edildiği zaman, yaklaşık %35'i AMK metabolitine dönüşür. AMFK ve AMK beyinde melatoninden şekillenen ürünlerdir ve 6-hidroksi melatonin beyinde saptanmamıştır (Tricoire, Locatelli, Chemineau, & Malpaux, 2002).

2.14. Melatoninin Sinir Koruyucu Rolü

Son zamanlarda, serbest radikal temizleme özelliği olan birçok madde sinir koruyucu olarak araştırılmıştır ve melatonin bu konuda dikkatleri üzerine çekmiştir. Melatonin konsantrasyonu nörolojik koşullara göre değişiklik göstermektedir (Bazil, Short, Crispin, & Zheng, 2000; During, & Spencer, 1992).

Merkezi sinir sistemi beynin yüksek oksijen tüketimi, bol lipid içeriği, ve diğer dokulara kıyasla antioksidan enzimlerin azlığı sebebiyle oksidatif hasara karşı savunmasızdır (Skaper, Floreani, Ceccon, Facci, & Giusti, 2006). Ayrıca beyin, sitoplazmik orana kıyasla yüksek membran yüzey oranına sahiptir, uzayan aksonal morfoloji yaralanmaya eğilimlidir ve sinir hücrelerinin çoğalma özelliği yoktur. Reaktif oksijen türleri kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini artırır, tubulin oluşumunu değiştirir ve mitokondriyal solunumu engeller. Ayrıca elde edilen kanıtlara göre reaktif oksijen türleri uyarıcı aminoasitlerin hücre dışına salınımını uyarır (Gilman, Bonner, & Pellmar, 1993). Glutamat beyinde ana uyarıcı aminoasittir. Glutamat çeşitli iyonotropik tipte reseptöre bağlanır, bunların en önemlisi N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörüdür. Reaktif oksijen üretimi ve uyarıcı aminoasitlerin salınımı arasında çift yönlü bir ilişki olduğu görünmektedir (Coyle, & Puttfarcken, 1993). Beyinde serbest radikal üretimi gen ekspresyonunu etkiler, daha sonra apoptozise ve sinir hücrelerinin ölümüne sebep olur (Gilgun-Sherki, Rosenbaum, Melamed, & Offen, 2002).

İnsanlarda beyin üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre oksidatif stres Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, felç, serebral iskemi, multiple sklerozis, Huntington koresi, tardif diskinezi, amyotrofik lateral sklerozis gibi çeşitli nörolojik rahatsızlıklarda önemli rol oynamaktadır (Bondy, 1995). Serbest radikallerin statüsü birçok nörolojik rahatsızlıkta dejeneratif süreçle yakından ilişkilidir ve serbest radikallerin azalması birçok bilim insanına göre hücre dejenerasyonunun gelişimini önler (Gupta, Gupta, & Kohli, 2003).

Glutamat, basit bir aminoaisttir, sinir sistemi için zorunludur ve sinaps adı verilen özel birleşme yerlerinde bir nörondan diğerine uyarının iletiminde görevlidir. Bir nörondan glutamat salınımı sıkı bir şekilde kontrol edilir, bitişik nörondaki glutamat reseptörleriyle eşleşir ve beyindeki sinasplarda sinaptik iletişim şekillenir (Furukawa, Singh, Mancusso, & Gouaux, 2005). Glutamat merkezi sinir sisteminde ana uyarıcı nörotransmiterdir. Glutamat öğrenme, hafıza, sinaptik esneklik ve diğer bilişsel fonksiyonlar gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli görevleri vardır (Albright, Jessell, Kandel, & Posner, 2000; Wen ve ark., 2017). Merkezi sinir sisteminde uyarıcı nöronların çoğu glutamerjiktir ve yarısından fazlası nörotransmiter olarak glutamat kullanır (Howes, McCutcheon, & Stone, 2015; Krebs, 1935). Glutamatın fonksiyonel çeşitliliği iyonotropik ve metabotropik olarak kategorize

edilen iki farklı reseptör ailesinin varlığıyla açıklanabilir. İyonotropik reseptörler katyon spresifik iyon kanalları içerir, metabotropik reseptörler ise G proteinleri vasıtasıyla hücre içi sinyalleşme ile fonksiyon gösterir. İyonotropik reseptörler farklı tipte iki alt birime ayrılır: NMDA ve non-NMDA reseptörleri, non-NMDA reseptörleri ise α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol-propiyonik asit (AMPA) ve kainat (KA) reseptörlerinden oluşur (Moriyoshi ve ark., 1991). Glutamat postsinaptik hüre yüzeyindeki reseptörleriyle etkileşir ve böylece hücre zarı depolarize edilerek aksiyon potansyeli oluşur (Rueda ve ark., 2016). Glutamat kan-beyin bariyerini geçemez, merkezi sinir sisteminde bulunan glutamatın tümü burada üretilir. Glutamat presinaptik nöronlarda glutaminaz enzimi vasıtasıyla glutaminden ya da glutamat dehidrojenaz enzimi aracılığıyla α-ketoglutarattan sentezlenir. Sentezlenen glutamat veziküler taşıyıcı tarafından veziküller içine alınır. Daha sonra, presinaptik depolarizasyona cevaben ekzositoz ile vezikül içeriğinin sinaps boşluğuna salınması glutamat konsantrasyonunda artışa sebep olur (Olsen, & Sonnewald, 2014; Schousboe, Scafidi, Bak, Waagepetersen, & McKenna, 2014). Sinaptik aralıktaki glutamat konsantrasyonu sinaptik aktiviteyle beraber artar fakat ekstrasellüler glutamat konsantrasyonu glutamat taşıyıcı aracılığıyla glutamat alımı ile korunur (Kanamori, 2017; Zhao ve ark., 2016). Sinaptik iletim boyunca kullanılmayan glutamat ekstrasellüler boşluktan hızla temizlenmelidir (Mahmoud, Gharagozloo, Simard, & Gris, 2019). Sinaptik ve ekstra-sinaptik boşluklarda glutamatın fazlası sinirsel aşırı uyarıma ve sonrasında sinir hücrelerinin ölümüne sebep olur, bu süreç glutamat eksitotoksisitesi olarak bilinir ve merkezi sinir sisteminin çoğu yangısal ve nörodejeneratif hastalıklarıyla beraber seyreder (Dong, Wang, & Qin, 2009). Glutamatın aşırı artışı glutamat reseptörlerinin aktivasyonlarının uzamasına sebep olur ve hücre içi aşırı kalsiyum artışı yoluyla eksitotoksisiteye neden olur. Bu durum nörodejenerasyon, proteaz aktivasyonu ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunda önemli rol oynar. Ayrıca reaktif oksijen türleride hücre içi aşırı kalsiyum artışına sebep olur ve sinir hücrelerinin ölümü gözlemlenir (Zhao, Ji, Liu, & Yu, 2015). Glutamatın indüklediği toksisite amyotrofik lateral sklerozis, Alzheimer hastalığı, Huthington hastalığı, Parkinson hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar (Mehta, Prabhakar, Kumar, Deshmukh, & Sharma, 2012; Jia, Sun, Su, & Chen, 2016). Glutamatın temizlenmesi glutamat alım taşıyıcıları vasıtasıyla

astrositler tarafından gerçekleştirilir (Mahmoud, Gharagozloo, Simard, & Gris, 2019). Nöronal hücre ölümlerine sebep olan en önemli faktörlerden biri de oksidatif stressdir. Aşırı glutamat konsantrasyonu, glutatyon sentezini inhibe ederek ve reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırarak oksidatif stresse neden olur (Floyd & Hensley, 2002; Song, Kang, & Choi, 2017). Önceden yapılan farmakolojik çalışmalara göre glutamat reseptör protreinleri, sentetik NMDA agonistlerine oluşan cevaba dayanan iki sınıfa ayrılmıştır (Watkins, & Evans, 1981). Sonradan glutamat reseptör genlerinin klonlanması ve protein dizilerinin analizi NMDA ve non-NMDA reseptör kümelerinin iki farklı protein ailesi olarak ayrılmasını kolaylaştırdı (Boulter ve ark., 1990; Hollman, O'Shea-Greenfield, Rogers, & Heinemann, 1989; Keinanen ve ark.,1990; Moriyoshi ve ark., 1991; Werner, Voigt, Keinanen, Wisden, & Seeburg, 1991). α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol-propiyonik asit (AMPA) ve kainat (KA) reseptör alt tipleri non-NMDA reseptörler olarak gruplandırılmıştır. NMDA ve non-NMDA reseptölerinin her ikisinide uyarılması nöronal hasarı tetikler ve serbest radikal oluşumunu uyarır (Choi, 1988; Bondy, & Lee, 1993).

NMDA reseptörleri sıra dışı iyon kanallarıdır çünkü aktivasyonu için sadece glutamat ve glisin adlı iki agonistin bağlanması yetmez, ayrıca membran depolarizasyonu ile magnezyum bloğunun azalmasına ihtiyaç duyar (Mayer, Westbrook, & Guthrie 1984). NMDA reseptörleri farmakolojik olarak beş farklı bölümden oluşur. Bu bölümler glutamat bağlanma bölgesi, glisin bağlanan düzenleyici bölge, fensiklidin gibi kanal blokörlerinin bağlandığı kanalda bir bölge, voltaj bağımlı magnezyum bağlanan bölüm ve çinko bağlanma bölümünden oluşur (Moriyoshi ve ark., 1991). NMDA reseptörlerinin açılması kalsiyum akışına sebep olur ve NMDA reseptöleri boyunca oluşan kalsiyum geçirgenliği (Macdermott, Mayer, Westbrook, Smith, & Barker, 1986) sinyal dönüşüm kaskadını başlatır (Forsythe, & Westbrook, 1988; Vicini ve ark., 1998). Uyarıcı aminoasit reseptörlerinin aktivasyonu hücre içi kalsiyum artışına sebep olur bunu takiben protein kinaz, fosfolipaz, proteaz gibi enzimler aktive olur, nitrik oksit sentezi artar, mitokondriyal fonksiyonlar bozulur ve serbest radikal üretimi artar (Schulz ve ark., 1995).

2.15. Uykunun Düzenlenmesi ve Melatonin

2.15.1. Uyku fenomolojisi ve fonksiyonu

Uyku temel olarak, hızlı göz hareketi (REM) ve hızlı göz hareketi olmayan (NREM) bölümlerini içeren iki durumda meydana gelir ve bu durumlar birbirinden belirgin şekillerde farklıdır. NREM uyku ve REM uyku, ultradyan frekansta (yaklaşık 24 saat) salınır. Uyku ile uyanıklık arasındaki değişimler sirkadiyen sistem (yaklaşık 24 saat) ve uyku kısıtlaması ile uyku yoksunluğundan kurtarma süreçlerini düzenleyen homeostatik süreçler tarafından modüle edilir. Uykuyu düzenleyen homeostatik mekanizmaların nörokimyasal temelleri hala keşfedilmeyi beklemektedir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Bilişsel fonksiyon, motor kontrol, duyusal girdi ve otonom düzenleme, uyku sırasında önemli ölçüde değişir ve uykusuzluk tarafından olumsuz yönde etkilenir. Gündüz performansının en iyi öncülerinden biri, önceki gece uykusunun kalitesidir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Tüm plasental ve karasal memelilerin, insanlarınkine benzer uyku durumları ve özellikleri vardır. Bu nedenle, hayvan modelleri, uyku ve uyanıklık oluşturan nörokimyasal ve nörofizyolojik mekanizmalar hakkında anlayış sağlamak için son derece yararlıdır. Örneğin, hayvanlardaki çalışmalar, REM uykusu sırasında beynin uyanıklık durumundaki kadar aktif olduğunu ilk kez gösterdi; bu bulgu daha sonra non-invaziv beyin görüntüleme yöntemleri kullanılarak insanlarda da doğrulandı. Uyku bozuklukları tıbbı, uykuyu düzenleyen nörokimyasal mekanizmaları aydınlatma ve çeşitli ilaçların uyku üzerindeki etkilerini anlama imkanı sağlayan hayvan modelleri ile hala gelişmektedir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

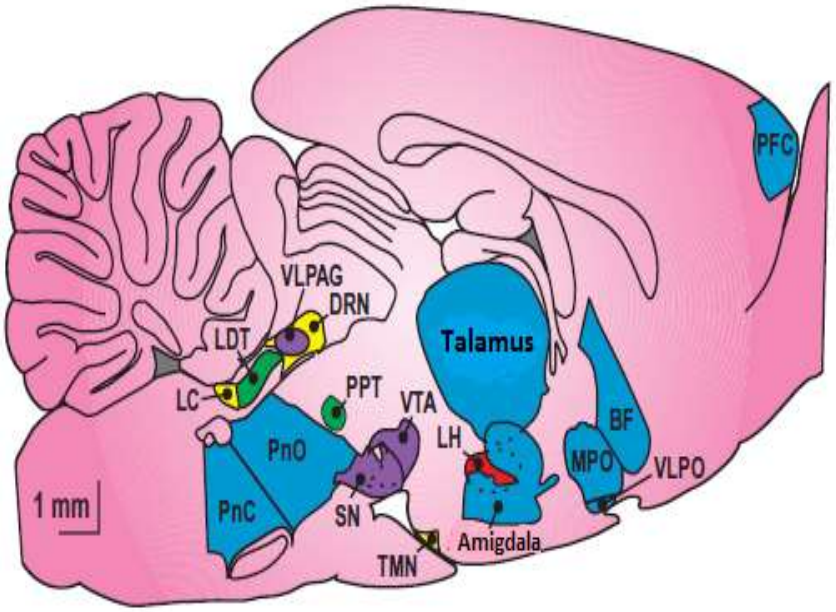
2.15.2. Uyku fonksiyonları hala esrarengizdir

Uykunun fonksiyonlarıyla ilgili birçok teori önerilmiş olsa da, hiçbiri evrensel kabul görmemiştir. Uykunun dinlenme sağladığına dair yaygın görüşler kanıtlanması zor olmuş ve REM uykusu sırasında beyinin metabolik olarak son derece aktif olduğu bulgularıyla çelişmiştir. Uyku fonksiyonlarıyla ilgili teoriler, uykunun bir tür hareketsizlik durumu olarak davranışı düzenleyen bir durum olduğu, aktivite durumunun uygun olmadığı durumlarda önemli bir düzenleyici olarak işlev gördüğü, hafıza konsolidasyonu için zorunlu olduğu, beyin gelişiminde önemli bir rol oynadığı

ve sinaptik homeostazı sürdürmek için gerekliliği gibi geniş bir yelpazede bulunmaktadır (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

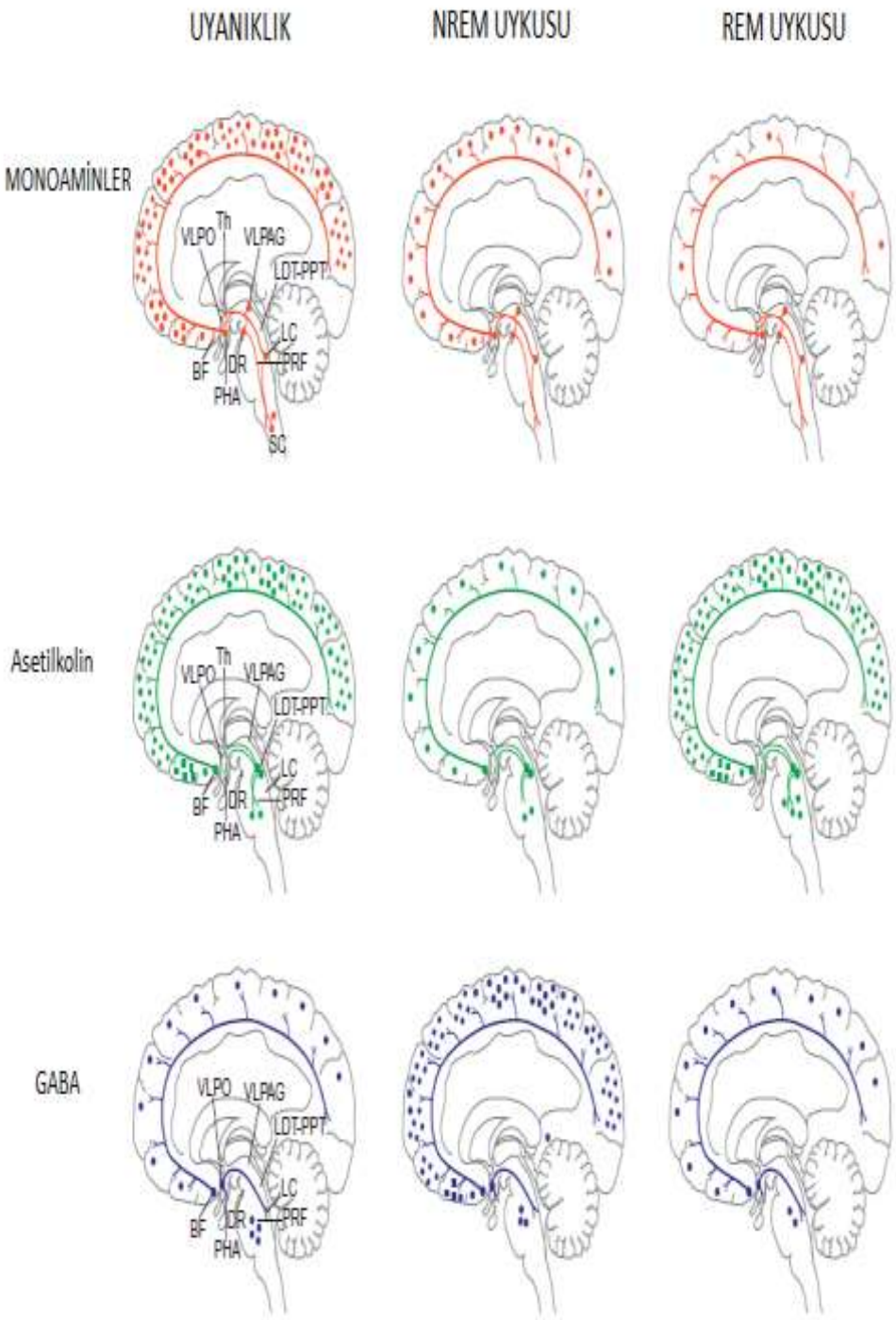
2.15.3. Uyanıklığı teşvik eden nörotransmitterlerin sayısı, uykuyu indükleyenlerden daha fazladır

Bu durum, uyanıklığın çok çeşitli bir durum olması ve uyanık organizmanın birçok karmaşık davranışa yetenekli olması gerektiği gerçeğinden kaynaklanabilir. Başlıca uyanıklığı teşvik eden nörotransmitterler arasında (ve bu nörotransmitterleri salgılayan nöronları içeren beyin bölgeleri) (Şekil13), serotonin (dorsal rafe çekirdeği); norepinefrin (lokus seruleus); histamin (posterior hipotalamus tuberomammiller çekirdeği); dopamin (ventral tegmental alan, substantia nigra pars kompakt, ventral periakuaduktal gri madde); glutamat (bazal forebrain, laterodorsal ve pedunkülopontin tegmental çekirdekler, pontin retiküler formasyon); hipokretin/oreksin (lateral hipotalamus); ve asetilkolin (bazal önbeyin, laterodorsal ve pedunkülopontin tegmental çekirdekler) sayılabilir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 13. Bu görsel sıçan beyninin sagittal (yan görünüş) şematik bir tasvirini içeriyor ve uykuya bağlı beyin bölgelerini gösteriyor. Kısaltmalar: BF, bazal önbeyin; DRN, dorsal rafe çekirdeği; LC, lokus seruleus; LDT, laterodorsal tegmental çekirdek; LH, lateral hipotalamus; MPO, medial preoptik alan; PFC, prefrontal korteks; PPT, pedunkülopontin tegmental çekirdek; PnC, pontin retiküler formasyon, kaudal kısım; PnO, pontin retiküler formasyon, oral kısım; SN, substantia nigra; TMN, tuberomammiller çekirdek; VLPAG, ventrolateral periaqueductal gri; VLPO, ventrolateral preoptik alan; VTA, ventral tegmental alan (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Uyku ve uyanıklık durumlarını düzenleyen tek bir nörotransmitter veya beyin bölgesi bulunmamaktadır. Bazı nörotransmitterler birden fazla durumu düzenler. Örneğin, asetilkolin hem REM uykusunu teşvik eder hem de uyanıklığı düzenler. Şekil 14 monoaminerjik, kolinerjik ve GABAerjik nörotransmisyonun uyku durumuna bağlı doğasını şematize eder ve bu nörotransmitter sistemlerinin birden fazla beyin bölgesini etkilediğini vurgular. NREM uyku teşvik eden nörotransmitterler arasında GABA (hipotalamusun anterior kısmındaki medial ve ventral preoptik bölgeler) ve nöromodülatör adenozin bulunmaktadır. Uyku ve uyanıklık, çeşitli nörotransmitter sistemleri ile beyin bölgeleri arasındaki karmaşık etkileşimlerin bir sonucudur. Bu karmaşık ağ etkileşimleri nedeniyle, uyku artırıcı veya uyanıklığı sürdürmeye yönelik yeni ilaçlar, birden fazla nörotransmitter sistemi üzerinde etki gösterdiği taktirde etkili olacaktır. Bu karmaşıklık aynı zamanda diğer tıbbi durumları tedavi etmek için alınan birçok ilacın uykuyu olumsuz etkilediği gerçeğini hatırlatır. Uykunun nörokimyasal kontrolünün tam anlaşılması, uyku-uyanıklık döngüsü boyunca nörotransmitter salınımındaki değişikliklere ve bu salınım modellerinin beyin bölgeleri arasındaki farklılıklara dair bilgi gerektirir. Nörotransmitter salınımındaki duruma bağlı değişiklikleri etkileyen faktörler arasında her bir nörotransmitteri salan nöronlar tarafından alınan girdiler, bu nöronlar tarafından eksprese edilen reseptörler ve reseptör tarafından aktive edilen sinyal iletim kaskadları yer alır. Bu nörokimyasal kontrol mekanizmaları bozulduğunda, sonuçta düzensiz uyku ortaya çıkar (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 14. Çizimler, uyku ve uyanıklığa bağlı olarak beyin korteksi ve pontin retiküler formasyondaki monoaminerjik, kolinerjik ve GABAerjik nörotransmisyonlardaki duruma bağlı değişiklikleri şematize eder. Renkli çizgiler, monoaminerjik (kırmızı), kolinerjik (yeşil) ve GABAerjik (mavi) nöronlardan kimyasal olarak kodlanmış yansımaları temsil eder. Şematize edilen nöron uçları etrafındaki renkli noktaların yoğunluğu, nörotransmitter salınımının uyku ve uyanıklık fonksiyonu olarak değiştiğini gösterir. Hücre boşaltma aktivitesinde duruma bağlı değişiklikler, birden fazla laboratuvar tarafından doğrulanmıştır ve Steriade & McCarley'nin (2005) mevcut hücre tabanlı, matematiksel uyku döngü kontrol modelinin temelini oluşturur. Kısaltmalar: DR, dorsal rafe çekirdeği; PHA, posterior hipotalamik alan; PRF, pontin retiküler formasyon; SC, omurilik; Th, talamus (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

2.15.4. Melatoninin uyku üzerine muhtemel etkileri olan molekülleri düzenler ve sirkadiyen ritmi kontrol eder

2.15.4.1. Melatoninin uyku düzenlenmesinde görevi olan momoaminler ile ilişkisi

2.15.4.1.1. Melatonin ve serotonin ilişkisi

Artan kanıtlar, melatonin reseptör alanlarının birçok beyin bölgesinde varlığını göstermektedir (Laudon, Nir, & Zisapel, 1988) ve bunun yanında özellikle serotonerjik sistem olmak üzere beyinin monoaminerjik sisteminin düzenlenmesine melatoninin aracılık ettiğini ortaya koymaktadır (Cardinali, Vacas, Sarmiento, & Morguenstern, 1983). Birçok çalışma, melatonin ile merkezi serotonin (5-HT) fonksiyonu arasında ki etkileşimi göstermiştir. Bu nedenle, melatonin ve analoglarının uygulanmasının, sıçanlarda uyku-uyanıklık düzenlemesinde rolü olan 5-HT2A ajanlarına duyarlılığı düzenlediği ve diğer 5-HT ile indüklenen davranış durumlarını modüle ettiği rapor edilmiştir (Dugovic, Leysen, & Wauguier, 1989; Eison, Freeman, Guss, Mullins, & Wright, 1995). Serotoninin, melatonin tarafından indüklenen davranışsal değişiklikleri (lokomotor aktivite, koklama) inhibe ettiği bulunmuş ve 5-HT antagonistlerinin enjeksiyonu, melatonin ile tedavi sonrasında görülenlere benzer davranışsal tepkilere neden olmuştur (Gaffori, & Ree, 1985). Son zamanlarda, pinealektominin ve melatoninin belirli hipotalamik alanlarda 5-HT metabolizması ve 5-HT sinaptik fonksiyonunda çeşitli değişikliklere neden olduğunu gösteren kanıtları raporlanmıştır. Bu değişikliklerin, melatoninle ilişkilendirilen nöroendokrin ve davranışsal eylemlerle ilgili olabileceği düşünülmektedir (Miguez, Martin, & Aldegunde, 1997).

Terminal serotonerjik bölgelerdeki 5-hidroksi indol asetik asit (5-HIAA) (Serotoninin majör oksidatif metaboliti) konsantrasyonlarının, serotonerjik nöronlar dışında salınan ve metabolize edilen 5-HT'den kaynaklandığına inanılmaktadır (Houdouin, Cespuglio, Gharib, Sarda, & Jouvet, 1991; Celada, & Artigas, 1993). Bu nedenle, 5-HIAA konsantrasyonları ve 5-HIAA/5-HT oranı, serotonerjik nöronların fonksiyonel aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılmıştır. Bu sonuçlar, bir aylık pinealektomi'nin ventral ve dorsal striatumun serotonerjik nöronlarının aktivitesini artırdığını göstermektedir, çünkü 5-HIAA seviyeleri ve 5-HIAA/5-HT oranı artmıştır. Bu bulgu, pinealektominin beyinde spontan nöronal aktiviteyi artırdığını (Nır, Behroozi, Assael, Ivriani, & Sulman, 1969) ve özellikle striatal nöronlarda artırdığını

gösteren gözlemlerle uyumludur (Castillo-Romero, Vives-Montero, Reiter, & Acuna-Castroviejo, 1993). Ancak pinealektomi, triptofan hidroksilasyon hızında değişikliğe neden olmamıştır ve bu durum artan nöronal aktivitenin artan 5-HT sentezi ile ilişkilendirilmiş olduğu düşüncesiyle uyumsuz görünmektedir (Boadle-Biber, Johannessen, Narasimhachari, & Tam-Hao Phan, 1983). Bu veri pinealektominin, 5-HIAA içeriği üzerindeki etkilerinin nöronal deşarj aktivitesinin düzensizleşmesini yansıtmayabileceğini, ancak temelde serotonerjik sinir uçlarındaki intra- veya extranöronal metabolizmada meydana gelen değişiklikleri yansıtabileceğini öne sürmektedir. Gerçekten de, pinealektominin sıçan hipotalamusundaki monoamin oksidaz aktivitesini uyardığı, in vitro melatoninin ise inhibe ettiği bulunmuştur, ki bu, mevcut 5-HIAA oluşumu üzerindeki sonuçlarla uyumludur (Urry, & Ellis, 1975). Ayrıca, pinealektomi ve melatonin'in sırasıyla hipotalamik sinaptazomlardan 5-HT alımını engellediği ve 5-HT salınımını artırdığı bulunmuştur (Cardinali, Nagle, Freire, & Rosner, 1975; Miguez, Martin, & Aldegunde, 1995), bu tespitler melatoninin sinapsın içindeki aminin varlığını ve oksidatif deaminasyonunu kontrol eden nöronal süreçler üzerinde bir etkisi olduğunu göstermektedir (Miguez ve ark., 1997).

Melatonin enjeksiyonlarının, kemirgenlerin striatumundaki 5-HT döngüsünü etkilediği gösterilmiştir (Alexiuk, & Vriend, 2008; Quay, 1989). Mevcut veriler melatonin tedavisinin, sıçanlarının striatumundaki 5-HIAA seviyesini normalize ettiğini göstermektedir. Ancak, melatonin tedavisi gören sıçanlarda artan 5-HTP birikim hızını gözlemlenmiştir, bu da melatonini eksik olan hayvanlarda 5-HT sentezinde değişiklik olmamasıyla uyumsuzdur. Bu veriler ekzojen melatoninin, pineal melatonin ile ilgili olanlara ek olarak nöronal fonksiyon üzerinde ek etkilere sahip olma olasılığını gündeme getirir. Aslında, burada tanımlanan 5-HT sentezi üzerindeki etki, son enjeksiyondan sonra kısa bir süre boyunca suprafizyolojik melatonin konsantrasyonlarından kaynaklanan kısmen bir farmakolojik etkiyi temsil edebilir. Ekzojen melatoninin ek etkilerinin temelinde başka bir olası faktör, uzun süreli pinealektomi veya sürekli gece melatonin pikinin eksikliği kaynaklı 5-HT sistemindeki ikincil trofik değişikliklerin varlığı olabilir. Ancak bu olasılık düşük görünmektedir, çünkü melatonin ile günlük tedavilerin, sıçanlarda beyin 5-HT ve 5-HIAA içeriği üzerinde benzer etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Miguez, Martin, & Aldegunde, 1994). Bu tür olasılıkların netleştirilmesi gereklidir, ancak mevcut

veriler, günlük melatonin tedavisinin 5-HT metabolizması üzerindeki çoğu pinealektomi etkisini tersine çevirebildiğini onaylamakta (Miguez ve ark., 1994; Miguez ve ark., 1995; Quay, 1989) ve striatum 5-HT'nin, epifiz ile ilgili etkilerde ve melatonin tarafından indüklenen davranışsal değişikliklerde bir rol oynadığı görüşünü desteklemektedir (Miguez ve ark., 1997).

Orta beyin dorsolateral ve median rafe çekirdekleri, 5-HT bakımından en zengin beyin bölgelerinden biridir (Miguez ve ark., 1997) ve çoğu önbeyin yapısını innerve eden serotonerjik liflerin büyük çoğunluğuna köken sağlar (Jacobs, & Azmitia, 1992). Pinealektomi, dorsal rafe çekirdek (DRN) ve medyan rafe çekirdek (MRN) bölgelerinde hem 5-HT hem de 5-HIAA seviyelerini veya aminin sentezini değiştirmedi. Ancak, melatonin tedavisi sonrasında her iki bölgede de 5-HIAA içeriğinde önemli bir azalma gözlemlendi. Dorsal rafe çekirdeği (DRN) ve medyan rafe çekirdeği (MRN) içindeki birçok 5-HT içeren dendrit demetlerinin varlığı (Feiten, & Harrigan, 1980) ve DRN'de özel 5-HT sinaptik bağlantıların meydana gelmesi nedeniyle, rafe çekirdeklerindeki 5-HT'nin lokal dendritlerde salındığı ve deaminasyona uğradığı öne sürülmüştür (Saavedra, Brusco, Peressini, & Oliva, 1986). Bu veriler, ekzojen melatoninin, sadece uzak serotonerjik uçlarda değil, aynı zamanda rafe serotonerjik hücre gövdelerinin dendritlerinde de oksidatif metabolizmayı azaltarak 5-HT'nin ekstrasellüler içeriğini artırabileceğini düşündürmektedir. Otoradiografik çalışmalar, somatodendritik 5HT1A reseptör alanlarının yüksek yoğunlukta olduğu alanları ortaya çıkarmıştır ve ayrıca postsinaptik limbik bölgelerde bu reseptörler yoğunluktadır (Pazos, & Palacios, 1985). Rafe çekirdeğinde, bu reseptörlerin 5-HT agonistleri tarafından aktive edilmesi, 5-HT nöronlarının ateşleme hızında ve projeksiyon bölgelerinden 5-HT salınımında bir azalmaya yol açar (Hjorth, & Sharp, 1991). Bu nedenle mevcut veriler, melatoninin ön beyindeki 5-HT nöron fonksiyonu üzerindeki inhibe edici etkisinin, 5-HT oksidatif deaminasyonunun inhibe edilmesi sonrasında medyan ve dorsal rafe'de ekstrasellüler 5-HT'nin artışına bağlı olarak somatodentritik 5HT1A reseptörlerindeki aktivasyon artışından kaynaklandığı öne sürmektedir. Ancak, bu açıklama tartışmalıdır çünkü melatonin tedavilerinin, 5-HT terminallerini içeren hipotalamik çekirdeklerde 5-HT metabolizmasını farklı şekilde etkilediği gösterilmiştir (Miguez, Martin, Lema, & Aldegunde, 1996).

Melatonin hormonu, MT1 reseptör sinyali aracılığıyla dorsal rafe nöronlarının aktivitesini akut olarak inhibe edebilen önemli bir fotoperiyodik sinyaldir (Dominguez-Lopez ve ark., 2011). MT1 reseptör nakavt fareler kullanarak, melatonin sinyalinin rafe nöronlarının fotoperiyodik programlamasında rol oynayıp oynamadığını test edilmiştir. MT1 reseptör sinyali olmadan, ani artış oranlarında fotoperiyodik özel farklar yoktur ve serotonin nöronlarının spontan ateşleme hızı, LL (uzun) fotoperiyodundaki vahşi tip farelere benzer şekilde tüm fotoperiyodlarda 1 Hz'nin üzerinde yükselmiştir. Ayrıca, MT1 KO (nakavt) farelerde orta beyinde 5-HT veya NE konsantrasyonları arasında fotoperiyodlara özgü farklılıklar yoktur. Son olarak, MT1 KO farelerde açık alan testi (OFT), kuyruk süspansiyon testi (TST) veya zorunlu yüzme testindeki (FST) fotoperiyodlara göre depresyon ve anksiyete ile ilgili davranışlarda herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Yükseltilmiş Sıfır Labirenti (EZM) testinde, MT1 KO EE (ekinokok=gece gündüz süresi eşit) fareleri, labirentin kapalı kolları içinde MT1 KO LL(uzun fotoperiyot) ve MT1 KO SS (kısa fotoperiyot) farelere kıyasla önemli ölçüde daha az zaman harcadı ayrıca MT1 KO EE fareleri açık alanda uzun mesafeler katetti (Yükseltilmiş Sıfır Labirenti testi farelerde anksiyete düzeyini değerlendirmek için kullanılan bir laboratuvar testidir. Bu labirent, dört koldan oluşan bir çemberi andıran bir yapıya sahiptir, ancak iki kol kapalı ve diğer iki kol açık olarak tasarlanmıştır. Test sırasında fare, labirentin üzerinde yükseltilmiş bir platformda gezinir. Fare, doğal bir şekilde kapalı alanlardan hoşlanırken, açık alanlar ise daha tehlikeli ve anksiyete uyandırıcı olabilir. Fare, bu ortamda geçirdiği süre, hareketleri ve davranışları üzerinden değerlendirilir. Yükseltilmiş sıfır labirenti testi, farelerde özellikle anksiyete ve korku tepkilerini ölçmek için kullanılır. Daha fazla zaman kapalı alanlarda geçiren fareler, genellikle daha düşük anksiyete seviyelerine işaret ederken, daha fazla zaman açık alanlarda geçiren fareler, potansiyel olarak yüksek anksiyete seviyelerine işaret edebilir). Bu nedenle, MT1 reseptörü farelerde serotoninerjik nöronların fotoperiyodik programlamasında ve depresyon ve anksiyete ile ilgili davranışlarda kritik bir rol oynamaktadır. MT1 reseptörünün serotonin nöron programlaması üzerindeki etkileri doğrudan olabilir veya melatonin etkileri aracılığıyla dolaylı olarak adrenal veya gonadal sistemlerin gelişimine etki edebilir, çünkü bu sistemler rafe çekirdeklerine hormonel girdi sağlamaktadır (Green, Jackson, Iwamoto, Tackenberg, & Mcmahon, 2015).

Mevsimsel fotoperiyodlar, mevsimsel duygudurum bozukluğunda görüldüğü gibi, farelerde ve insanlarda depresyon ve anksiyete davranışlarını akut bir şekilde etkileyebilir (Magnusson, & Bolvin, 2003). Deneylerimiz gece aktif olan farelerle yapılmış olmasına rağmen, fotoperiyodik etkiler, LL fotoperiyodlarının SS fotoperiyodlarına kıyasla antidepresan ve anksiyolitik etkilere sahip olduğu şeklinde, insanlardaki etkilerle benzerlik gösterdi (Foster, & Roenneberg, 2008). Ayrıca, farelerde yaz benzeri fotoperiyotlar 5-HT sinyalini arttırmıştır ve insan beyninde 5-HT dönüşümü kışın en düşük seviyededir ve parlak ışığın süresine yanıt olarak artar (Lambert, Reid, Kaye, Jennings, & Esler, 2002). Elde edilen sonuçlara göre, farelerde, gelişim sırasında deneyimlenen dolaşımsal ışık döngülerinin serotonin nöron aktivitesi üzerinde kalıcı bir etkisi vardır. Artan epidomiyolojik kanıtlara göre, insanlarda mevsimsel doğumların ve fotoperiyot, grip virüsü maruziyeti ve D vitamini eksikliği gibi çeşitli potansyel mevsimsel işaretlerle birlikte ruh ve duygu bozukluklarına karşı bir risk faktörü oluşturmaktadır (Disanto ve ark., 2012; Foster, & Roenneberg, 2008). Yapılan araştırmalara göre, mevsimsel fotoperiyotların melatonin sinyali aracılığıyla orta beyin serotonin nöronlarının işlevini dramatik ve kalıcı bir şekilde değiştirebilecek mekanizmaları ortaya koymaktadır ve sirkadiyen ışık döngülerinin nörolojik davranış bozukluklarının mevsimliliğindeki rolünü keşfetmek için bir deneysel model oluşturur (Green ve ark., 2015).

Çoklu elektrot dizisi kayıtları, dorsal rafe çekirdek (DRN) dilimleri üzerinde bulunan serotonin nöronlarının dorsomedial kısmlarının ateşleme hızını ölçmek için gerçekleştirildi. Fareler gelişimleri sırasında farklı fotoperiyotlara maruz bırakıldı ve ardından elektrofizyolojik, nörokimyasal veya davranışsal testlere tabi tutuldular. Uzun (LL) fotoperiyottaki farelerin nöronları, ekinoks (EE) ve kısa (SS) fotoperiyot gruplarına kıyasla önemli ölçüde artmış ateşleme hızları sergiledi (Green ve ark., 2015). ADRA1b reseptörleri aracılığıyla sağlanan noradrenerjik uyarıcı giriş ve 5HT1a oto-reseptörlerinden gelen serotonerjik oto-inhibisyon, rafe nöronlarının spontan kritik düzenleyicileridir (Levine, & Jacobs, 1992). Noradrenerjik agonist fenilefrin (PE) ile gerçekleştirilen doz-tepki eğrileri, LL fotoperiyodundaki farelerin DRN'sindeki serotonerjik nöronların (n = 4 fare; 57 hücre) PE konsantrasyonlarına yanıt olarak, EE (n = 3 fare; 19 hücre) ve SS (n = 3 fare; 23 hücre) farelere kıyasla önemli ölçüde yüksek ateşleme hızları sergilediğini ortaya koydu. Bu nedenle, in vivo

noradrenerjik girişi sitimule etmek amacıyla ortamda bulunan 3 mM'lik ADRA1b agonisti PE'ye artan yanıtın, muhtemelen LL fotoperiyotlarında gelişen farelerde gözlenen serotonerjik nöronlardaki artan ateşleme hızına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Green ve ark., 2015).

LL fotoperiyot rafe nöronlarının adrenerjik uyarana tepkisinin artması, artmış adrenerjik reseptör ekspresyonu veya aktivasyonu veya serotonin nöronlarının içsel uyarılabilirliğindeki değişikliklerden kaynaklanabilir. Bu değişiklikler, adrenerjik girdinin etkilerini artırabilir (Green ve ark., 2015).

Fotoperiyot ayrıca serotonin sinyalini ve affektif davranışı da değiştirmektedir. Orta beyin 5-HT içeriği, LL farelerinde EE ve SS gruplarına kıyasla artmıştır. Ayrıca, orta beyin norepinefrin içeriği, LL farelerinde EE ve SS gruplarına kıyasla yüksektir. Bu nedenle, hem DRN'lerdeki NE'nin etkinliği hem de girişin gücü, LL fotoperiyotlarda artmıştır. Toplu olarak, buradaki sonuçlarımız uzun ışık-dönemine maruz kalmanın serotonin içeriğini ve norepinefrin girdisini dorsal rafe çekirdeği üzerinde etkilediğini göstermektedir ve önceki bulguları güçlendirerek, ışık-döneminin depresyon ve anksiyete benzeri davranışlarda değişikliklere yol açabileceğini ortaya koymaktadır (Ciarleglio, Resuehr, & Mcmahon, 2011; Pyter, & Nelson, 2006).

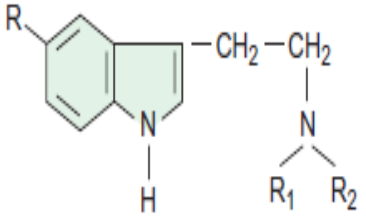
2.16. Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin; 5-HT) ve serotoninerjik ilaçlar, depresyon tedavisinde popüler hale gelmiştir ve bu yaygın kullanım, merkezi sinir sistemindeki serotoninerjik nörotransmisyon hakkında geniş bir bilgi birikimine katkıda bulunmuştur. Ancak, serotonin yalnızca merkezi sinir sisteminde bulunmamakta ve daha yüksek konsantrasyonlarda başka bölgelerde bulunmaktadır. Serotonin normal bir diyetten elde edilmesine rağmen, emilmeden önce neredeyse tamamen metabolize edildiğinden, etkisinin olduğu yerlerde triptofandan de novo sentezlenmelidir. Triptopfan (TRP), bir besinsel aminoasit olup, 5-HT, melatonin ve kynurenin gibi birçok fizyolojik olarak önemli maddeye öncülük eder. Triptofan'ın sadece %1-2'si 5-HT ve melatonin oluşturmak için ayrışırken, %95'i kynurenin yolağı üzerinden kynurenin, kynurenik asit, ksantürik asit, kinolinik asit ve pikolinik asit oluşturmak için kullanılır (Liu ve ark., 2021).

2.17. İndolalkilamin 5-Hidroksitriptamin (5-HT; serotonin), Başlangıçta Nasıl Tanımlandı?

19. yüzyılın ortalarından itibaren bilim adamları, kan pıhtılaştıktan sonra oluşan serumda bulunan bir faktör veya madde tarafından damar düz kaslarının büzülerek vasküler tonu artırdığını bilmektedirler. Yüzyılın başlarında, trombositler bu maddenin kaynağı olarak tanımlandı. Ancak 1948 yılına kadar Rapport, Green ve Page, serum vazokonstriktör faktörünü doğru bir şekilde izole edip tanımlayarak, bu maddenin indol 5-hidroksitriptamin (5-HT) olduğunu belirledi. Oldukça uygun bir şekilde bu serum tonik faktörü, kanın pıhtılaşması sırasında trombositlerden salınan, "serotonin" olarak adlandırılmıştır. Bağımsız olarak, Esparmer, gastrointestinal sistemin enterokromafin hücrelerinde büyük miktarlarda bulunan ve aynı zamanda düz kasları büzen bir maddeyi tanımlamıştır. Bu maddeye "enteramin" adını verdiler. 1952'de, Esparmer ve Areso, serotonin ve enteraminin aynı madde olduğunu bildirmişlerdir. 1953'te Twarog ve Page, beyin özütlerinde serotonin tespit etti. Bu şekilde, serotonin vücuttaki üç ana sistemde lokalize edilmiş oldu; trombositler, gastrointestinal sistem ve beyin (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Serotonin (5-HT) ve ilgili bileşiklerin yapıları Şekil 15'te gösterilmiştir. İndol çekirdeğinin 5 pozisyonundaki hidroksil grubu ile birincil amin azotunun, fizyolojik pH'da bir proton alıcı olarak hizmet etmesi, 5-HT'yi hidrofilik bir madde yapar. Bu nedenle, lipofilik kan-beyin bariyerini kolayca geçmez (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Bileşik	Pozisyon		
	R	R_1	R_2
Triptamin	H	H	H
Serotonin	OH	H	H
Melatonin	OCH_3	$COCH_3$	H
Dietiltripramin	H	CH_3CH_2	CH_3CH_2
Dimetiltriptamin	H	CH_3	CH_3
Bufotenin	OH	CH_3	CH_3

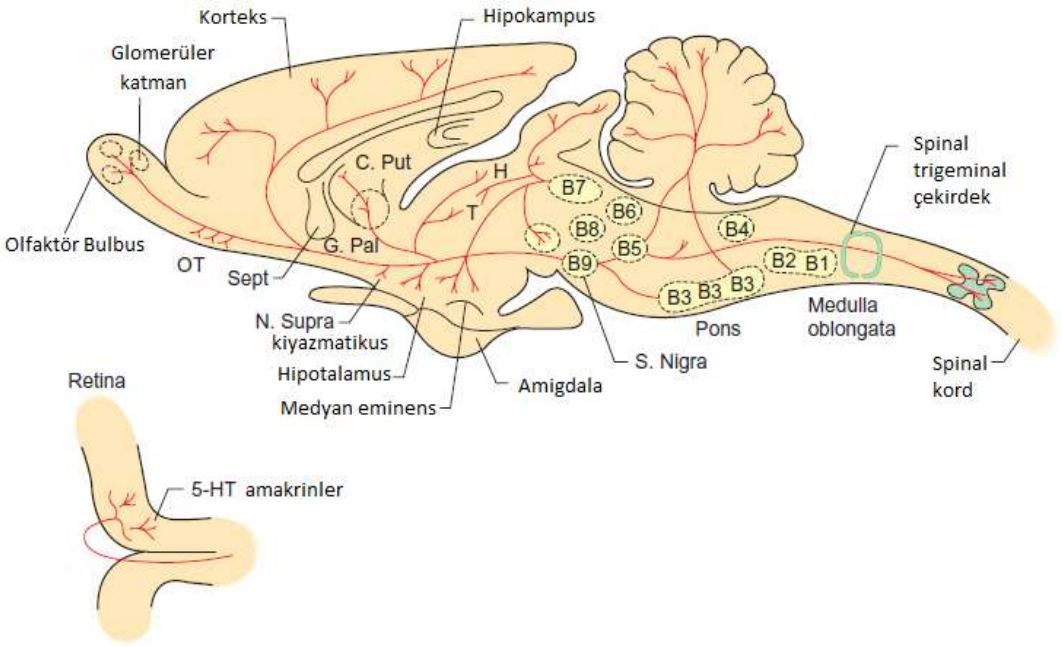
Psikotropik (Mental aktiviteleri değiştiren)

Şekil 15. 5-hydroxytryptamine (5-HT; serotonin) ve ilgili indolalkilaminlerin kimyasal yapısı. İndol halka yapısı, benzen halkasını ve üzerinde azot içeren beş üyeli halkayı içerir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Kan-beyin bariyerini geçemediği bilinen serotoninin, Twarog ve Page'in 1953'te yaptığı çalışmada beyinde serotonin varlığını keşfetmeleri heyecan vericiydi, çünkü bu durum, 5-HT'nin beyinde sentezlendiğini gösteriyordu. Aynı dönemde, halüsinojenik veya psikomimetik etkilere sahip olduğu bilinen liserjik asit dietilamid (LSD)'in, , 5-HT'ye yanıtı engellediği gözlemlendi. Bu, 5-HT'nin beyin fonksiyonundaki önemli bir rolünü daha da pekiştirdi. 5-HT'nin önemli davranışsal etkilere sahip olduğu düşüncesi, 5-HT'nin zihinsel hastalıklardaki merkezi bir rolü üzerine birçok düşünceyi tetikledi. Daha sonra, 5-HT fonksiyonundaki anormalliklerin, özellikle şizofreni ve depresyon gibi birçok psikiyatrik bozukluğun gelişimine bağlı olduğunu öne süren çeşitli teoriler ortaya çıktı. Şu anda depresyon, anksiyete bozuklukları ve şizofreni gibi durumlarda etkili olan psikoterapotik ilaçlar bulunmaktadır. Bu ilaçlar, beyindeki serotonerjik nöronlar üzerinde etkili, bazı durumlarda ise seçici etkilere sahiptir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

2.18. Serotonerjik Nöronların Nöroanatomik Organizasyonu

Serotonin içeren nöron hücre gövdeleri, beyin sapının ortasında bulunan belirli küme veya hücre grupları ile sınırlıdır. Bununla birlikte, aksonları neredeyse merkezi sinir sisteminin her alanına innerve eder (Şekil 16) (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 16. Rat santral sinir sisteminin sagittal kesitini gösteren şematik çizimde, serotonerjik hücre gruplarının konumları ve ana projeksiyonları tasvir edilmektedir. OT, olfaktör tüberkülü; Sept, septum; C. Put, kaudat-putamen çekirdek; G. Pal, globus pallidus; T, talamus; H, habenula (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

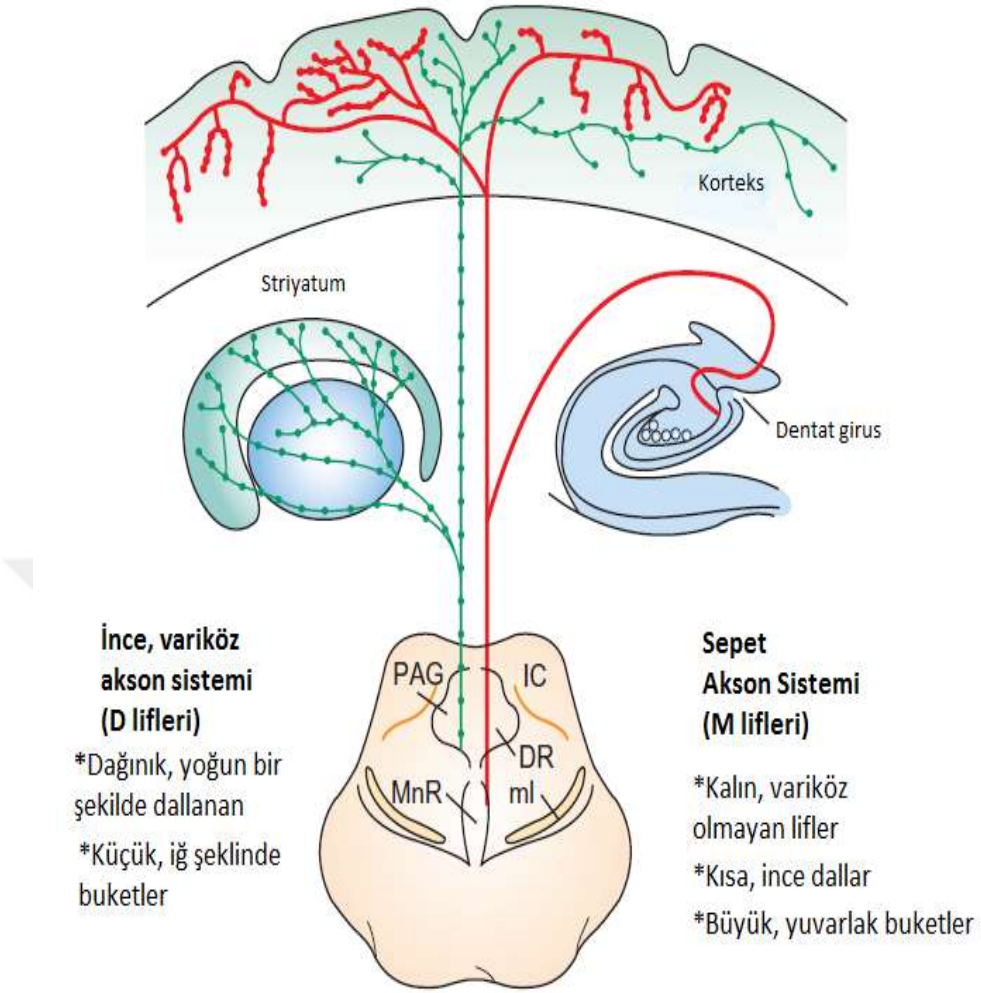
1964 yılında, Dahlstrom ve Fuxe, histoflorasan yöntemi olan Falck-Hillarp tekniğini kullanarak çoğu serotonerjik hücre gövdesinin Taber, Brodal ve Walberg tarafından daha önce rafe çekirdekleri olarak belirlenen hücre gövde gruplarında bulunduğunu gözlemledi. Dahlstrom ve Fuxe, dokuz grup serotonin içeren hücre gövdesini tanımladılar ve bunları B1'den B9'a kadar adlandırdılar. Ancak, bazı serotonerjik nöron hücre gövdeleri, rafe çekirdeklerinin dışında bulunur ve rafe çekirdeklerindeki tüm hücre gövdeleri serotonerjik değildir. Rafe çekirdeklerinin çoğunda, nöronların büyük kısmı serotonerjik değildir. Örneğin, dorsal rafe, serotonerjik nöronların en büyük sayısını içerir; ancak, dorsal rafe'deki hücre gövdelerinin sadece %40-50'si serotonerjiktir. (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Dahlstrom ve Fuxe'un belirlediği B7 grubu, serotonerjik hücrelerin en büyük grubudur. B7, daha küçük bir serotonerjik hücre grubu olan B6 ile devam eder. B6 ve B7 grupları genellikle dorsal rafe çekirdeği olarak bir araya getirilir, B6 ise kaudal uzantısı olarak kabul edilir. Diğer önemli bir serotonerjik hücre grubu olan B8, medyan rafe çekirdeği ile uyumlu olup aynı zamanda üst merkez çekirdeği olarak da adlandırılır. B9 grubu, pons ve orta beyin ventrolateral tegmentumunun bir parçası olup medyan rafe'nin lateral bir uzantısını oluşturur ve bu nedenle orta hatta rafe çekirdekleri arasında değerlendirilmez. Serebral korteksi ve önbeyinin diğer bölgelerini innerve eden çoğu yükselen serotonerjik projeksiyonlar, başlıca dorsal rafe, medyan rafe ve B9 hücre grubundan kaynaklanır. Medyan ve dorsal rafe çekirdeğinin serotonerjik nöronları, elektrofizyolojik özelliklerinde, somatodendritik otoreseptör aktivasyonu tarafından inhibisyonlarında ve aynı zamanda önbeyine olan aksonal projeksiyonlarının morfolojisi ve topografik organizasyonunda farklılık gösterirler. Bu farklılıklar, dorsal ve medyan rafe çekirdeklerinden kaynaklanan bu iki ayrı serotonerjik sistemin, normal beyin fonksiyonu ve zihinsel hastalıklardaki rolünü anlamak açısından son derece önemli olabilir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Orta beyin rafe çekirdeklerinden önbeyine giden iki ana serotonerjik yol, dorsal periventriküler yol ve ventral tegmental radyasyonlardır. Her iki yol da kaudal hipotalamusta birleşir, burada medyal önbeyin demeti'ne katılırlar. Dopaminerjik (A8, A9, A10) ve noradrenerjik (A6) hücre gövde gruplarının aksonları da medyal önbeyin demeti üzerinden öne doğru ilerler (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Rafe çekirdeklerinden ön beyin yapılarına doğru çıkan yükselen projeksiyonlar, topografik bir biçimde düzenlenmiştir. Dorsal ve medyan rafe çekirdekleri, ön beyin bölgelerine belirgin projeksiyonlar oluşturur ve farklı ancak kısmen örtüşen innervasyon desenleri oluşturur. Medyan rafe, dorsal hipokampus, septum ve hipotalamusa yoğun bir şekilde projeksiyon yapar, bununla birlikte dorsal rafe, ventral hipokampus, amigdala ve striatuma yoğun bir şekilde innerve eder. Dorsal ve medyan rafe çekirdekleri, neokortekse örtüşen nöronal projeksiyonlar gönderir, bu projeksiyonlar da sıkı bir topografik düzen içinde düzenlenmiştir ve bu nedenle farklı kortikal nöronları etkiler. (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Serotonerjik akson terminalleri görünüşe göre, köken aldığı rafe çekirdeği ile ilişkili morfolojik farklılıklar sergiler (Şekil 17). Medyan rafe çekirdeğinden gelen (M tipi) serotonerjik aksonlar, genellikle büyük yuvarlak varikozitelerle birlikte oldukça kalın görünür. Buna karşılık, dorsal rafe'den gelen (D tipi) aksonlar çok incedir ve tipik olarak küçük, pleomorfik varikozitelere sahiptir. Dorsal rafe aksonları, belirli nörotoksik amfetamin türevlerine, örneğin 3,4-metilendiyoksimetamfetamin (MDMA veya "Ekstazi") ve parakloroamfetamin (PCA), daha duyarlı görünmektedir. Buna karşılık, medyan rafe aksonları, bu ilaçların nörotoksik etkilerine karşı daha dirençli gibi görünmektedir. Serotonin taşıyıcısı (SERT) blokajı, bu amfetamin türevlerinin nörotoksik etkilerini önler; buradaki bilgilere dayanarak, bu ilaçların nörotoksik etkileri için SERT aktivitesinin kritik olduğu anlaşılmaktadır (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 17. Ön beyini innerve eden çift serotonerjik sistemin ana özelliklerini gösteren basitleştirilmiş diyagram. İnce variköz akson sistemi (D lifleri), dorsal rafe (DR) çekirdeğinden türetilir ve hedef bölgelerinde yoğun bir şekilde dallanma gösterir. Bu liflerin sinaptik bağlantılarını göstermek zordur ve bu nedenle bu liflerdeki sinapsların sıklığı hala tartışılmaktadır. Sepet akson sistemi (M lifleri), medyan rafe (MnR) çekirdeğinden kalın, variköz olmayan aksonlarla türetilir ve karakteristik uçları olan, boncuklu görünen dallar meydana getirir; yuvarlak veya oval varikozitelerle. Bu büyük terminaller, hedef hücrelerle belirgin sinapslar oluşturur. AG, akveduktal gri madde; IC, inferior kollikulus; ml, medial lemniskus (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Diğer rafe çekirdekleri, B1'den B4'e kadar olanlar, daha kaudal bir konumda bulunurlar (orta-pons'tan kaudal medulla'ya kadar) ve daha az sayıda serotonerjik hücre içerirler. Bu hücre gövde grupları, beyin sapı içinde ve omurilik'e projeksiyon yapan serotonerjik aksonlara yol açar (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

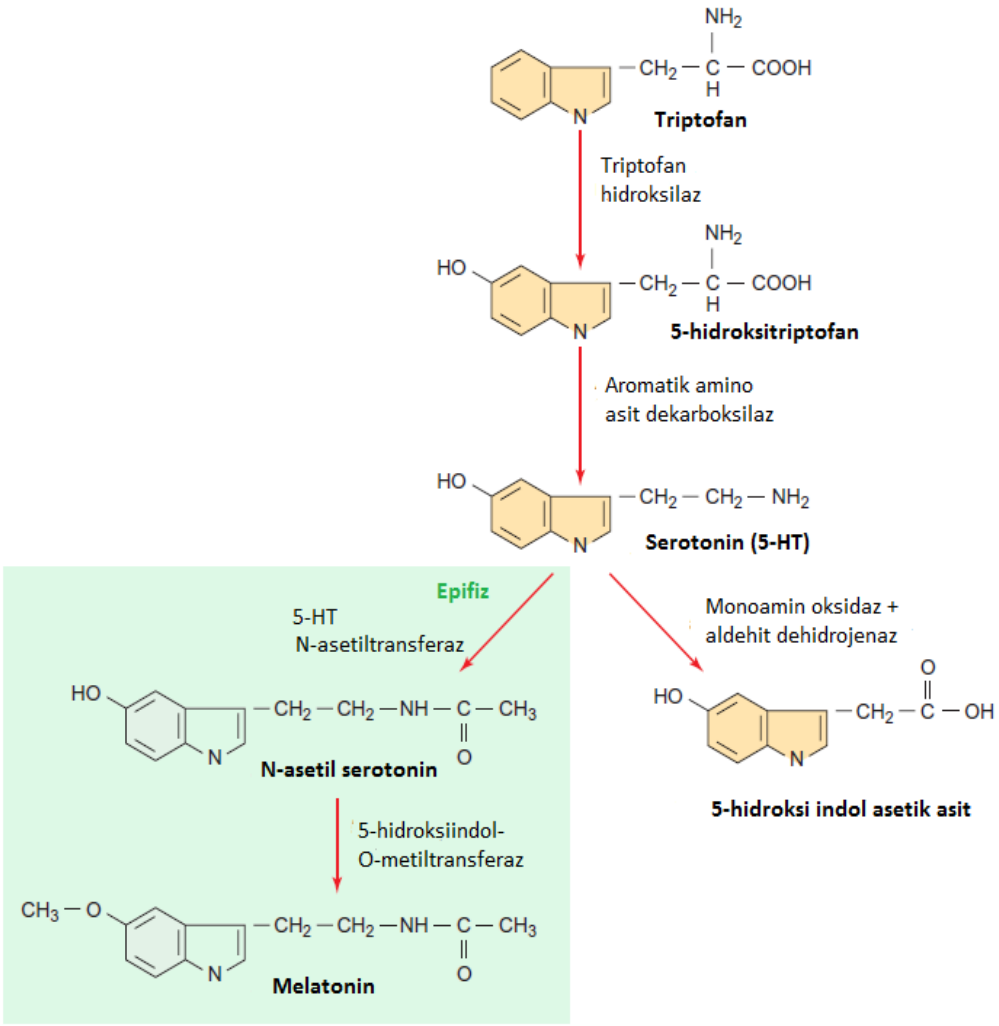
Rafe çekirdeklerine ait afferent bağlantılar, dorsal ve medyan rafe çekirdekleri arasında, B9, B1 ve B3 arasında bağlantıları içerir. Bu tür innerve, serotonin'in serotonerjik hücre gövdelerinin çevresinde salınması, somatodendritik otoreseptörlerin aktivasyonu aracılığıyla serotonerjik nöronların ateşlenmesini

düzenleyebilir ve bu da önemli fizyolojik ve/veya farmakolojik bir rol oynayabilir. Rafe çekirdekleri ayrıca beyin sapındaki diğer hücre gövde gruplarından da girdi alır; bu gruplar arasında substantia nigra ve ventral tegmental alan (dopamin), superior vestibüler çekirdek (asetilkolin), lokus seruleus (norepinefrin) ve hipoglossal ön çekirdek ile soliter traktus çekirdeği (epinefrin) bulunmaktadır. Diğer afferentler arasında hipotalamus, korteks ve amigdala gibi limbik önbeyin yapılarından gelen nöronlar da bulunmaktadır (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

2.19. Serotonin Sentezi

5-HT'nin sentezi ve ana metabolik yolları Şekil 18'de gösterilmiştir. Serotonin sentezinin ilk adımı L-triptofan'ın, kandan beyine kolaylaştırılmış taşıyıcı protein ile taşınmasıdır. Triptofan'ın başlıca kaynağı, besinsel proteinlerdir. Diğer nötr aminoasitler, örneğin fenilalanin, lösin ve metiyonin, aynı taşıyıcı aracılığıyla beyine alınır. Bu nedenle, triptofanın beyine girişi, sadece kandaki konsantrasyonu ile ilgili değildir, aynı zamanda diğer nötr aminoasitlerin konsantrasyonlarıylada ilişkilidir. Bu nedenle, triptofanın diyetle alımını düşürmek ya da aynı taşıyıcıyla taşınma konusunda rekabet ettiği aminoasit alımlarını artırmak, beyindeki 5-HT içeriğini düşürür ve 5-HT fonksiyonu ile ilişkilendirilen belirli davranışları değiştirir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Serotonerjik nöronlar, L-triptofan-5-monooksijenaz enzimini içerir, daha yaygın olarak triptofan hidroksilaz olarak adlandırılır ve triptofanı 5-hidroksitriptofana (5-HTP) dönüştürür. Triptofan hidroksilaz 444 amino asidi içerir ve yaklaşık olarak 51.000 Dalton moleküler ağırlığına sahiptir. Beyinde, bu enzim, rafe çekirdeklerinin serotonerjik hücre gövdelerinde sentezlenir ve sadece 5-HT sentezleyen hücrelerde bulunur. Bu nedenle, beyindeki dağılımı, 5-HT'nin kendisine benzer. Triptofan hidroksilaz'ın triptofan için Km değeri yaklaşık olarak 30-60 mM'dir, bu da beyindeki triptofan konsantrasyonu ile karşılaştırılabilir bir konsantrasyondur. Eğer serotonerjik nöronlardaki triptofan konsantrasyonu, bütün beyindeki konsantrasyonla kıyaslandığı kabul edilirse, enzim substrat ile doyurulamayacaktır ve beyindeki triptofan konsantrasyonu arttıkça 5-HT oluşumu artacaktır. Bu özellikle triptofan diyet alımını artırmak suretiyle gerçekleştirilmiştir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 18. Serotonin'in biyosentezi ve katabolizması. 5-HT'nin sadece kendi başına önemli fizyolojik etkileri olmakla kalmaz, aynı zamanda melatonin hormonunun öncü maddesidir. Unutmayın ki, kan-beyin bariyeri dışında bulunan epifiz bezi içinde, serotonin enzimatik olarak melatonin hormonuna (5-metoksi-N-asetiltriptamin) dönüştürülür. Melatonin'in sentezi ve salgılanması, ışık-karanlık döngüsünden önemli ölçüde etkilenir. Bu nedenle, melatonin sentezi, genellikle gün-gece, ışık-karanlık döngüsüne düzenlenmiş olan hipotalamusun SCN (suprakiazmatik çekirdek) bölgesindeki endojen bir "saat" tarafından başlatılır. Melatonin, G protein–eşleşimli reseptörlerin aktivasyonu aracılığıyla sirkadiyen ve mevsimsel zamanlama ipuçları sağlar ve sadece biyolojik ritimlerin düzenlenmesinde değil, aynı zamanda uyku ve duygudurum bozukluklarında da rol oynayabilir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Triptofan hidroksilazın iki izoformu bulunmaktadır; çoğunlukla periferde eksprese edilen TPH1 ve daha çok beyinde eksprese edilen TPH2. Triptofan hidroksilaz izoformlarının varlığı, genetik olarak triptofan hidroksilaz eksikliği olan farelerde yapılan deneyler temelinde bulunmuştur. Bu fareler beyninde normal miktarda 5-HT üretmelerine rağmen periferde 5-HT eksikliği göstermişlerdir. Bu nakavt hayvanlardan ikinci bir triptofan hidroksilaz izoformu (TPH2) klonlanmıştır ve bu, bilinen triptofan hidroksilaz (TPH1) ile farklıdır. İki triptofan hidroksilaz

izoformunun varlığı, TPH1 veya TPH2'nin ekspresyonunu ve aktivitesini hedefleyen ilaçları tasarlayarak merkezi veya periferik 5-HT sistemlerini etkileme konusunda yeni fırsatlar sunabilir. Ayrıca, 5-HT sentezinin ikili yapısı, psikiyatrik bozuklukların periferik modellerine yaklaşımımızı değiştirmektedir. Bu, 5-HT'nin (ve metabolitlerinin) periferik seviyeleri ile beyindeki 5-HT fonksiyonu arasında anlamlı korelasyonlar bulma çabaları nedeniyle özellikle önemlidir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

5-HT senteziyle ilgili diğer enzim, aromatik L-amino asit dekarboksilaz (AADC), 5-HTP'yi 5-HT'ye dönüştüren çözünür bir piridoksal-5'-fosfat bağımlı enzimdir. Piridoksin yönetiminin, pozisyon emisyon tomografisi kullanılarak ortaya çıkan maymun beyininde 5-HT sentez hızını artırdığı gösterilmiştir. Bu muhtemelen piridoksin'nin AADC aktivitesi üzerinde düzenleyici bir etkisini yansıtmakta olup, 5-HT eksikliği ile ilişkilendirilen durumlarda piridoksin takviyesinin kullanımıyla ilgili ilginç bir konuyu gündeme getirir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

AADC, yaklaşık 54,000 Dalton olan bir moleküler ağırlığa sahip, 380 aminoasit içeren bir enzimdir ve sadece serotonerjik nöronlarda değil, aynı zamanda katekolaminerjik nöronlarda da bulunur. Burada 3,4-dihidroksifenilalanini (DOPA) dopamina dönüştürür. Ancak, 5-HTP veya DOPA'nın substrat olarak kullanıldığı beyin homojenatlarında optimum enzim aktivitesi için farklı pH, substrat ve kofaktör konsantrasyonları gereklidir. Enzim için mRNA, hem dorsal rafe çekirdeğindeki serotonerjik hücrelerde hem de katekolaminerjik hücrelerde bulunmaktadır. Bu sonuçlar bir araya getirildiğinde, hem DOPA'nın hem de 5-HTP'nin dekarboksilasyonunun aynı enzim tarafından katalizlendiği fikrini desteklemektedir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Serotonin sentezindehız kısıtlayıcı basamak, 5-HTP'nin dekarboksilasyonu değil, triptofanın başlangıçtaki hidroksilasyonu gibi görünmektedir. Bu nedenle, bu reaksiyonun inhibisyonu, beyinde 5-HT içeriğinin belirgin bir şekilde azalmasına neden olur. Enzim inhibitörü olarak en yaygın kullanılan madde paraklorofenilalanindir (PCPA). İn vivo, PCPA, muhtemelen kendisini enzime ekleyerek kalıcı bir şekilde triptofan hidroksilazı inhibe eder ve bu da 5-HT seviyelerinde uzun süreli bir azalmaya neden olur. Enzim aktivitesinin ve 5-HT biyosentezinin yeniden kazanılması, yeni enzim sentezi gerektirir. PCPA'nın

uygulanmasından 1-3 gün sonra rafe çekirdeklerinde triptofan hidroksilaz için belirgin mRNA artışları bulunur (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

2.20. Serotonin Sentezi Belli Koşullarda Artabilir

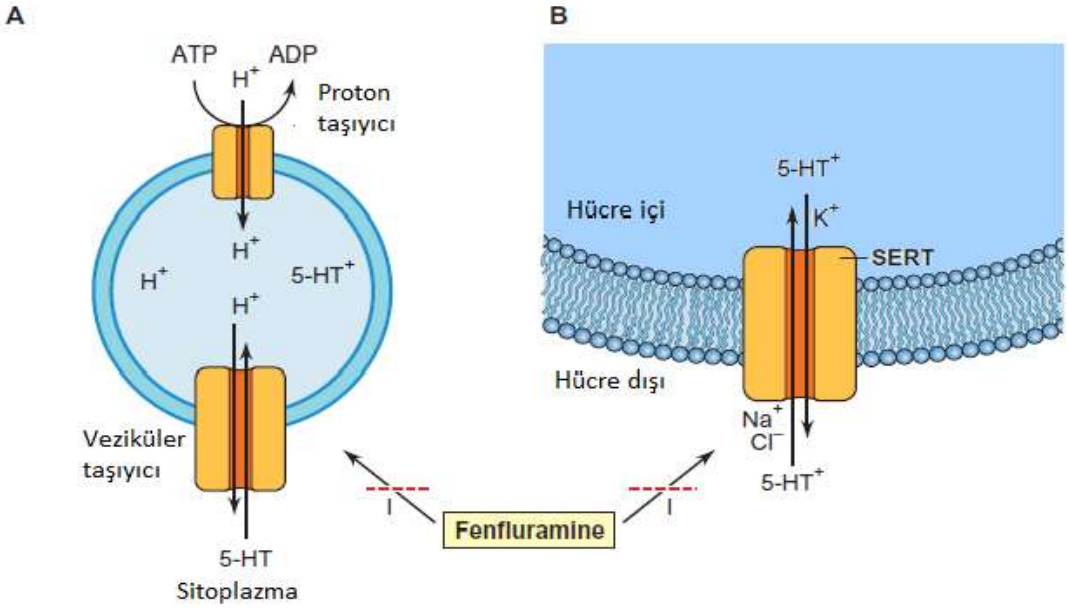
Plastisite, nörobilimde önemli bir kavramdır. Genel olarak, bu, nöronal sistemlerin aktivite veya fonksiyonları boyunca yerine getirilen kısa veya uzun vadeli taleplere uyma yeteneğini ifade eder. Nöronal plastisiteye katkıda bulunan süreçlerden biri, artan nöronal aktiviteye yanıt olarak nörotransmitter sentezini ve salınım hızını artırma yeteneğidir. Serotonerjik nöronlar bu yeteneğe sahiptir; triptofandan 5-HT sentezi, serotonerjik soma elektriksel uyarımına cevap olarak frekans bağımlı bir şekilde artar. Artış, triptofanın 5-HTP'ye daha etkili bir şekilde dönüştürülmesinden kaynaklanır ve ekstrasellüler kalsiyuma bağlıdır. Artan 5-HT sentezi muhtemelen triptofan hidroksilazın kinetik özelliklerindeki değişikliklerden kaynaklanır, bu belki de enzimin kalsiyumdan etkilenen kalmodulin bağımlı protein kinaz II veya siklik AMP bağımlı protein kinaz (PKA) tarafından fosforile edilmesinden kaynaklanabilir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

5-HT sentezi için kısa vadeli gereksinimler, fosforilasyon gibi triptofan hidroksilazın kinetik özelliklerini değiştiren süreçlerle karşılanabilir, bu da daha fazla triptofan hidroksilaz molekülünün sentezini gerektirmez. Bunun aksine, 5-HT'nin sentezinin ve salınımının uzun vadeli artışını gerektiren durumlar, triptofan hidroksilaz proteininin sentezine neden olur. Örneğin, merkezi serotonerjik nöronların kısmi ancak önemli ölçüde yok edilmesi (%60'a kadar) geriye kalan terminal bölgelerde 5-HT sentezi artışına neden olur. Artış başlangıçta mevcut triptofan hidroksilaz moleküllerinin aktivasyonundan kaynaklanmasına rağmen, lezyon sonrası haftalar sonra görülen 5-HT sentezindeki artış, geriye kalan terminal bölgelerde daha fazla triptofan hidroksilazın bulunmasından kaynaklanır. Kısmi lezyon sonrası rafe çekirdeklerindeki geriye kalan serotonerjik nöronlarda triptofan hidroksilaz mRNA'sındaki artış bildirilmiş olup, bu da artık nöronlarda triptofan hidroksilaz moleküllerinin sentezinde bir artış olasılığıyla uyumludur (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

2.21. 5-HT Veziküllerde Depolanır ve Eksositotik Bir Mekanizma ile Salınır

Monoamin içeren hücrelerin periferik kaynakları, depolama veziküllerinin özelliklerini incelemek için kullanılmıştır, örneğin, katekolaminler için adrenal

medullanın kromafin hücreleri ve 5-HT için tiroid bezinin parafolliküler hücreleri. Bazı yönlerden, 5-HT'yi depolayan veziküller, katekolaminleri depolayanlara benzemektedir. Örneğin, veziküler membranda lokalize olan taşıyıcının aktivitesini inhibe eden reserpin ve tetrabenazin gibi ilaçlar, sadece katekolaminlerin değil, aynı zamanda beyin içeriğinin 5-HT'sini de azaltır. 5-HT'nin veziküllerde depolanması, sitoplazmadan aktif bir taşıma gerektirir. Veziküler "taşıyıcı", taşımayı sürdürmek için bir veziküler H-ATPaz tarafından üretilen elektrokimyasal gradyanı kullanır, bu nedenle sitoplazmadaki bir amin, lümenel bir protonla değiştirilir, yani 5-HT'nin alımı H'nin çıkışıyla bağlantılıdır (Şekil 19-A) (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 19. Amfetaminler, 5-HT'nin taşınmasını hem (A) veziküler taşıyıcı hem de (B) serotonin taşıyıcısı (SERT) sistemini bloke ederek engeller. Fenfluramin ve MDMA gibi amfetaminler, serotonerjik terminalden 5-HT'nin salınımını uyarır. Bu ilaçlar veziküler taşıyıcıyı bloke eder ve vezikül membranındaki proton gradyanını bozar. Hücre içindeki 5-HT'nin artışı, SERT'in ters aksiyonuyla 5-HT'nin salınımını destekler. Bu ilaçlar aynı zamanda SERT için substrat olarak hareket ederek 5-HT'nin hücrelere taşınmasını engeller (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Genellikle veziküler taşıyıcıyı inhibe eden ilaçlar serotonin taşıyıcısını (SERT) engellemez. Ancak, hem veziküler taşıyıcı hem de SERT üzerinde etkileri olan iki ilaç, MDMA (Ekstazi) ve anorektik ajan fenfluramindir. Fenfluramin ve MDMA, veziküler taşıyıcıyı doğrudan substrat bağlanma bölgesi için rekabet ederek inhibe eder. Bu ajanlar ayrıca transmembran pH gradyanını dağıtarak vezikül içine 5-HT alımını daha da engeller. Bu ilaçların, 5-HT depolayan veziküller üzerindeki etkileri sitoplazmadaki 5-HT'yi arttırır ve SERT aracılığıyla 5-HT'nin dışa doğru akmasını kolaylaştırır. Hem fenfluramin hem de MDMA, SERT için substrat olarak hareket eder ve sadece 5-

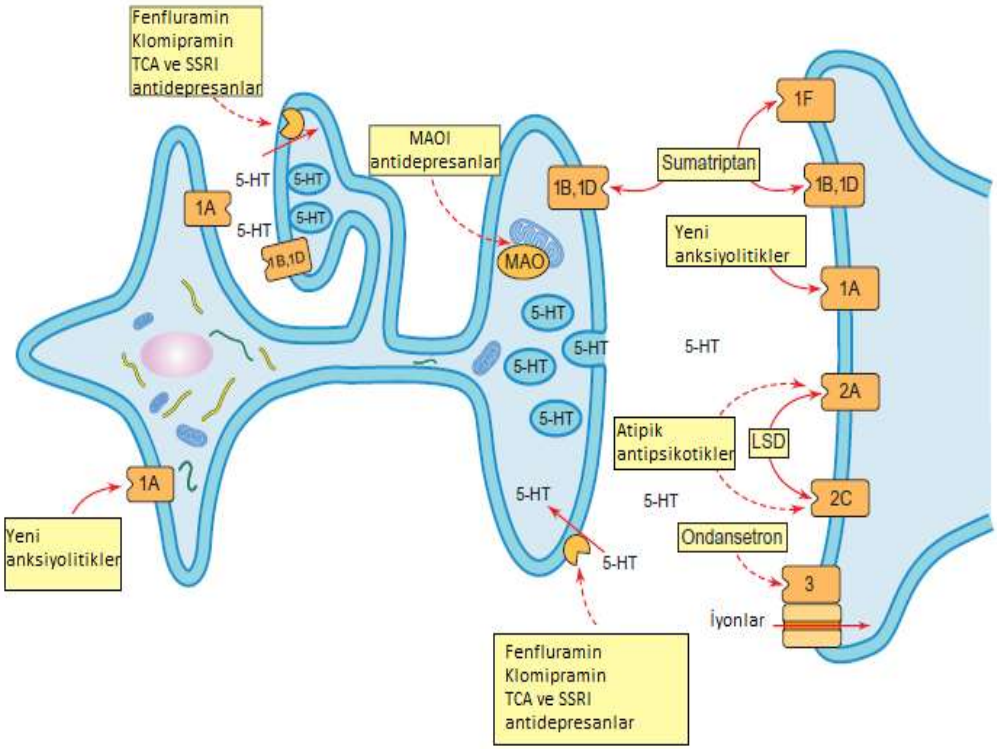
HT'nin hücre içine taşınmasını engellemez, aynı zamanda SERT aracılığıyla dışa doğru taşınmasını kolaylaştırır. (Şekil 19-B). Bu farmakolojik etkilerin sonucu, kalsiyum bağımsız (eksositotik olmayan) bir süreçle 5-HT'nin salınımının uyarılmasıdır. Eksositotik salınımın aksine, bu salınım süreci terminal oto- veya hetero-reseptörler tarafından modüle edilmez. Fenfluramin gibi ilaçlar tarafından neden olunan 5-HT salınımı, SERT'i bloke eden ilaçlar tarafından önlenir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

5-HT depolayan veziküller, katekolamin içeren veziküllerden bazı farklılıklar gösterir. Katekolamin içeren veziküllerin aksine, serotonin veziküllerinde neredeyse hiç ATP bulunmaz. Ayrıca, serotonerjik sinaptik veziküller, ancak kromafin granülleri değil, 5-HT'yi demir (Fe) varlığında yüksek afinite ile bağlayan özel bir proteini içerir. Bu serotonin bağlayıcı protein (SBP), 5-HT ile birlikte sekretuar veziküllerde paketlenmiştir. SPB, kalsiyuma bağlı bir süreçle 5-HT ile birlikte salgılanır (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Bireysel depolama veziküllerinin hücreden tam içeriklerinin boşaltılması yoluyla gerçekleşen serotonin salınımının, eksositoz yoluyla gerçekleştiğine dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. İlk olarak, 5-HT, fizyolojik pH'da yeterince iyonlaştığından basit difüzyonla hücre zarını geçmez. İkinci olarak, intranöronal 5-HT'nin çoğu depolama veziküllerinde bulunur ve vezikülün diğer içeriği, SPB dahil, serotonin ile birlikte salınır. Bununla birlikte, sitozolik proteinler, elektrik stimülasyonuyla tetiklenen 5-HT salınımına eşlik etmez. Üçüncü olarak, depolarizasyonla tetiklenen 5-HT salınımı kalsiyuma bağlı bir süreçle gerçekleşir; aslında, hücre zarının depolarizasyonuyla veya depolarizasyonsuz şekilde ekstrasellüler kalsiyumun girişinin 5-HT salınımını artırabileceği görünmektedir. Kalsiyumun, veziküler membranların plazma membranıyla birleşmesini uyardığı bildirilmiştir (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

Serotonin salınımı, kısmen rafe çekirdeğindeki serotonerjik soma'nın ateşleme hızı tarafından düzenlenir. Çeşitli teknikleri kullanan birçok çalışma, rafe hücre ateşleme hızının artmasının 5-HT'nin terminal alanlarda salınımını artırdığını ortaya koymuştur. Rafe hücre ateşleme hızı azaldığında tam tersi etki gözlenir. Bu, serotonerjik soma'nın ateşleme hızını değiştiren ilaçların aynı zamanda 5-HT salınımını da değiştirdiği anlamına gelir. Bu tür ilaçlar için önemli hedefler, 5-HT1A

reseptörleri olan somatodendritik oto reseptörleridir (Şekil 20). Bu reseptörlerin 5-HT veya dış agonist tarafından aktive edilmesi, serotonerjik soma'nın ateşleme hızını yavaşlatır. Terminaldeki serotonerjik oto reseptörler, türüne bağlı olarak 5-HT1B veya 5-HT1D alt tipi gibi görünmektedir. Bu reseptörlerin aktive edilmesi, 5-HT'nin sentezini ve salınımını azaltır. Bununla birlikte, somatodendritik oto reseptörlerin aktive edilmesinin aksine, bu etkiler, serotonerjik soma'nın ateşleme hızındaki azalmalardan kaynaklanmaz (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 20. Serotonin nöronları ve reseptörleri, çeşitli terapotik ilaçların hedefi olarak kullanılmaktadır. Reseptörleri aktive etmek için agonist olarak işlev gösteren ilaçlar, düz çizgili oklarla gösterilirken, antagonisler veya inhibitörler kesikli çizgili oklarla gösterilir. 5-HT1A reseptörü, hem somatodendritik otoreseptör hem de postsinaptik reseptör olarak görev yapar; buspiron gibi anksiyolitik ilaçlar bu reseptörde agonist olarak etki eder. Postsinaptik 5-HT1A reseptörleri, yeni antipsikotik ilaçların potansiyel hedefleri de olabilir. Terminal alanlarda otoreseptör, 5-HT1B veya 5-HT1D alt tipidir; bu reseptörler aynı zamanda postsinaptik reseptörler olarak işlev görür. Antimigren ilacı sumatriptan, bu reseptörlerde agonist olarak işlev görür ve aynı zamanda 5-HT1F reseptöründe de etkilidir. Seçici 5-HT1F reseptör agonistleri, potansiyel antimigren ilaçları olarak büyük ilgi çekmektedir. LSD gibi halüsinojen ilaçlar, 5-HT2A ve 5-HT2C reseptörlerinde agonist olarak işlev görürken, klozapin ve olanzapin gibi atipik antipsikotik ilaçlar antagonisttir. Ligand kapılı iyon kanalı olan 5-HT3 reseptörü, kemoterapiye bağlı bulantı ve kusma tedavisinde etkili olan ondansetron gibi ilaçlar tarafından bloke edilir. Psikoterapotik ilaçlar için başka bir önemli hedef, serotonin taşıyıcısı olan ve depresyon veya obsesif-kompulsif bozukluğun tedavisinde etkili olan ilaçlar tarafından bloke edilen bir enzim olan MAO'dur (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

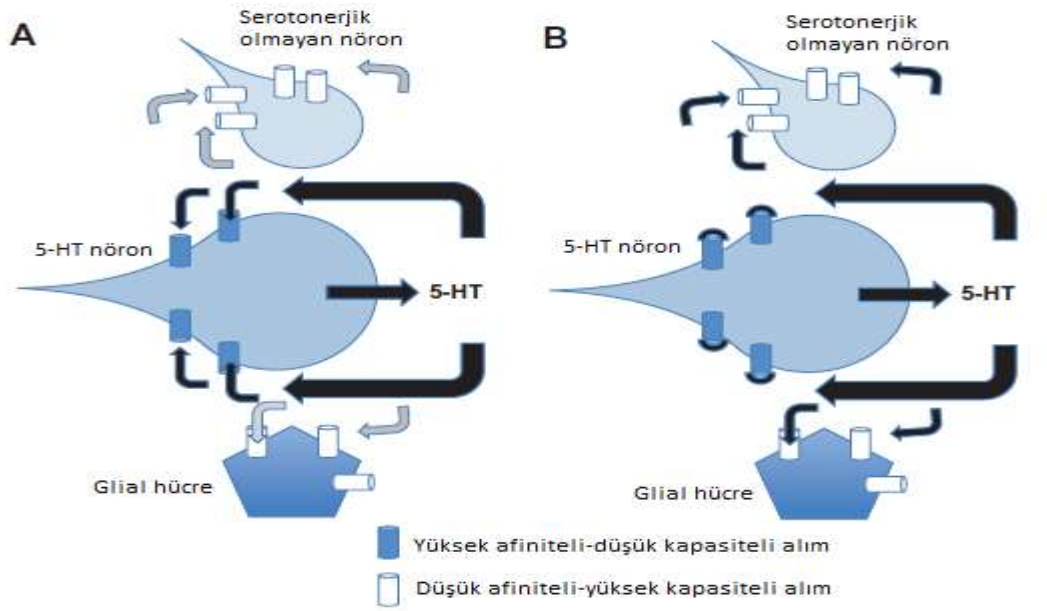
2.22. 5-HT'in Sinaptik Aktivitesi, Başlıca Olarak Serotonerjik Terminallere Geri Alınmasıyla Sona Erer

Birçok nörotransmitterin sinaptik etkileri, bunların belirli taşıyıcı proteinlere bağlanmasıyla sona erer, bunlara 5-HT de dahildir. 5-HT'nin alımı, öncelikle serotonin taşıyıcı (SERT) aracılığıyla gerçekleşir. SERT tarafından 5-HT geri alımı, yüksek afinite-düşük kapasiteli bir süreçtir. SERT, serotonerjik nöronların presinaptik bölgesinden ziyade aksonu boyunca yer almaktadır. SERT'nin mRNA'sı, beyinde yalnızca rafe çekirdeklerindeki serotonerjik hücrelere lokalize edilmiştir. SERT'nin aktivitesi, ekstrasellüler boşluktaki 5-HT konsantrasyonunu düzenler ve bu da sinaptik iletimi etkiler (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

5-HT'nin alımı, sıcaklığa bağımlı aktif bir süreçtir ve dış sodyum (Na) ve klora (Cl) mutlak bir gereksinim vardır. 5-HT alımı için enerji gereksiniminin doğrudan 5-HT'yi taşımak için kullanılmadığı, bunun yerine 5-HT alımının bağımlı olduğu plazma membranındaki Na gradientini sürdürmek için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Güncel taşıma modeline göre, bir Na, bir Cl ve bir protonlanmış 5-HT dört elementli kompleks yapıyı oluşturmak için ekstrasellüler taşıyıcıya bağlanır daha bu sonra bu komplesk 5-HT ve iyonları sitoplazmaya salmak için yapısal değişikliğe uğrar. Sitoplazmada, K, boşaltılmış taşıyıcının başka bir taşıma döngüsü için yeniden yönlendirilmesini teşvik etmek amacıyla SERT ile ilişkilendirilebilir (Şekil 19-B) (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

5-HT'nin ekstrasellüler boşluktaki aktivitesi, çeşitli taşıyıcı proteinler aracılığıyla glia ve diğer nöronlara geri alınmasıyla sona erer. (Şekil 21). Örneğin, SERT için mRNA glia içinde tespit edilmemesine rağmen, in vitro astrosit kültürleri 5-HT'yi alabilir. Bu tür 5-HT alımı, diğer yakın zamanda keşfedilen taşıyıcılar tarafından gerçekleşir, bu taşıyıcılar arasında organik katyon taşıyıcısı (OCT) ve plazma membran monoamin taşıyıcısı (PMAT) bulunmaktadır; ayrıca noradrenalin taşıyıcısı (NET) ve dopamin taşıyıcısı (DAT) gibi ilgili taşıyıcılar da bulunmaktadır. Tüm bu taşıyıcılar, beyindeki ekstrasellüler sıvıdan 5-HT'yi ve kendi doğal substratlarını uzaklaştırma yeteneğine sahiptir. Bu taşıyıcılar tarafından gerçekleştirilen 5-HT geri alımı, düşük afiniteli ve yüksek kapasiteli bir süreçtir (önceki adıyla "uptake-2"). Örneğin, SERT fonksiyonu genetik veya farmakolojik

olarak bozulduğunda, bu düşük afiniteli/yüksek kapasiteli 5-HT taşıyıcıları, ekstrasellüler 5-HT konsantrasyonlarını düzenlemede önemli bir rol oynar (Şekil 21) (Baghdoyan, & Lydic, 2012).



Şekil 21. 5-HT'nin sinaptik etkileri taşıyıcı proteinler tarafından sonlandırılır. (A) 5-HT'nin alımı, başlıca serotonerjik nöronlarda bulunan serotonin taşıyıcısı (SERT) aracılığıyla gerçekleşir. SERT tarafından yapılan 5-HT geri alımı, yüksek afiniteli/düşük kapasiteli bir süreçtir. 5-HT'nin ekstrasellüler boşkultaki etkinliği aynı zamanda diğer nöronlara ve glia hücrelerine farklı taşıyıcılar aracılığıyla geri alınarak sonlandırılır. Bu taşıyıcılar arasında organik katyon taşıyıcısı, plazma membran monoamin taşıyıcısı, noradrenalin taşıyıcısı ve dopamin taşıyıcısı bulunmaktadır ve 5-HT geri alımı bu taşıyıcılar aracılığıyla düşük afiniteli/yüksek kapasiteli bir süreçtir. (B) SERT fonksiyonu azaldığında, örneğin farmakolojik engelleme veya SERT genindeki bir polimorfizm sonucu, bu düşük afiniteli/yüksek kapasiteli taşıyıcılar, ekstrasellüler 5-HT konsantrasyonlarını düzenlemede önemli bir rol oynar (Baghdoyan, & Lydic, 2012).

SERT'in rat beyinlerinden izole edilen cDNA'sı, yaklaşık 68.000 Dalton molekül ağırlığında, 630 amino asit içeren bir protein olduğunu öngörmektedir. SERT'in varsayımsal yapısı 12 transmembran alan (TMD) içerir; amino ve karboksi terminalleri intrasellülerdir ve glikozilasyon alanlarını içeren büyük bir ekstrasellüler düğüm, TMD 3 ve 4'ü birbirine bağlar. Serotonin taşıyıcısı, norepinefrin taşıyıcısı (NET) ve dopamin taşıyıcısı (DAT) için yaklaşık %50 mutlak homoloji sergiler, en büyük homoloji TMD'ler 1 ve 2 ile TMD'ler 4–8 arasında bulunur. En az korunan bölgeler intrasellüler amino ve karboksi-terminal kuyruklarıdır. Glikozilasyon, taşıyıcının zar içinde optimal stabilitesi için gereklidir, ancak 5-HT taşıma veya ligand bağlama için gerekli değildir. İnsan SERT üzerinde protein kinaz A (PKA) ve protein kinaz C (PKC) tarafından olası birçok fosforilasyon bölgesi bulunmaktadır. Bu taşıyıcılar, daha önce tanımlanan veziküler taşıyıcı ailesinden farklı olarak Na ve Cl'a

bağımlı nörotaşıyıcı ailesinin üyeleri olarak kabul edilir. Bu aile üyelerinin hepsi çoklu intronlar tarafından parçalanır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT, norepinefrin (NE) ve dopamin (DA) taşıyıcıları arasında yapısal homoloji olsa da, bazı ilaçlar sadece bu proteinlerden birinin aktivitesini önlemekte büyük seçicilik gösterir. Örneğin, seçici NE geri alım inhibitörü reboxetine, NE alımını, 5-HT alımına kıyasla 150 kat daha güçlü inhibe etme potansiyeline sahiptir. Buna karşılık, selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) olan fluoksetin, sertralin ve paroksetin gibi ilaçlar, 5-HT'nin alımını NE'nin alımına göre 25-100 kat daha güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. Ayrıca, tüm üç taşıyıcıyı nonselektif olarak inhibe eden kokain gibi ilaçlar da bulunmaktadır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

25 yılı aşkın bir süredir, birçok trisiklik antidepresanın (TCA), örneğin, imipramin ve amitriptilin, hem NE hem de 5-HT geri alımını güçlü bir şekilde inhibe ettiği bilinmektedir. Bazı trisiklik antidepresanlar, örneğin desipramin, NE'nin alımını 5-HT'nin alımından çok daha etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Bu nedenle, bir süre boyunca, 5-HT alımının, bu farmakolojik özelliğe sahip olan TCA'ların antidepresan etkisinde herhangi bir rol oynayıp oynamadığı belirsizdi. Ancak, son zamanlarda, etkili antidepresanlar olan fluoksetin, paroksetin ve sertralin gibi SSRI'lar piyasaya sürülmüştür ve bu SSRI'lar, 5-HT'nin alımını NE'nin alımına göre çok daha etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Bu nedenle, NE veya 5-HT'nin alımının seçici inhibe edilmesi, antidepresan etkisine neden olabilir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

SSRI'lar, başlangıçta antidepresan olarak geliştirilen ilaçlardır ve şu anda birçok ek nöropsikiyatrik bozukluğun tedavisinde en yaygın kullanılan ajanlardır (örneğin, yeme bozuklukları, anksiyete, obsesif-kompulsif bozukluk). In vivo olarak 5-HT alımını inhibe etmede bir miktar seçiciliğe sahip olan bir TCA olan klomipramin, obsesif-kompulsif bozukluk (OKB) ile ilişkilendirilen semptomlarda klinik olarak önemli iyileşme sağlar. Bu nedenle, 5-HT alımının inhibe edilmesi sadece antidepresan etkiye sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda OKB dahil olmak üzere anksiyete bozukluklarının semptomlarını da azaltır. Bu klinik etki, NE alımını seçici olarak inhibe eden desipramin gibi ilaçlarda bulunmaz (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.23. Serotoninin Başlıca Katabolizması

Monoamin oksidaz (MAO) serotonin'i 5-hidroksi-indolasetaldehide dönüştürür ve bu ürün, bir NAD-bağımlı aldehit dehidrojenaz tarafından 5-

hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) oluşturmak üzere oksitlenir (Şekil 4). MAO'nun en az iki izoenzimi bulunmaktadır, bunlar tip A ve tip B olarak adlandırılır. Bu izoenzimler, nöronlarda, gliada ve diğer hücrelerde dış mitokondriyal membranların integral flavoproteinleridir. MAO izoenzimlerinin varlığına dair ilk kanıtlar, MAO inhibitörlerine karşı farklı substrat özellikleri ve duyarlılıkları temelinde ortaya çıkmıştır. Örneğin, 5-HT ve NE, tip A MAO tarafından tercihen metabolize edilir. Her bir MAO formunu selektif olarak inhibe eden maddeler mevcuttur, örneğin tip A için klorjin veya moklobemid ve tip B için deprenil gibi. Bu iki MAO formunun varlığının kesin kanıtı, insan karaciğerinden tip A ve tip B MAO'yu kodlayan cDNA'ların klonlanmasıyla ortaya kondu. Tip A ve tip B MAO'ların çıkarılmış aminoasit dizileri, sırasıyla yaklaşık% 70 homoloji gösterir ve kütlesi sırasıyla 59,700 Dalton ve 58,800 Dalton'dur (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Beyindeki MAO'nun iki formunun nöroanatomik lokalizasyonunu incelemek için birkaç farklı teknik kullanılmıştır, örneğin, immünohistokimyasal teknikler ve in situ hibridizasyon histokimyası. İlginçtir ki, sıçan beyninde tip A enzim tip B enzime kıyasla daha fazladır, oysa insan beyninde tip B MAO tip A'dan daha fazla bulunur. İlginç bir şekilde, serotonin içeren hücre gövdeleri çoğunlukla tip B MAO içerir, bu nedenle serotonin içeren nöronlar 5-HT'yi tercihen metabolize etmeyen MAO formunu (tip B) içerir. Bu, tip B MAO'nun serotonin içeren nöronlarda hücrenin çeşitli doğal substratları (örneğin, dopamin) biriktirmesini önlediği hipotezine yol açmıştır; bu substratlar, 5-HT'nin depolanması, salınımı ve alımı gibi olaylara müdahele edebilir. Ayrıca, sıçanlara tip A MAO'nun seçici bir inhibitörü olan klorjilin ile tedavi edildiğinde, beyindeki 5-HT içeriğini artırır ve beyindeki 5-HT'nin 5-HIAA'ya dönüşümünü azaltır. Bu nedenle, 5-HT'nin, serotonin içeren nöronlarda bu enzim formunu içermemesine rağmen, in vivo olarak tip A MAO tarafından tercihen oksitlendiği düşünülebilir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Bir başka antidepresan ilaç sınıfı da monoamin oksidaz inhibitörleridir (MAOI), örneğin, fenelzin ve tranilsipromin gibi. Bu ilaçlar, MAO tip A ve tip B'nin aktivitesini geri dönüşümsüz olarak inhibe ederek çalıştıkları için seçici değildirler. MAO, 5-HT, DA ve NE gibi biyojenik aminleri metabolize ettiğinden, bu nörotransmitterlerin bu ilaçların etki mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.24. Serotonin ve Davranış

Serotonin, neredeyse her türlü davranışta, örneğin iştah, duygusal, motor, bilişsel ve otonom davranışlarda rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak, fizyolojik bir bakış açısından, 5-HT'nin bu davranışları özel olarak etkileyip etkilemediği veya daha genel olarak sinir sisteminin aktivitesini düzenleyerek, özellikle organizmanın uyarılma düzeyiyle uyum içinde aktivitenin tonunu belirleyip belirlemediği net değildir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT'nin sinir sistemi aktivitesinin tonunu modüle ederek davranışlar üzerinde genel bir etkisi olduğu görüşüne katkıda bulunan temel veri, rafe çekirdeklerindeki serotonerjik soma aktivitesinin ateşleme hızıyla ilgili çalışmalardan gelmektedir. Sessiz uyanıklık durumunda, serotonerjik nöronlar yaklaşık 1-5 ateşleme/sn hızında yavaş, saat benzeri bir aktivite sergiler, bu aktivite hayvan uykulu hale geldikçe ve yavaş dalga uykusuna girdikçe yavaşça azalır. Bu genel nöronal aktivitenin yavaşlamasıyla birlikte ateşleme düzeninde bir azalma görülür. REM (hızlı göz hareketi) uykusunda, bu nöronların aktivitesi sessiz hale gelir. Belirli türde uyarıcılara tepki olarak, bu serotonerjik nöronların ateşleme hızı artar. Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, bu tür veriler, serotonerjik nöronların aktivitesinin davranışsal uyanıklık/aktivite düzeyi ile ilişkili olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır. Bu veriler aynı zamanda, serotonerjik nöronların aktivitesinin motor çıkışla ilişkili olduğu fikrini de desteklemektedir, çünkü REM uykusunda büyük iskelet kas gruplarının atonisi meydana gelir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT sisteminin bozulması, çeşitli davranışlarda değişikliklere neden olabilir. Ayrıca, serotonerjik nöronları ve reseptörlerini hedef alan ilaçlar, depresyon, anksiyete bozuklukları ve şizofreni gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle, 5-HT'nin birçok davranış ve fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. 5-HT'nin nöroendokrin fonksiyon, sirkadiyen ritimler ve beslenme davranışı gibi alanlardaki araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT sisteminin bozulması, çeşitli davranışlarda değişikliklere neden olabilir. Ayrıca, serotonerjik nöronları ve reseptörlerini hedef alan ilaçlar, depresyon, anksiyete bozuklukları ve şizofreni gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle,

5-HT'nin birçok davranış ve fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.25. Serotonin Nöroendokrin Fonksiyonları Düzenler

Hipotalamus, anterior hipofiz bezinden hormon salınımını kontrol etmek için çeşitli salınım faktörleri ve salınımı inhibe eden faktörler salgılar. 5-HT, özellikle adrenokortikotropin (ACTH), prolaktin ve büyüme hormonunun salınımının düzenlenmesinde hipotalamik kontrolde yer alan birçok nörotransmitterden biridir. Serotonerjik terminaller ile kortikotropin salıcı hormon (CRH) içeren nöronlar arasında doğrudan bir sinaptik bağlantı tanımlanmıştır. 5-HT'nin etkisini artıran prekürsörler veya ilaçlar, portal kanda CRH'yi ve plazmada ACTH'yi artırabilir. Hipotalamus düzeyindeki etkilerinin yanı sıra, 5-HT'nin doğrudan ACTH salınımını uyararak anterior hipofiz üzerinde ve kortikosteronun veya kortizolün salınımını düzenleyerek adrenal korteks düzeyinde de etkileri olabilir. Ancak, 5-HT'nin stres kaynaklı CRH yükselmelerini veya HPA ekseni'nin döngüsel periyotlarını düzenleme konusundaki rolü belirsizdir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT'nin öncüleri, salınımı artırıcı ajanlar, geri alım inhibitörleri ve reseptör agonistleri ve antagonistleri, serotonerjik fonksiyonu araştırmak için kullanılmıştır. Örneğin, intravenöz olarak verilen serotonin öncülü L-triptofanın plazma prolaktin ve büyüme hormonu konsantrasyonlarını istikrarlı bir şekilde artırdığı ancak ACTH veya kortizolü artırmadığı gözlemlenmiştir. Fenfluramin, plazma prolaktininde doza bağlı bir artışa neden olur. İnsanlara uygulandığında, 5-HT reseptör agonistleri, 5-HT1A veya 5-HT2 reseptörlerini uyararak ayrıca plazma ACTH, kortizol, prolaktin ve belki de büyüme hormonu düzeylerini artırır. İnsanlardaki bu ajanlara karşı nöroendokrin yanıt, psikiyatrik bozuklukları olan hastalarda merkezi serotonerjik sistemin işlevini değerlendirmek için klinikte kullanılmıştır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.26. Serotonin Sirkadiyen Ritmi Düzenler

Serotonin, aynı zamanda sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesinde de rol oynayan bir kimyasaldır. Hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeği (SCN), elektrofizyolojik ve metabolik döngüler üretir ve yaklaşık her 24 saatte bir tekrarlanan ritimlere sahiptir. İzole edildiğinde, SCN in vitro ortamda 24 saatlik ritimler üretmeye devam eder. Normalde bu ritim, çevresel fotoperiyotla, yine yaklaşık 24 saat olan bir dögüyle senkronize edilir. Sirkadiyen ritim düzenlemesine serotonerjik bir katkı olduğu

düşünülmüştür çünkü SCN, rafe çekirdeklerinden çok yoğun serotonerjik innervasyon alır. Ayrıca, fotik bilgilerin dolaylı olarak SCN'ye eriştiği bir beyin alanı olan intergenikülat yaprağa serotonerjik bir innervasyon da bulunmaktadır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Serotonin, ışığın döngüsel ritmiklik üzerindeki etkilerini modüle eden bir inhibe edici kimyasal olarak etki edebilir. 5-HT veya reseptör agonistlerinin doğrudan SCN'ye uygulanması, gece boyunca ışığın neden olduğu faz kaymalarını engeller ancak gündüz boyunca faz ilerlemelerine neden olur. Bu tür ajanlar, elektrofizyolojik olarak ölçülen ışığın uyarıcı etkisini, hem SCN'de hem de lateral genikül kompleksinde inhibe eder. Nonselektif 5-HT agonisti kuipazin, beyin dilimlerinde izole edilmiş SCN'de kaydedilen tek hücreli spontan elektriksel aktivitenin ritmini sıfırlamak veya kaydırmak için kullanılmıştır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Laboratuvar hayvanlarında serotonerjik nöron lezyonları, bazı araştırmacılara göre lokomotor ritimleri bozabilir veya günlük kortikosteron ritmini kaybetmeye neden olabilir. Sonuçlar, hamsterda medyan rafe çekirdeğinin SCN'yi, dorsal rafe çekirdeğinin ise intergenikül lezyonu (IGL) innerve ettiğini göstermektedir; ayrıca, SCN'ye olan serotonerjik innervasyon lokomotor aktivitenin fotik uyarımı için gereklidir ve lokomotor aktivitenin fotik uyarımı için IGL'ye olan serotonerjik innervasyon gerekli değildir. Görünüşe göre, SCN sirkadiyen saat, SCN'deki serotonerjik reseptörlerin uyarılması tarafından modüle edilmekte ve serotonerjik projeksiyonların SCN'ye etkisi, sağlam hayvanlarda SCN'nin fazını modüle edebilir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.27. Serotonin ve İştah

Farmakolojik çalışmalar, 5-HT'nin beslenme davranışı üzerinde inhibe edici bir etkisi olduğu fikrine önemli ölçüde katkıda bulunmuştur. Doğrudan veya dolaylı olarak postsinaptik 5-HT reseptörlerini aktive eden ilaçlar, besin tüketimini azaltırken, serotonerjik iletimi inhibe eden maddeler ise besin alımını artırır. Bunun tam olarak nasıl gerçekleştiği tartışmalıdır; 5-HT'nin diyetin makrobesin maddelerinin seçimini yönettiği, gıdanın tat kalitelerine verdiği yanıtları etkilediği veya beslenmeyi azaltmak için mide aktivitesini modüle ettiği iddiaları bulunmaktadır. Belki de en kapsamlı ve kalıcı görüş, artmış serotonerjik aktivitenin özellikle tokluk hissini artırarak

doygunluğun hızını artırması ve tokluk durumunu uzatmasıdır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Fenfluramine, başlangıçta rasemat formu ve daha yakın zamanlarda d-izomeri olarak, beslenme davranışındaki serotonerjik mekanizmaları incelemek için kullanılan prototipik bir ilaçtır. Daha önce bahsedildiği gibi, fenfluramine, 5-HT'nin salınımını tetikler ve geri alımını inhibe eder. Fenfluramine, yemek boyutunu, yeme hızını ve öğünler arasında yeme alışkanlığını azaltır. Bu muhtemelen, insanda açlık hissini azaltma ve "doygunluk" hissini artırma yeteneği ile ilgilidir. Fluoksetin gibi serotonin geri alım inhibitörleri ve serotonin öncülerinin, fenfluramine'in bu etkilerini taklit ettiği bilinmektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Beyindeki çeşitli mekanizmaların, serotonerjik ilaçların tokluk üzerindeki etkilerinden sorumlu olduğu görünmektedir. Örneğin, postsinaptik 5-HT1B reseptörleri öğünlerin boyutunu düzenlemede rol oynarken, 5-HT2C reseptörleri yeme hızını etkiler. Fenfluramine tarafından üretilen kilo kaybının büyük bir kısmı, fenfluramine'in aktif metaboliti olan norfenfluramine aracılığıyla merkezi sinir sistemindeki 5-HT2C reseptörlerinin doğrudan aktive edilmesine atfedilmiştir. Fonksiyonel 5-HT2C veya 5-HT1B reseptörlerine sahip olmayan fareler obezdir ve fenfluramine'in beslenme üzerindeki etkilerine karşı dirençlidir. Ayrıca, 5-HT6 reseptörlerinin beslenme ve vücut ağırlığı düzenlemesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Woolley ve meslektaşları, 5-HT6 reseptör fonksiyonunu azaltmanın veya muhtemel 5-HT6 reseptör antagonisti Ro 04-6790'un intraserebroventriküler uygulaması veya sistemik uygulaması ile bilişsel performansın arttığını, aynı zamanda yiyecek alımını ve vücut ağırlığını azalttığını bulmuşlardır. Yüksek yağ içeren bir diyet ile beslenirken, 5-HT6 geni silinmiş fareler, normal farelere göre daha az yemek yer ve daha az kilo alırlar (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Dünya genelinde obezite ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam ettiği için etkili ve güvenli anoreksijenik ajanların geliştirilmesine büyük ilgi vardır. Fenfluramin ve daha etkili enantiyomeri dekfenfluramin, bu ilaçların kullanımıyla artan kalp kapak defektleri ve pulmoner hipertansiyon insidansı nedeniyle piyasadan çekilmeden önce, kilo kaybı ajanları arasında en etkili olanlardan biri olarak kabul edilmekteydi. Fenfluramin'in anoreksijenik etkileri, merkezi sinir sistemindeki 5-HT2C reseptörlerinin aktive edilmesine atfedildiğinden, 5-HT2C reseptörü ilaç geliştirmek

için hala çekici bir hedef olarak görülmektedir. Ancak, bu yeni ilaçların, fenfluraminin ciddi istenmeyen yan etkilerinden sorumlu olan ek serotonin reseptörlerini, yani 5-HT2A ve 5-HT2B (muhtemelen kalp kapak hipertrofisinin oluşumuna aracılık eder) veya pulmoner hipertansiyon gelişiminden sorumlu olan 5-HT1B reseptörlerini aktive etmemek için selektif olmaları gerekecektir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28. Serotonin Reseptörleri

Serotonin, en eski sinyal moleküllerinden biridir. Tek hücreli ökaryotlarda paramecium ve tetrahymena'da bulunur, yüzme davranışını ve büyümeyi modüle edebilir. (Nichols, & Nichols, 2008). Anlamlı bir ortoloji paylaşan serotonin reseptörleri, evrimsel ağacın oldukça çeşitli bir yelpazesinde bulunur; bunlar planarya, Caenorhabditis elegans ve Drosophila melanogaster'dan insanlara kadar uzanır. Bu çeşitlilikten, rodopsin-GPCR (G protein eşleşimli reseptör) ailesinin ilkel serotonin reseptörünün muhtemelen 700-750 milyon yıl öncesine, muhtemelen muskarinik, dopaminerjik ve adrenerjik reseptör sistemlerinin evriminden önce ortaya çıkmış olabileceği öne sürülmüştür. Protein ailesi olarak GPCR'nin yaklaşık 1.2 milyar yıl önce evrimleştiğine inanılmaktadır (Peroutka, & Howell, 1994).

Önemli bir şekilde, serotonin reseptörleri, rodopsin benzeri aile içinde en eski reseptörlerden biri gibi görünmektedir. (Römpler ve ark., 2007). G-protein eşleşimli, %25'ten az homolog olan üç majör 5-HT reseptörü sınıfı bulunmaktadır, 5-HT1 sınıfı, 5-HT2 sınıfı ve 5-HT4, 5-HT6, 5-HT7 gruplarını içeren bir sınıf (bu sınıf 5-HT7-benzer reseptörler olarakta geçer), muhtemelen yaklaşık 600-700 milyon yıl önce, omurgasızlardan omurgalıların türediği dönemden önce farklılaşmış olabilirler (Nichols, 2006). Memeli 5-HT reseptör alt tipleri son 90 milyon yıl içinde daha da farklılaşmıştır (Nichols, & Nichols, 2008).

Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, bu uzun evrimsel geçmişin bir sonucu olarak, serotonin normal fizyolojide gelişimsel, kardiyovasküler, gastrointestinal ve endokrin fonksiyonlar, duyusal algı, saldırganlık, iştah, cinsel fonksiyon, uyku, ruh hali, biliş ve hafıza gibi birçok süreçte rol oynamaktadır. Memelilerdeki serotoninin çoğu, başlıca olarak enterokromafin hücreleri tarafından üretilen bağırsakta bulunur. Ayrıca, kan trombositlerinde de depolanır ve bu nispeten büyük havuz, izolasyonunu ve yapısının açıklanmasını sağlamıştır. Daha sonra merkezi sinir sisteminde bulunmuştur; burada

çeşitli ve son derece önemli fonksiyonları olduğu kanıtlanmıştır (Nichols, & Nichols, 2008).

2.28.1. 5-HT1 reseptör ailesi, 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-ht1E ve 5-HT1F reseptörlerinden oluşur

5-HT1 reseptör ailesindeki beş reseptör alt tipi, genel olarak %40 ila %63 arasında dizi homolojisi paylaşır. Bu 5-HT reseptörleri, tercihen Gi/o ailesine ait G proteinleri aracılığıyla adenilil siklazın inhibisyonuna bağlanır. 5-HT1C reseptör ismi bulunmamaktadır çünkü bu reseptör, yapısal, işlevsel ve transdüksiyonel benzerlikler nedeniyle 5-HT2 reseptör ailesine benzediği için 5-HT2C reseptörü olarak yeniden adlandırılmıştır. 5-ht1E reseptörü için küçük harfli bir isimlendirme kullanılır çünkü bu reseptörlerin sağlam dokuda fizyolojik bir rolü bulunamamıştır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.1.1. 5-HT1A reseptörü

5-HT1A reseptörü kortikal ve limbik yapılarında (örneğin, hipokampüs, entorhinal korteks, septum, amigdala, frontal korteks) yüksek yoğunlukta bulunur. 5-HT1A reseptörünün beyindeki dağılımı, bu 5-HT reseptör alt tipinin bilişsel veya bütünleştirici işlevlerde, ayrıca duygusal durumlarda rolü olabileceğini düşündürmektedir. 5-HT1A reseptörleri, serotonin innervasyonunun terminal alanlarında postsinaptik olarak bulunur. Ayrıca, 5-HT1A reseptörleri, özellikle dorsal ve medyan rafe çekirdekleri gibi serotonerjik hücre gövde bölgelerinde yüksek yoğunlukta bulunur. Burada somatodendritik oto-reseptörler olarak işlev görürler ve serotonerjik nöronal aktivitesinin negatif geri besleme modülasyonunda rol alırlar. Bu nedenle, somatodendritik 5-HT1A oto-reseptörleri, serotonerjik nörotransmisyonu düzenlemede önemli bir rol oynarlar. Hipokampus gibi serotonin innervasyonunun terminal alanlarında, 5-HT1A reseptörleri adenilil siklaz aktivitesinin inhibisyonu ile birlikte potasyum kanallarının açılmasına bağlı olarak nöronal hiperpolarizasyona neden olan işlevlerle ilişkilidir (Tablo 3). Ancak, dorsal rafe çekirdeğinde 5-HT1A reseptörleri potasyum kanallarının açılmasına neden olurken, adenilil siklazın inhibisyonunu sağlamadığı görünmemektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Merkezi sinir sistemindeki 5-HT1A reseptörlerinin aktive edilmesi çeşitli fizyolojik ve davranışsal tepkilere neden olur. 5-HT1A reseptörleri beslenme, cinsel davranış ve vücut sıcaklığını düzenler. 5-HT1A reseptörlerinin aktive edilmesi,

adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını uyarır. 5-HT1A reseptörü, anksiyete ve depresyon gibi duygudurum bozukluklarında rol oynadığı düşünülmektedir. Yeni antianksiyete ilaçlarının, özellikle azapiron grubu ilaçlar (örneğin, buspiron, Buspar), 5-HT1A reseptörlerine yüksek afinite ile agonist olduğu bilinmektedir. Postsinaptik 5-HT1A reseptörleri, davranışsal hayvan modellerinde antidepresan ilaçların etkilerine ve hipokampüsteki hücrelerin çoğalma ve sağkalımına aracılık eder. Anksiyete ve depresyonu tedavi etmek için kullanılan ilaçların kronik kullanımı sonrasında somatodendritik 5-HT1A oto-reseptörlerinin duyarsızlaşması da ilgi çekicidir, çünkü bu reseptörün serotonerjik nöronal ateşleme ve dolayısıyla serotonerjik nörotransmisyonu düzenlemedeki kritik rolü vardır. Anksiyete ve depresyonu tedavi etmek için kullanılan ilaçların kronik kullanımı sonrasında somatodendritik 5-HT1A oto-reseptörlerinin duyarsızlaşması da ilgi çekicidir, çünkü bu reseptörün serotonerjik nöronal ateşleme ve dolayısıyla serotonerjik nörotransmisyonu düzenlemedeki kritik rolü vardır. 5-HT1A reseptörlerinde agonist aktiviteye sahip ilaçlar, şizofreni tedavisinde ve dürtüsellik gibi davranış bozukluklarında yoğun araştırma konusudur (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

İnsan 5-HT1A reseptör geninin promotör bölgesinde yaygın bir C(1019)G polimorfizmi tanımlanmıştır. Bu polimorfizm iki trankripsiyon faktörünün tanımlandığı bir sekansta bulunur, Deaf-1 ve Hes5, allel bağımlı bir biçimde C-alleli bu transkripsiyon faktörlerine bağlanabilir ancak G-alleli bağlanamaz. Deaf-1, beyinde presinaptik ve postsinaptik 5-HT1A reseptörleri ile birlikte lokalize olmuştur, bu da hem presinaptik hem de postsinaptik 5-HT1A reseptörlerinin düzenlenmesinde bir rolü olduğunu göstermektedir, ancak farklı aktivite sergiler. Serotonerjik hücrelerde Deaf-1, 5-HT1A reseptörü ekspresyonunu bastırır. Serotonerjik olmayan hücrelerde ise, Deaf-1 arttırıcı aktivite sergiler. G-allelin, majör depresyon, anksiyete ve panik bozuklukla ilişkilendirilmiş ve depresyonlu hastalarda artmış rafe 5-HT1A bağlanma potansiyeli gösterilmiştir. Artan kanıtlar, C(-1019)G konumunun 5-HT1A reseptörü ekspresyonunun düzensizleşmesi ve ruh hastalığına yatkınlıkta işlevsel bir rol oynadığını desteklemektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Tablo 3. Merkezi Sinir Sisteminde Serotonin Reseptörleri. Bazı durumlarda küçük harfli isimlendirmeler kullanılır çünkü bu reseptörlerin sağlam dokuda ilettiği fonksiyonlar bilinmemektedir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Reseptör	Beyin dağılımı	Etki mekanizması
5-HT1 Reseptör Ailesi		
5-HT1A	Hipokampüs, amigdala, septum, entorhinal korteks, hipotalamus, rafe çekirdekleri	Adenilil siklaz inhibisyonu, K kanalları açılımı, MAP kinaz yolak aktivasyonu
5-HT1B	Substantia nigra, bazal ganglia	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-HT1Dβ	Frontal korteks, süperior kolikül, lateral genikulat, serebellum derin çekirdekleri	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-HT1D	Globus pallidus, substantia nigra, kaudat putamen	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-HT1α	Hipokampüs ve korteks	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-ht1E	?	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-HT1F	Serebral korteks, striatum, hipokampüs, nükleus akumbens, amigdala	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-HT2 Reseptör Ailesi		
5-HT2A	Claustrum, serebral korteks, olfaktör tüberkül, striatum, nükleus akumbens	Fosfolipaz C uyarımı ve K kanallarının kapatılması
5-HT2B	Serebellum, lateral septum, dorsal hipotalamus, amigdala	Fosfolipaz C uyarımı
5-HT2C	Koroid pleksus, globus pallidus, serebral korteks, hipotalamus, septum, substantia nigra, omurilik, rafe çekirdekleri	Fosfolipaz C uyarımı
5-HT3 Reseptör Ailesi		
5-HT3	Hipokampüs, entorhinal korteks	Ligand kapılı katyon kanalı
5-HT3A	Amigdala, nükleus akumbens	Ligand kapılı katyon kanalı
5-HT3B	Solitary tract sinir, trigeminal sinir, dorsal vagal sinirin motor çekirdeği, area postrema, omurilik	Ligand kapılı katyon kanalı
5-HT4	Hipokampüs, striatum, olfaktör tüberkül, substantia nigra	Adenilil siklaz uyarımı
5-ht5A	?	Adenilil siklaz inhibisyonu
5-ht5B	?	?
5-HT6	Striatum, nükleus akumbens, olfaktör tüberkül, korteks, amigdala, hipokampüs, hipotalamus,	Adenilil siklaz uyarımı
5-HT7	Serebral korteks, septum, talamus, hipotalamus, amigdala, hipokampüs	Adenilil siklaz uyarımı

2.28.1.2. 5-HT1B ve 5-HT1D reseptör alt tipleri

5-HT1B ve 5-HT1D reseptör alt tipleri adenilil siklaz aktivitesinin inhibisyonu ile ilişkilidir. Farmakolojik olarak 5-HT1B reseptörleri olarak tanımlanan bağlanma bölgeleri, belirli kemirgenlerde (sıçan, fare, hamster) karakterize edilmiştir, 5-HT1D reseptörü ise farmakolojik kriterler kullanılarak kobay, köpek, domuz, inek ve insan gibi türlerde karakterize edilmiştir. 5-HT1B ve 5-HT1D reseptörleri, aynı reseptörün türler arası varyantları olarak kabul edildi çünkü farmakolojik profilleri tamamen aynı olmasada oldukça benzerdir ve beyindeki dağılımları neredeyse aynıdır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Biokimyasal, farmakolojik ve işlevsel veriler, sıçanlarda ve farelerde bulunan 5-HT1B reseptörünün ve insan da dahil olmak üzere diğer türlerde bulunan 5-HT1D reseptörünün işlevsel olarak eşdeğer tür homologları olduğunu öne sürmektedir. Ancak, insan 5-HT1D reseptörünü kodlayan iki genin, 5-HT1Dα ve 5-HT1Dβ'nin keşfi, bu hikayeyi biraz karmaşık hale getirmiştir. İnsan 5-HT1Dβ reseptörünün, kemirgen 5-HT1B reseptörüyle yüksek derecede homolojiye sahip olduğu gösterilmiştir. Daha sonra insan 5-HT1Dα'ya homolog bir genin sıçanda keşfedildiği bildirildi. Bu gen, 5-HT1D'nin farmakolojik profiline sahip bir reseptörü kodlamaktaydı. Bu nedenle, hem sıçan hem de insan 5-HT1B ve 5-HT1D reseptörlerini eksprese etmektedir. Sonuç olarak, 5-HT1B/1D reseptörleri için isimlendirme yeniden değerlendirildi. Bu yeni isimlendirme şeması, insan 5-HT1Dβ reseptörünün farklı farmakolojiye sahip olmasına rağmen kemirgen 5-HT1B reseptörünün tür eşdeğeri olduğunu kabul eder ve 5-HT1Dβ'yi 5-HT1B reseptör sınıflandırmasına yeniden hizalar. 5-HT1B reseptörlerinin farklı türler arasındaki önemli farmakolojik farklılıklarından dolayı, tür özgü 5-HT1B reseptörlerini belirtmek için ön ekler sıkça kullanılır. Örneğin, r5-HT1B ve h5-HT1B sırasıyla sıçan ve insan reseptörlerini ifade eder. Hem sıçan hem de insanlarda eksprese edilen 5-HT1Dα reseptörü, 5-HT1D reseptörü olarak yeniden sınıflandırılmıştır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT1B reseptörünün işlevi ve nöroanatomik dağılımı hakkındaki bilgilerin çoğu eski sınıflandırma şemasına göre, kemirgenlerde 5-HT1B reseptörü ve sığır, kobay ve insan beyinlerinde 5-HT1D reseptörü olarak adlandırılan reseptöre atfedilir. 5-HT1B (5-HT1Dβ, r5-HT1B, h5-HT1B) reseptörü, özellikle globus pallidus ve

substantia nigra'da olmak üzere bazal gangliyonlarda yüksek yoğunlukta bulunur. (Tablo 3). 5-HT1B reseptörünün nöroanatomik lokalizasyonu, Parkinson hastalığı gibi bazal gangliyonları içeren beyin hastalıklarında rol alabileceği ilginç bir olasılığı ortaya çıkarır. Fonksiyonel çalışmalar, 5-HT1B reseptörlerinin serotonerjik nöronların presinaptik terminallerinde bulunduğunu ve serotonin salınımını modüle ettiğini göstermektedir. 5-HT1B reseptörleri, postsinaptik olarak da bulunur ve burada diğer nörotransmitterlerin salınımını düzenleyebilirler. Örneğin, hipokampusta asetilkolin ve prefrontal kortekste dopamin salınımını modüle edebilirler. Postsinaptik 5-HT1B reseptörleri ayrıca beyin arterleri ve diğer vasküler dokularda da bulunur. 5-HT1A ve 5-HT1B reseptör agonistlerine "serenikler" adı verilmiştir çünkü sıçanlarda ve farelerde seçici bir şekilde sedasyon olmadan agresif davranışı baskılama yetenekleri bakımından etkilidirler. 5-HT1B/1D reseptör agonisti olan ilaçlar (örneğin, sumatriptan, zolmitriptan), migren tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, kraniyal kan damarlarını daraltır ve plazma ekstravazasyonuna yol açan dura materdeki nörojenik inflamasyonu inhibe ederler (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT1D (5-HT1Dα) reseptörünün beyindeki dağılımını belirlemek zor olmuştur çünkü seçici radyoligandların eksikliği söz konusudur. 5-HT1D reseptörüne atfedilen reseptör bağlanma bölgeleri bazal gangliyonlarda (globus pallidus, substantia nigra, kaudat putamen) ve ayrıca hipokampus ve kortekste bulunmaktadır. In situ hibridizasyon histokimya tekniği kullanılarak, beyinde 5-HT1D reseptörlerinin mRNA'sını eksprese eden hücrelerin dağılımı karakterize edilmiştir. 5-HT1D reseptör mRNA'sı, düşük seviyelerde bazal gangliyonlarda, dorsal rafe çekirdeğinde ve lokus seruleus'ta eksprese edilir. Bu durum, 5-HT1D reseptörünün çoğunlukla serotonerjik ve serotonerjik olmayan nöronların akson terminallerinde bulunduğunu gösterir. Dorsal rafe çekirdeğinden 5-HT'nin salınımı, muhtemelen serotonerjik terminallerde bulunan 5-HT1D reseptörlerinin kontrolü altında olduğu görünmektedir. Sinirsel iltihaplanma ve trigeminal ağrı algısının 5-HT1D reseptör aracılığıyla olabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, migren için kullanışlı bir terapötik hedef olarak 5-HT1D reseptörüne büyük ilgi vardır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.1.3. 5-ht1E reseptörü

5-ht1E reseptörü, [3H]-5-HT kullanılarak yapılan radyoligand bağlanma çalışmalarında, insan frontal korteks homojenatlarında ilk kez tanımlanmıştır. 5-ht1E

reseptörü için belirli radyoligandların eksikliği nedeniyle, bu reseptörün beyindeki genel dağılımı bilinmemektedir. 5-ht1E reseptörü mRNA'sının korteks (özellikle entorhinal korteks) ve kaudat putamen'de bulunduğu tespit edilmiştir. Tüm doku içinde 5-ht1E reseptörünün işlevi, seçici agonist veya antagonizm eksikliği nedeniyle bilinmemektedir. Transfekte hücrelerde, 5-ht1E reseptörü adenilil siklaz aktivitesinin inhibisyonuna neden olmaktadır. 5-ht1E reseptörü, diğer 5-HT1 reseptörlerine göre en yüksek 5-HT1D reseptörü ile homoloji derecesine (%64) sahiptir. 5-ht1E reseptörü mRNA ve bağlanma bölgeleri kemirgen ve insan beyinlerinde haritalanmış olmasına rağmen, 5-ht1E reseptörünün fizyolojik rolü halen belirlenememiştir ve bu nedenle isimlendirilmesinde küçük harfler kullanılır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.1.4. 5-HT1F reseptörü

5-HT1F reseptörü 1993 yılında klonlanmış ve sekansı belirlenmiştir ve 5-ht1E reseptörü ile en büyük sekans homolojisini (%61) paylaşmaktadır. 5-HT1F reseptörü mRNA'sı korteks, hipokampus, dentat girus, solitary tract, omurilik, uterus ve mezenterde bulunmaktadır. Transfekte hücrelerde, 5-HT1F reseptörü adenilil siklazın inhibisyonuna neden olur. 5-HT1F reseptörü için seçici agonistler veya antagonisler çok yakın zamana kadar mevcut olmadığı için, beyinde 5-HT1F reseptörünün dağılımı veya işlevi hakkında çok az bilgi bulunmaktaydı. Seçici 5-HT1F radyoligandı [3H] LY334370'nin geliştirilmesiyle, 5-HT1F reseptör bölgeleri korteks, nükleus akumbens, striatum, amigdala ve hipokampusta bulunmuştur. 5-HT1F reseptörü, migren karşıtı ilaçlar için bir hedef olarak yoğun araştırmaların konusu olmuştur. 5-HT1F reseptörlerinin in vivo aktivasyonu, migrenin olası bir nedeni olarak düşünülen nörojenik inflamasyonun bir bileşeni olan dura materde plazma ekstravazasyonunun inhibisyonu ile ilişkilidir. 5-HT1F reseptörlerinin aktivasyonu, insan damarlarının daralmasına (5-HT1B/1D reseptörlerinin aksine) aracılık etmediğinden, 5-HT1F reseptörü agonistleri migren tedavisinde istenmeyen kardiyovasküler yan etkilerden yoksun olacaktır, bu da bir avantajdır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.2. 5-HT2 reseptör ailesi

5-HT2 reseptör ailesi, 5-HT2A, 5-HT2B ve 5-HT2C reseptör alt tiplerinden oluşur. 5-HT2 reseptör ailesindeki üç reseptör alt tipi, genel olarak %46-50 oranında dizi benzerliği paylaşır. 5-HT2 reseptör ailesinin üyeleri, G proteinleri ailesi Gq/11 aracılığıyla fosfolipaz C sinyalizasyon kaskadına bağlanır. Bu kaskad, membran

fosfatidilinositol 4,5-bisfosfatın (PIP2) hidrolizi ve hücre içi kalsiyum artışlarını içerir. 5-HT2C reseptörü eskiden 5-HT1C reseptörü olarak biliniyordu. Seçici ilaçların, 5-HT2 reseptör ailesinin üyeleri arasında ayrım yapabilmesi çok yakın zamana kadar mümkün olmadığından, 5-HT2A reseptörünün birçok fonksiyonel ve klinik ilişkisinin aslında 5-HT2C veya 5-HT2B reseptörünü içerebileceği veya onlara atfedilebileceği önemli bir noktadır. Bu durum, 5-HT2A reseptörüne atfedilen etkilerin ve araştırmaların yeniden değerlendirilmesini gerektirebilir, çünkü bu etkilerin bir kısmı aslında 5-HT2C veya 5-HT2B reseptörlerine özgü olabilir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.3. 5-HT3 reseptörü

5-HT3 reseptörü, Gaddum ve Picarelli'nin klasik M reseptörüne karşılık gelir. Genel elektrofizyolojik özellikleri ve dizisi temel alındığında, ligand-kapılı iyon kanalı süper ailesinin bir üyesidir. 5-HT3 reseptörü bir pentamerdir, yani bir katyon kanalını oluşturmak için beş alt ünite bir araya gelir ve bu kanal 5-HT ile kontrol edilir. Bu reseptör süper ailesinin diğer üyelerine ek farmakolojik olarak farklı tanıma bölgelerine sahiptir. Bu bölgelerde reseptörün işlevi, alkol ve anestezik ajanlar tarafından modüle edilebilir (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

5-HT3 reseptörleri, merkezi ve periferik sinir sistemlerindeki serotonerjik nöronların postsinaptik bölgelerinde bulunur. 5-HT3 reseptörleri başlangıçta periferik nöronlara sınırlı gibi görünüyordu, burada 5-HT'nin depolarize edici etkilerini ilettiği ve nörotransmitter salınımını modüle ettiği düşünülüyordu. Serotonin, gastrointestinal sistem boyunca motiliteyi ve barsak salgısını, 5-HT3 reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla düzenler. 5-HT3 reseptörleri, periferik gangliyonlarda ve sinirlerde (üst servikal gangliyon ve vagus siniri) yüksek yoğunlukta bulunur, ayrıca omuriliğin substantia jelatinosa bölgesinde de bulunur. Omurilik ve orta beyin köprüsündeki lokalizasyonları, 5-HT'nin 5-HT3 reseptörleri aracılığıyla ağrı mekanizmalarını modüle edebileceğini önermektedir. 5-HT3 reseptörleri, omurilikte P maddesinin salınımını kolaylaştırır. Beynin kortikal ve limbik bölgelerindeki 5-HT3 reseptörü bağlanma bölgelerinin lokalizasyonu, hayvanlardaki davranışsal çalışmalarla uyumludur ve 5-HT3 reseptörü antagonislerinin potansiyel anksiyolitik, antidepresan ve bilişsel etkilere sahip olabileceğini öne sürülmektedir. 5-HT3 reseptörlerinin ventral tegmental bölgedeki dopaminerjik nöronların aktivitesini modüle ettiği

gözlemi, 5-HT3 reseptör antagonistlerinin antipsikotik ilaçlar olarak potansiyeli olabileceği hipotezine yol açmıştır. Ayrıca alkol ve belirli uyuşturucuların ödüllendirici etkilerini azaltma yetisine sahip olabilirler. Beyinde 5-HT3 reseptörlerinin en yüksek yoğunluğu, kemoreseptör tetikleme bölgesinin bir alanı olan area postrema'da bulunmaktadır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

Ondansetron ve granisetron gibi 5-HT3 reseptör antagonistleri, kanser tedavisi gören hastalarda kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmanın tedavisinde önemli bir ilaç sınıfını oluşturur. Kanser tedavisi için kullanılan cisplatin ve decarbazine gibi kemoterapötik ilaçlar, gastrointestinal sistemin enterokromafin hücrelerinden 5-HT salınımını indükler. Salınan 5-HT, bağırsak düz kasını innerve eden enterik sinirlerde bulunan 5-HT3 reseptörlerini aktive eder, visseral afferent sinirlerin depolarizasyonuna neden olur ve ateşleme hızlarını arttırır. Artmış afferent girdi, bulantı ve kusmaya neden olan kemoreseptör tetikleme bölgesinin uyarılmasına yol açar. 5-HT3 reseptörlerinin antagonizması, bu olay zincirini önler veya azaltır. Bu ilaçların etki alanı, kusmayı düzenleyen merkezi alan olan kemoreseptör tetikleme bölgesinde yüksek yoğunlukta 5-HT3 reseptörlerinin bulunmasına rağmen, gastrointestinal sistemdeki 5-HT3 reseptörleridir. Ne yazık ki, kemoterapötik ilaçlar tarafından neden olan daha uzun süreli, genellikle daha hafif bir bulantı ve kusma formu, 5-HT salınımına bağlı olmayıp ve 5-HT3 reseptör antagonistleri ile iyileştirilemeyen dirençli bir formdur (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.28.4. 5-HT4, 5-HT6 ve 5-HT7 reseptörleri

5-HT4, 5-HT6 ve 5-HT7 reseptörleri, G proteinlerinin Gs ailesi aracılığıyla, adenilil siklazın uyarılmasına, cAMP oluşumunun artmasına neden olurlar. Bununla birlikte, bu reseptörlerin toplamda sadece %35 homolojiye sahip olmaları nedeniyle, bunlar bir ailenin alt tipleri olarak değil farklı reseptör grupları veya sınıfları olarak sınıflandırılır (Baghdoyan, &, Lydic 2012).

2.29. D Vitamini

Güneşimiz yanmaya başladığında, büyük miktarda enerji yaymaya başladı. Bu enerji, tüm gezegenlere bombardıman yaptı. Güneş'e uzaklık açısından üçüncü sırada gezegen olan Dünyamız büyük bir okyanus ve küçük bir kara kütlesi içeriyordu. Kabarcıklı, organik açıdan zengin gelgit havuzlarında, yaşam evrim geçirmeye başladı ve varlığı için güneş enerjisine bağımlı hale geldi. Evrimin erken dönemlerinde,

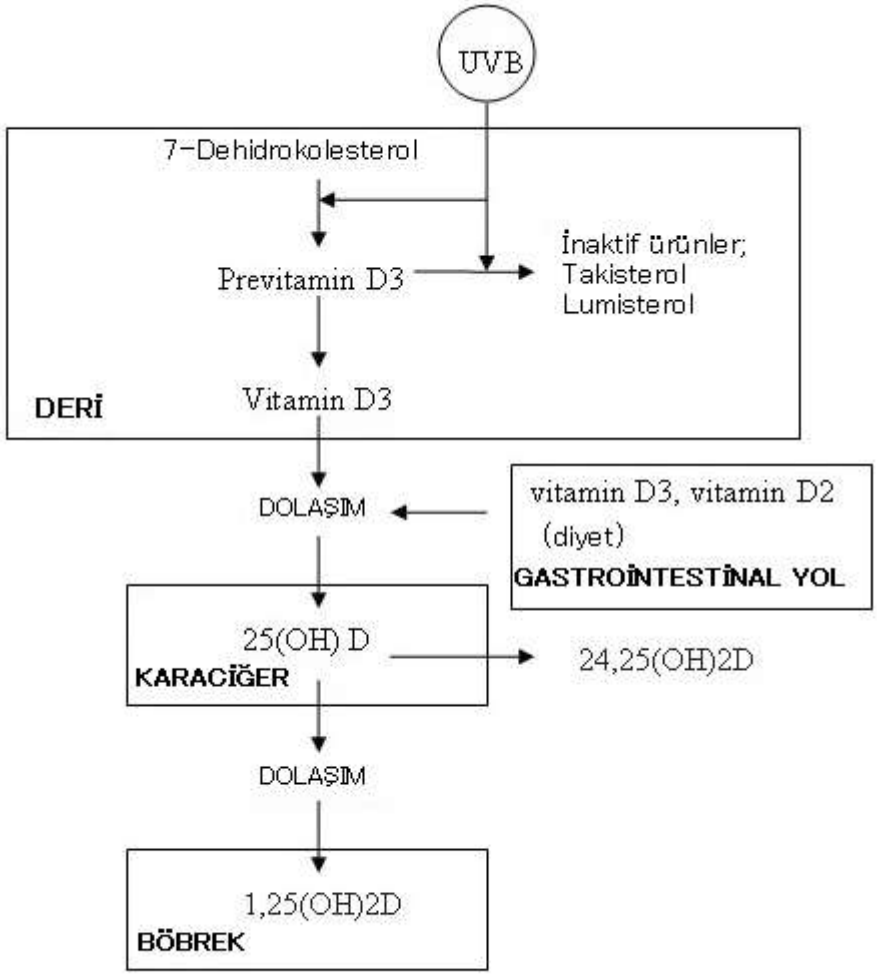
organizmalar fotosentez süreci aracılığıyla güneş enerjisini karbonhidrat formunda yakalamaya başladı. Organizmalar evrildikçe, sadece replikasyon amacıyla değil, aynı zamanda yaşamın fonksiyonlarını sürdürmek için çeşitli karmaşık makromoleküller üretmeye devam etti. Canlı formlar, okyanus ortamlarından yararlanarak sinyal iletimi ve metabolik fonksiyonlarda kalsiyuma bağımlı hale geldi. Ayrıca, kalsiyum, dış iskelet geliştiren organizmalar için önemli bir bileşen haline geldi. Kalsiyumun yapısal iskelet için kullanılması, okyanusta yaşayan omurgalıların evriminde son derece önemli bir hal aldı. Okyanuslardaki bol miktardaki kalsiyum, bir kollajen tabanlı matrikse dahil edilecek ideal bir elementti ve bu, yapısal olarak katı omurgalı iskeletine yol açtı. Omurgalı iç işkeletinin gelişimi, organizmaların boyutlarını büyütme fırsatı sağlamanın yanı sıra, organizmalara karasal bir varoluşa adım atmaları için de bir fırsat tanıdı. Omurgalı organizmalar, okyanus ortamlarını terk edip karasal bir varoluşa geçtiklerinde, kalsiyumun bitkiler tarafından kalsiyum açısından zengin toprak ortamından emilimini etkili bir şekilde kullanacak bir yöntem geliştirmeleri gerekiyordu. Şaşırtıcı bir şekilde, omurgalıların derisinde D vitamini sentezini teşvik etmek için çağrılan güneş enerjisi, bağırsak kalsiyum emilim verimini artırmaktan sorumlu hale gelmiştir (Holick, 2004).

D vitamininin dünya üzerinde ne zaman ortaya çıktığı ve işlevinin ne olduğu hakkında pek fazla bilgi bulunmamaktadır. Ancak, 750 milyondan fazla bir süredir okyanuslarda var olan ve yapısal destek için kalsiyum kullanan bazı en eski fitoplankton ve diatom yaşam formları arasında Emiliania huxleyi bulunmaktadır. E. huxleyi içindeki ergosterol (provitamin D2) adlı madde, simüle edilmiş güneş ışığına maruz bırakıldığında, previtamin D2'ye dönüşmüştür (ki bu daha sonra hızla vitamin D2'ye izomerize olmuştur) (Holick, 2003). Skeletonema menzelii adlı bir diatom türü de ergosterol içeren bir diğer organizmadır ve ergosterolü previtamin D2'ye dönüştürmüştür. Ergosterolün, previtamin D2'nin ve D2 vitaminnin omurgasız türlerdeki biyolojik fonksiyonları hakkında pek az şey bilinmektedir. Ergosterol ve ışık kaynaklı ürünlerin yüksek miktarda ultraviyole radyasyonu emmeleri nedeniyle ideal bir güneş koruyucu sistemi olabileceği öne sürülmüştür. Ergosterol, previtamin D2, D2 vitamini ve bunların ışık kaynaklı ürünleri, DNA, RNA ve proteinler için zararlı olan 230-330 nm'lik ultraviyole radyasyonu etkili bir şekilde emerler. Dolayısıyla, ozon tabakasının evrimleşmediği dönemlerde (ki şu anda tüm ultraviyole radyasyonu

< 290 nm'yi etkili bir şekilde emer), ergosterol- D2 vitamini sisteminin organizmaları yüksek enerjili ultraviyole radyasyondan korumada kritik bir rol oynamış olabileceği düşünülmektedir. Bu radyasyon, ultraviyole-duyarlı proteinlere ve aynı zamanda RNA ve DNA yapılarına zarar verebilirdi. Ayrıca, ergosterolün erken yaşam formlarının plazma zarında var olduğu ve zarın geçirgenliğini değiştirmiş olabileceği düşünülmektedir (Holick, 2003; Holick, 2004).

D Vitamini, 20. yüzyılın başlarında balık yağının raşitizm üzerindeki etkisinin keşfinden sonra tanımlanan yağda çözünen bir prohormon grubudur. Bu vitamini içeren balık yağı, daha önce keşfedilen A, B ve C vitaminlerini takiben "D" olarak adlandırılmıştır (Wolpowitz, & Gilchrest, 2006). D vitaminnin iki ana biyolojik öncüsü, D3 vitamini (kolekalsiferol) ve D2 vitaminidir (ergokalsiferol) (Holick, 1990; Vieth, 2004). Hayvanlar kolesterol sentezlerler. Kolesterol biyosentetik yolağında öncü madde 7-dehidrokolesterol (provitamin D3) olarak geçer. 7-Dehidrokolesterol, birçok omurgalı hayvanın cildinde, insanlar dahil, göreceli olarak büyük miktarlarda üretilir. Ancak bazı istsinalar vardır örneğin, yarasa türleri, köstebek faresi, kediler ve köpekler gibi (How, Hazewinkel, & Mol, 1994; Pitcher, Pettifor, & Buffenstein, 1994). D3 vitamini, deride bulunan 7-dehidrokolesterolün güneşin ultraviyole B (UVB, 290-320 nm) ışınlarına maruz kalmasıyla oluşur ve daha sonra previtamin D3'e dönüşür (Wolpowitz, & Gilchrest, 2006). Güneşe maruz kalma sırasında, epidermal ve dermal hücrelerdeki 7-dehidrokolesterol, 290-320 nm dalga boyuna sahip ultraviyole B (UVB) radyasyonunu absorbe eder. Bu radyasyonun absorbe edilmesi, B-halkasındaki 5,7-dien'nin yeniden düzenlenmesine neden olur ve 9,10-sekosterol olan previtamin D3'ü oluşturmak için B-halkasında bir kırılma meydana gelir. (Holick, 2004). Isıya bağlı bir süreçte, previtamin D3 hemen D vitaminine dönüştürülür. Fazla UVB ışınları, previtamin D3'ü biyolojik olarak etkisiz metabolitleri olan takisterol ve lumisterol'e dönüştürür. Vitamin D2 ise bitkisel kökenli olup, ergosterolün dışarıdan ışınlanmasıyla üretilir ve beslenme yoluyla dolaşıma girer (Wolpowitz, & Gilchrest, 2006). Güneşe maruz kalmadan ve diyetle alınan her iki vitamin D öncüsü de karaciğere girdiklerinde 25-hidroksivitamin D [25(OH)D] (kalsidiol) haline dönüştürülür (Holick, 2006). 25(OH)D, D vitamininin dolaşımdaki ana formudur ve D vitamini durumunu belirlemek için kullanılır. Biyolojik olarak etkili olabilmesi için, aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D [1,25(OH)2D] (kalsitriol) dönüşmesi

gereklidir ve bu dönüşüm için böbreklerde ek hidroksilasyon gerçekleşir (Malone, & Kessenich, 2008). D vitamini oluşum süreci Şekil 22'de özetlenmiştir (Wolpowitz, & Gilchrest, 2006). İnsanlar, besin alımı ve güneşe maruz kalma yoluyla D vitamini elde ederler. Doğal olarak D vitamini içeren yiyecekler çok azdır. Somon, uskumru ve sardalye gibi yağlı balıklar, D3vitamini bakımından zengindir. Yumurta sarıları da D vitamini içerdiği bildirilse de miktarları oldukça değişken olabilir. Ayrıca, yumurta sarısının kolesterol içeriği nedeniyle D vitamini için zayıf bir kaynak olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, süt, portakal suyu ve bazı ekmek ve tahıllar gibi gıdalar D vitamini ile güçlendirilmiştir (Holick, 2004; Tangpricha ve ark., 2003).



Şekil 22. D Vitamini metabolitlerinin kaynakları, bölgeleri ve işlenmesi (Wolpowitz, & Gilchrest, 2006).

Previtamin D3, 2 izomeri bulunan bir bileşiktir. 7-dehidrokolesterol'ün ekzosiklik halka açılımına uğramasıyla, 5, 6-cis, cis (cZc) izomere dönüşür. Ancak, bu izomer, C-19 metil grubunun sterik müdahalesi nedeniyle son derece kararsızdır ve hemen daha kararlı 5, 6-trans, cis (tZc) previtamin D3'e döner. Ancak, sadece cZc izomeri D3 vitaminine dönüşebilir. Bu engeli aşmak için 7-dehidrokolesterol, plazma membranının lipid çift tabakasına dahil edilmiştir. Bu, 7-dehidrokolesterol'ün polar baş grup ve uzun zincirli yağ asitleri arasında sıkışmasına neden olmuştur. Bu nedenle, güneşe maruz kalma sırasında 7-dehidrokolesterol hemen cZc previtamin D3'e dönüşür, tZc izomerine dönüşemez ve bu durum, previtamin D3'ün hızlı bir şekilde D3 vitaminine dönüşmesine neden olur. Bu muhtemelen, derideki previtamin D3'ün D3 vitaminine dönüşümünün organik bir çözücüdekinden 10 kat daha hızlı olmasını açıklar (Holick, Tian, & Allen, 1995).

Oluştuktan sonra, yapısal olarak plazma membranının hidrofobik yağ asidi zincirleri arasına sıkıştırılamayacak olan D3 vitamini, hücre dışına atılır. Daha sonra, D vitamini bağlayıcı protein tarafından dermal kapiller yatak içine çekilir; bu proteinin ona etkili bir ilgisi vardır (Haddad, Matsuoka, Hollis, Hu, & Wortsman, 1993).

Stratosferik ozon tabakası, 290 nm'nin altındaki tüm güneş radyasyonunu etkili bir şekilde emer. Ozon tabakası ise aynı zamanda, 290 nm üzerindeki UVB radyasyon değerlerini de absorbe edebilir. Böylece, 7-dehidrokolesterol tarafından emilebilen ultraviyole radyasyonun enerjisi, 315 nm'ye kadar iner. Bu nedenle, güneş ışığının (zenit açısı) Dünya'nın yüzeyine ulaştığı açı çok dik olmadığında (yani, erken sabah, geç akşam ve kış), güneş ışığı daha fazla ozon tabakası üzerinden geçmek zorunda kalır. Bu, previtamin D3 üreten UVB fotonlarını etkili bir şekilde emen ozonun, yeryüzüne çok az veya hiç ulaşmadığı anlamına gelir. Zenit açısının günün saatinde, yılın mevsiminde ve enlemde bağımlı olması nedeniyle, bu faktörler D3 vitaminin deri üretimini dramatik bir şekilde etkiler (Webb, Kline, & Holick, 1988). Ancak, 35° enlem üstünde, güneş açısı en çokta kış aylarında oldukça eğimlidir, bu durumda hepsi olmasa da 315 nm altındaki fotonların çoğu ozon tabakası tarafından emilir bu da cildin previtamin D3 üretimini azaltır veya tamamen engeller. Örneğin, Boston (42° K), Edmonton, Kanada (52° K) ve Bergen, Norveç (61° K) sakinleri, sırasıyla 4, 5 ve 6 ay boyunca ciltlerinde yeterli miktarda D3 vitamini üretemezler (Holick, 2004).

D Vitamini olmadan, ince bağırsak besinlerdeki kalsiyumu sadece %10-15 kadar emebilir. D vitamini yeterliliği olan bir kişide, ince bağırsak ortalama olarak besinlerdeki kalsiyumu %30 kadar emer; büyüme, emzirme ve gebelik sırasında bu verimlilik %80'e kadar artar. Kemik gelişimi ve büyüme sırasında D vitamini eksikliği kemik deformasyon hastalığı olan raşitizme neden olur. Yetişkinlerde kemik büyümesi durur ancak kemik yeniden yapılanması devam eder. Yetişkinlerdeki D vitamini eksikliği, osteoporozu tetikleyebilen ve kötüleştirebilen sekonder hiperparatiroidizme neden olabilir (Holick, 1994; Holick, & Michael, 2002; Holick, 2003). D Vitamini eksikliği ile ilişkilendirilen sekonder hiperparatiroidizm genellikle serum kalsiyum konsantrasyonunu normal aralıkta tutar, ancak idrarda fosfor kaybına neden olur. Bu kayıp, kemikte mineralizasyonunu teşvik etmek için yetersiz serum kalsiyum/fosfor oranı sonucunu doğurur ve bunun sonucunda osteomalasi ortaya çıkar. Mineralleşmemiş matriks, yapısal destek sağlayamaz, bu da kırılma riskini artırır (Holick, 2004).

D vitamin eksikliği nasıl bu kadar yaygın? Şaşırtıcı bir şekilde, bu durum yeni doğanlarda ve küçük çocuklarda yeniden ortaya çıktı, bunun bir kısmı da tüm kadınları bebeklerinin beslenmesini sadece anne sütüyle sağlamaya teşvik etme kampanyası nedeniyledir. İnsan sütünde çok az veya hiç D vitamini olmadığı için özellikle esmer kadınların bebekleri, D vitamini takviyesi almadıklarında D vitamini eksikliği ve raşitizm riski altındadır (Kreiter ve ark., 2000; Specker, Tsang, & Hollis, 1985).

Obezite genellikle D vitamini eksikliği ile ilişkilidir. (Bell ve ark., 1985). Artık bilinmektedir ki, D vitamini yiyeceklerle alınsa da veya güneşe maruz kalınsa da, büyük vücut yağ depolarında etkili bir şekilde depolanır ve biyoyararlanımı yoktur. Bu muhtemelen obez kişilerin kronik olarak D vitamini eksikliği yaşamasının nedenidir (Wortsman, Matsuoka, Chen, Lu, & Holick, 2000).

D vitamini değerlendirilmesi sırasında sıklıkla yanlışlıklar yapılmaktadır. Bu durumun 3 temel sebebi vardır. İlk olarak, ya güneşe maruz kalmanın ya da D vitamini alımının yeterli olduğuna inanılmaktadır ve bu nedenle Amerikalı ve Avrupalı insanların D vitamini eksikliği riski altında olmadığı düşünülür. İkinci olarak, rutin kan testi yapan doktorlar genellikle bir kan kalsiyum değeri elde ederler. Eğer normal bulurlarsa, hastanın D vitamini açısından yeterli olduğunu varsayarlar ki bu doğru bir yaklaşım değildir. Üçüncü olarak, birçok doktor yanlışlıkla bir hastanın D vitamini

durumunu belirlemek için aktif D vitamini formu olan 1,25-dihidroksivitamin D [1,25(OH)2D] analizi istemektedir. Ne yazık ki 1,25(OH)2D, vücudun D vitamini durumunu belirlemek için uygun değildir, ancak yalnızca aktif formun ölçümü doktoru hastanın D vitamini bakımından yeterli olduğuna inandırabilir. Bunun nedeni, bir kişi D vitamini eksikliği yaşadıkça, paratiroid hormonu (PTH) konsantrasyonunda bir artış olmasıdır, bu da 1,25(OH)2D'nin renal üretimini artırır ve dolaşımdaki konsantrasyonları genellikle normalleşir veya hatta yükselir (Holick, & Michael, 2002).

2.30. D Vitamini Metabolizması ve Kalsemik Olmayan Fonksiyonları

Vücuttaki çoğu doku ve hücre, kalp, mide, pankreas, beyin, cilt, gonadlar ve aktive olmuş T ve B lenfositleri de dahil olmak üzere, 1,25(OH)2D için nükleer reseptörlere sahiptir, bunlara D vitamini reseptörleri denir (Stumpf, Sar, Reid, Tanaka, & Deluca, 1979; Manolagas, Provvedini, & Tsoukas, 1985; Mathieu, & Adorini, 2002). Bu nedenle, 1,25(OH)2D'nin kalsemik olmayan doğada bir dizi biyolojik etkiye sahip olması hiç de şaşırtıcı değildir (Deluca, & Cantorna, 2001; Holick, & Michael, 2002).

1,25(OH)2D'nin en etkileyici, önemli ve yeterince takdir edilmeyen biyolojik fonksiyonlarından biri, hiperproliferatif hücre büyümesini inhibe etme yeteneğidir. (Holick, & Michael, 2002; Feldman, Zhao, & Krishnan, 2000). D vitamini reseptörüne sahip normal ve kanser hücreleri, genellikle 1,25(OH)2D'ye yanıt olarak çoğalmayı azaltır ve olgunlaşmalarını artırır. Bu, yaygın hiperproliferatif bir deri hastalığı olan sedef hastalığını tedavi etmek için 1,25(OH)2D3 ve analoglarının kullanılmasının mantığıdır (Kragballe, Beck, & Sogaard, 1988).

D vitamini reseptörleri, aktive olmuş T ve B lenfositlerinde ve etkin makrofajlarda bulunmaktadır. Tip 1 diyabet, romatoid artrit ve multipl skleroz gibi en yaygın otoimmün hastalıklara yatkın fare modellerinde yapılan çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, hayatın erken dönemlerinde 1,25(OH)2D3 alındığında bu bahsedilen hastalıklar başarıyla önlenebilmektedir (Cantorna, Hayes, & Deluca, 1996; Cantorna, Hayes, & Deluca, 1998; Deluca, & Cantorna, 2001; Mathieu, Waer, Laureys, Rutgeerts & Bouillon, 1994; Silvia, Giarratana, Smiroido, Uskokovic, & Adorini, 2002).

Obezite sorunu yaşamayan farelerin tipik olarak Tip 1 diyabete yakalanma riskleri vardır, Tip 2 diyabet ise genellikle obezlerde görülür. Bu obezite sorunu olmayan fareler eğer hayatları boyunca 1,25(OH)2D3 takviyesi alırlarsa Tip 1 diyabete yakalanma riskleri %80 oranında azalmaktadır (Gregori ve ark., 2002; Mathieu ve ark., 1994). Bu, Hypponen ve arkadaşlarının son zamanlarda yaptığı gözlemlerle iyi bir uyum içindedir. Çalışmalarına göre, 1 yaşından itibaren günde 2000 IU (Uluslararası Birim) D vitamini alan çocukların tip 1 diyabet riski %80 oranında azalmıştır (Hypponen, Laara, Reunanen, Jarvelin, & Virtanen, 2001).

Krause ve arkadaşlarının raporuna göre: 3 ay boyunca UVB radyasyonuna maruz kalan hipertansiyonlu hastalarda, dolaşımdaki 25(OH)D konsantrasyonlarında %180'den fazla bir artış ve diyastolik ve sistolik kan basıncında 6 mm Hg'lik bir azalma gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, hastaların bir kan basıncı ilacı aldıkları durumlarına benzerdir. Benzer bir grup hastaya ultraviyole A radyasyonuna maruz kalmış ve dolaşımdaki 25(OH)D konsantrasyonlarında artış görülmemiştir ve 3 aylık çalışma süresince hipertansiyonları devam etmiştir. Bu hipertansiyonlu yetişkinlerde UVB radyasyonunun (muhtemelen artan 25(OH)D konsantrasyonları nedeniyle) kan basıncını normalleştirme mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Krause, Buhring, Hopfenmuller, Holick, & Sharma, 1998). Ancak Li ve arkadaşları tarafından yapılan gözlem, bu soruya biraz ışık tutmaktadır. Yaptıkları çalışmada fare modelinde gözlem yapmışlar ve 1,25(OH)2D'nin renin ve anjiotensini inhibe etmede etkili olduğunu ve böylece kan basıncını azalttığını gözlemlemişlerdir (Li ve ark., 2002).

D vitamini eksikliğinin endişe verici olmasının sebepleri çok yönlüdür. Bu durum, kısa ve uzun vadeli pek çok olumsuz etkiye yol açabilir ve gizlice gelişebilir. D vitamini eksikliği olan bebekler ve küçük çocuklar, ömür boyu sürecek şekilde tip 1 diyabet, multipl skleroz, romatoid artrit ve birçok yaygın kanser türüne karşı artmış risklerle karşı karşıya kalabilirler. Yetişkinlerde ise D vitamini eksikliği, yaygın kanserlere ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini artırır. Son zamanlarda, D vitamini eksikliği bulunan genç yetişkinlerin, D vitamini yeterliliğine sahip olan yaşıtlarına göre konjestif kalp yetmezliği riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Malabanan, Veronikis, & Holick, 1998; Zittermann ve ark., 2003).

2.31. D Vitamini ve Sinir Sistemi

1990'lı yılların başında, D vitamini'nin unutulmuş bir nörosteroid olduğu öne sürüldü (McGrath, Feron, Eyles, & Mackay-Sim, 2001). Geçen 10-15 yıl içinde, deneysel hayvanlarda diyet veya D vitamini sinyalinin manipüle edildiği çalışmalarda, bu vitaminin daha doğru bir şekilde bir hormon olarak adlandırılması gerektiğine dair ikna edici kanıtlar sunulmuştur. Normal beyin homeostazı ve gelişimi için bu vitaminin gerekliliğini anlamak amacıyla, D vitaminnin beyindeki çeşitli etkilerinin tam mekanizmalarını daha iyi anlaşılmasına gerek duyulmuştur ve bunun için merkezi sinir sistemi (MSS) dokusunda veya izole hücrelerde birçok çalışma yapılmıştır (Eyles, Burne, & McGrath, 2013).

D3 vitamini, iki ek hidroksilasyona tabi tutularak 25 hidroksi-vitamin D3 (25OHD3) formunu oluşturur. Bu, rutin olarak insanlardaki D vitamini durumunu değerlendirmek için ölçülen stabil bir öncü formdur. Bu hidroksilasyon karaciğerde meydana gelir. Bu işlemi gerçekleştiren bir dizi sitokrom P450 enzimi bulunmaktadır; bunlar arasında CYP27A1, CYP2J2 ve CYP3A4 yer almaktadır, ancak CYP2RA'nın başlıca sorumlu olduğu görünmektedir (Schuster, 2011). 25OHD3 daha sonra başka bir sitokrom P450 enzimi olan CYP27B1 tarafından aktif hormon olan 1,25-dihidroksi vitamin D3 (1,25(OH)2D3) haline dönüştürülür. Bu enzim, böbreğin distal tübüllerinde güçlü bir şekilde eksprese edilir ve işlevi kalsiyum, paratiroid hormonu (PTH) ve fosfat seviyeleri tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir (Dusso, Brown, & Slatopolsky, 2005). CYP27B1 ayrıca beyin gibi diğer başka organlarda da eksprese edilmektedir, ancak, diğer bölgelerdeki işlevi kalsiyumla ilgili yollar tarafından düzenlenmez (Eyles, Smith, Kinobe, Hewison, & McGrath, 2005). 1,25(OH)2D3, üçüncü bir sitokrom P450 olan CYP24A1 tarafından inaktive edilir. Bu enzim, 1,25(OH)2D3 varlığında hızla eksprese edilir; ayrıca bu enzim beyinde de bulunur (Dusso ve ark., 2005).

CYP27B1, böbrekte belirgin bir şekilde bulunmasına rağmen, immunohistokimyasal çalışmalarda, bunun beyincikte Purkinje hücrelerinde ve aynı zamanda serebral korteksin nöronal hücrelerinde de varlığının olduğu bildirilmiştir (Zhender ve ark., 2001). CYP27B1, fetal insan beyninde, (Fu ve ark., 1997) aynı zamanda kültür ortamındaki glial hücreler içinde de fonksiyonel olarak aktif şekilde tespit edilmiştir; bu enzim 25OHD3'ün 1,25(OH)2D3'e dönüşümünü katalize

etmektedir (Neveu ve ark., 1994). CYP27B1'in insan beyin bölgeleri üzerindeki dağılımı 2005 yılında detaylı bir şekilde açıklanmıştır. En güçlü immünohistokimyasal yanıtlar, hipotalamus içindeki supraoptik ve paraventriküler çekirdekler ile substantia nigra'da gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, bu enzimin sitozolik konumunu doğrulamak için konfokal mikroskopi kullanılmış ve bu enzimin nöron ve glial özel belirteçlerle eş zamanlı boyanması, bu enzimin her iki hücre tipinde de bulunduğunu doğrulamıştır (Eyles ve ark., 2005).

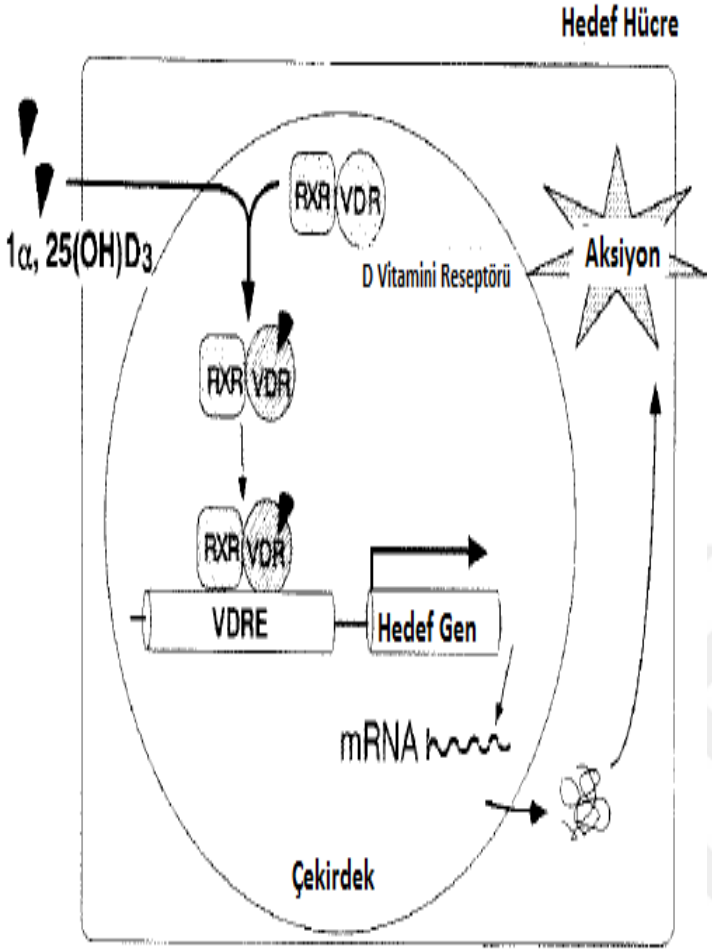
CYP24A1 mRNA'sı normal beyin dokusunda henüz rapor edilmemiştir. Ancak, hem C6 glioma hem de sıçan primer glial hücre kültürlerinde tespit edilmiştir. CYP24A1 mRNA ekspresyonu, her iki hücre sisteminde de de novo olarak tespit edilmedi, ancak 1,25(OH)2D3'ün kültür ortamına eklenmesiyle doza bağlı bir şekilde indüklenmiştir (Naveilhan ve ark., 1993). Dolayısıyla, aktif hormonun oluşumu ve eliminasyonu potansiyel olarak beyinde mevcuttur (Eyles ve ark., 2013).

İnsan beyin omurilik sıvısındaki D vitamini türlerinin konsantrasyonları, serum seviyelerine kıyasla daha düşüktür, yine de sıkı bir şekilde korele edilmiştir (Balabanova ve ark., 1984). Ancak, D vitamininin beyne nasıl girdiği bilinmemektedir. Mevcut dogma, 25OHD3 ve 1,25OHD3'ün serbest fraksiyonunun enerji bağımsız pasif mekanizmalar aracılığıyla hücrelere girdiğini öne sürer (moleküller küçük ve lipofiliktir). Ancak, enerji bağımlı mekanizmaların, proteinle bağlı D vitamininin kan-beyin bariyerini geçip beyindeki hedef hücrelere taşıyıp taşımadığı henüz belirlenmemiştir. Megalin ve kubulin, distal böbrek tübüllerinde proteinle bağlı D vitamini taşımasında önemli rol oynayan çok amaçlı taşıma proteinleridir (Kozyraki, & Gofflot, 2007). Bu sistemlerin aynı zamanda erken beyin gelişimi için kritik olması proteinle bağlı D vitamininin aynı şekilde beyin dokusuna taşınabileceğini akla getirmektedir (Wicher, & Aldskogius, 2008).

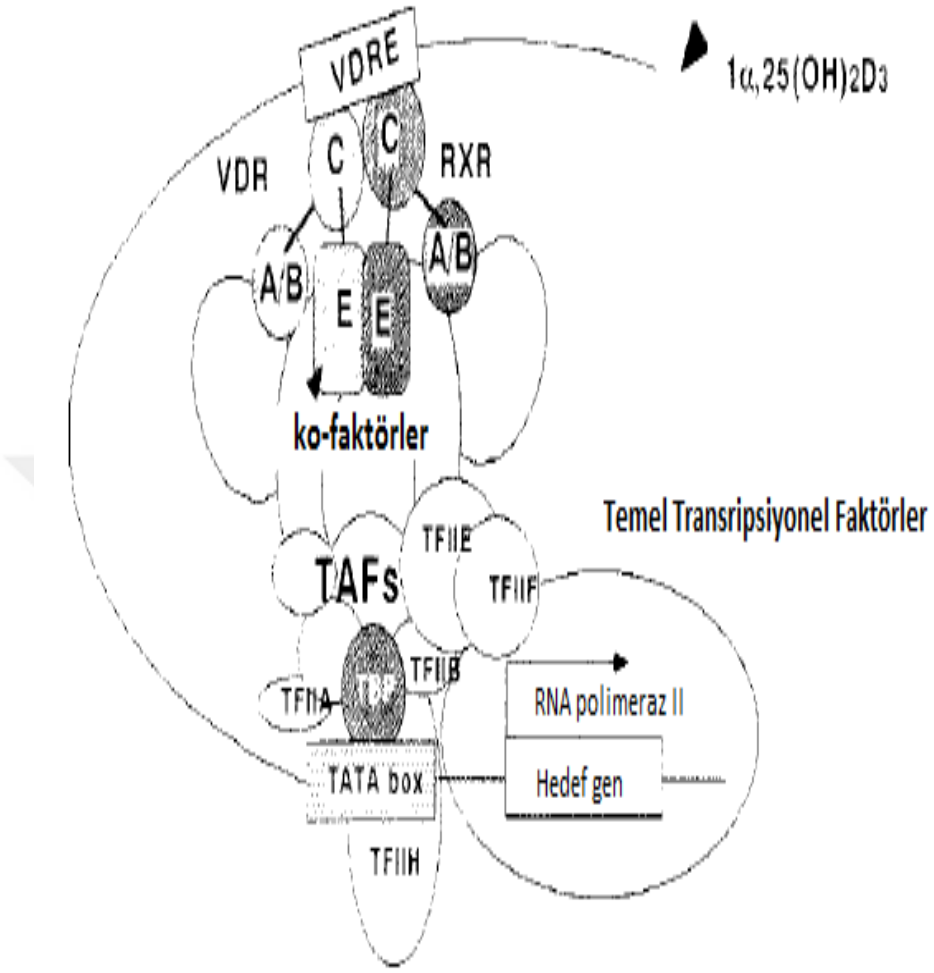
2.32. Gelişen ve Olgun Beyinde D Vitamini Reseptörü

D Vitamini, nükleer reseptörler aracılığıyla sinyal veren geniş bir ligand ailesinin bir parçasıdır. Bu aile, testosteron, östrojen, kortikosteroidler, tiroid hormonları ve A vitamini gibi maddeleri içerir. D Vitamini, birçok genin transkripsiyonel düzenleyicisidir. Eylemlerini başlatmak için 1,25(OH)2D3, nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olan D vitamini reseptörü (VDR) ile bağlanır (Ramagopalan ve ark., 2010). VDR, homodimerler veya üç retinoid X reseptöründen

biriyle (RXRα, RXRβ, RXRγ) heterodimerler oluşturur. VDR homodimeri veya VDR-RXR heterodimeri, D vitamini yanıt elementi (VDREs) olarak adlandırılan belirli bir uyarıcı elemente bağlanır (Ebihara ve ark., 1996). VDR tarafından uyarılan transaktivasyon için, ligand bağımlı yolakta VDR ile etkileşime giren koaktivatörlerin, RNA polimeraz II ile transkripsiyon kompleksinin oluşumu için zorunlu olduğu gösterilmiştir (Şekil 23-24) (Freedman, 1999). Bu koaktivatörler SRC-1/TIF2 (Steroid Reseptör Koaktivator-1/ Transkripsiyon Ara Faktörü 2) protein ailesi, CBP/p300 (CREB Bağlayan Protein/ E1A Bağlayan Protein p300) protein ailesi, SRA (Steroid Reseptör RNA Aktivitörü) ve diğerlerini içerir. En ilginç olanı, bu koaktivatörlerin kendi gen ekspresyonlarını etkinleştirmek için kromatin yapısını modüle eden histon asetilazlar (HAT) olmalarıdır (Chen ve ark., 1997; Kamei ve ark., 1996). Bu koaktivatörlerin bir kompleks oluşturduğu varsayılmaktadır. Daha yakın zamanda, DRIP/TRAP (D Vitamini Reseptörü ile Etkileşen Protein/Tiroid Hormonu Reseptörü ile İlişkili Protein) kompleksi olarak adlandırılan başka bir koaktivatör kompleksi tanımlanmıştır ve bu kompleksin HAT aktivitesi yoktur (Freedman, 1999; Rachez ve ark., 1999; Yuan, Ito, Fondell, Fu, & Roeder, 1998). Koaktivatörlerin aksine, korepresörler olan SMRT (Retinoik Asit ve Tiroid Hormonu Reseptörlerinin Susturucu Aracısı) ve NCoR (Nükleer Reseptör Korepresörü), ligand bağlı olmayan tiroid reseptörü (TR) ve all-trans retinoik asit reseptörü (RAR) ile ilişkilendirilmiş ve ligand tarafından tetiklenen transaktivasyon fonksiyonlarını bastırmışlardır (Şekil 24) (Freedman, 1999; Hörlein ve ark., 1995; Nagy ve ark., 1997). Ancak, bu korepresörlerin ligand bağlı olmayan VDR ile etkileşimde bulunmadığı görünmektedir (Haussler ve ark.,1998).



Şekil 23. D Vitamininin VDR aracılığıyla moleküler mekanizması üzerine olan şema, gen ekspresyonu aracılığıyla işleyişi gösterir (Freedman, 1999).



Şekil 24. Ligand bağlı VDR, gen ekspresyonunu etkinleştirmek için bir transkripsiyon başlatma kompleksi oluşturur. Ligand tarafından tetiklenen transaktivasyon için, VDR, D vitamininin hedef geninin promotöründe temel transkripsiyon makinesi ve bir koaktivatör kompleksi ile bir kompleks oluşturur. Şu ana kadar HAT aktivitesi olan ve olmayan iki koaktivatör kompleksi tanımlanmıştır (Freedman, 1999).

Son yıllarda, D vitamini'nin ligand seviyelerini değiştirmek veya bu ligandın VDR aracılığıyla sinyal verme şeklini değiştirmek suretiyle beyinle ilgili olumsuz sonuçları ilişkilendiren birikmiş kanıt miktarı, D vitamini'nin daha geniş bir nöroaktif steroid ailesine dahil edilmesi önerisine yol açmıştır (McGrath ve ark., 2001; Melcangi, & Panzica, 2009). Bu grup, cinsiyet steroidleri ve glukokortikoidler gibi ajanları içerir, bu ajanların beyin gelişimini ve işlevini şekillendirmedeki etkileri genel olarak kabul edilmiştir (Eyles ve ark., 2013).

2.33. Beyinde D Vitamini Reseptörü Varlığı

İnsan beyininde VDR'nin eksprese edildiğine dair en erken kanıtlar, Sutherland ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen in situ hibridizasyon çalışmalarından gelmektedir. Radyoaktif işaretli cDNA probalarını kullanarak yapılan araştırmalarda, VDR mRNA'sının Alzheimer veya Huntington hastalığı olan bireylerin ölümden sonraki beyinlerinde eksprese edildiğini gösterilmiştir (Sutherland ve ark., 1992). VDR'nin ayrıca insan nöroblastoma hücre hattında da eksprese edildiği raporlanmıştır (Moore, Koeffler, Yamashiro, & Wada, 1996). Uygun antikorlar üretildiği anda, immunohistokimyasal çalışmalar hemen ardından geldi ve reseptorün immunohistokimyasal varlığı fare ve sıçan beyinlerinde doğrulandı (Prüfer, & Jirikowski, 1997; Prüfer, Veenstra, Jirikowski, & Kumar, 1999; Walbert, Jirikowski, & Prüfer, 2001). 2005 yılında, Eyles ve arkadaşları tarafından VDR ve CYP27B1'in insan beyinindeki dağılımını kapsamlı bir şekilde haritalayan önemli bir çalışma gerçekleştirildi. Bu çalışma, VDR'nin yetişkin insan beyini boyunca geniş bir şekilde dağıldığını gösterdi. İnsan hipokampusunda, VDR immunoreaktivitesi CA1 ve CA2 piramidal hücrelerinde en güçlüydü, ancak CA3 içinde belirgin bir azalma gösteriyordu (Tablo 4) (Eyles ve ark., 2005).

Tablo 4. Beyinde VDR ve 1α-OHase dağılımı (Eyles ve ark., 2005).

Beyin bölgesi	VDR immunreaktivitesi	1 α -OHase immunreaktivitesi
Prefrontal korteks		
Moleküler katman	+	+
Dış granül	+++	++++
Dış piramidal	++	++
İç granül	++	+++
İç piramidal	++	++
Singulat korteks		
Moleküler katman	+++	++
Dış granül	+++	+++
Dış piramidal	++	+++
İç granül	+++	+++
İç piramidal	++	+++
Hipokampüs		
CA 1 bölgesi		
Moleküler katman	++	++
Piramidal katman	+++	+++
Polimorfik katman	++	++
CA 2 bölgesi		
Moleküler katman	++	+
Piramidal katman	+++	+++
Polimorfik katman	++	++
CA 3 bölgesi		
Moleküler katman	+	+
Piramidal katman	+	+++
Polimorfik katman	+	++
Fimbria	+++	+++
Dentat girus		
Granül hücre katmanı	+++	+++
Moleküler katman	++	++
Polimorfik katman	++	++
Bazal önbeyin	--	+++
Kaudat/putamen	+++	++
Amigdala	+	++
Talamus		
Lateral-dorsal bölge	++	++
Medial-dorsal bölge	++	++
Ventrolateral bölge	++	++
Ventromedial bölge	++	++
Substantia nigra	++++	++++
Lateral genikulat çekirdek	+++	+++
Hipotalamus		
Supraoptik çekirdek	+++	++++
Paraventrikular çekirdek	+++	++++
Dorsal bölge	++	++
Lateral bölge	++	++
Ventromedial bölge	+++	++
Serebellum		
Moleküler katman	--	++
Pürkinje katmanı	--	++
Granül hücre katmanı	+++	++

Anahtar: (-) yok; (+) zayıf; (++) orta; (+++) yoğun; (++++) çok yoğun immunreaktivite.

Kemirgenlerde, VDR immün reaktivitesinin beyaz madde içinde oligodendrositlerde bulunduğu gösterilmiştir. (Baas ve ark., 2000). VDR içeriği ayrıca birincil ve ikincil glial kültürlerinde incelenmiştir. VDR'ın, birincil sıçan hipokampal kültürlerinde glial fibriler asidik protein (GFAP) boyalı hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir, bu da VDR'ın astrositlerde de bulunduğunu göstermektedir (Langub, Herman, Malluche, & Koszewski, 2001). Bu, ikincil oligodendrosit kültürlerinde ve glial hücre hatlarında da doğrulandı (Baas ve ark., 2000). Konfokal mikroskopi kullanımı, insan kortikal astrositlerde VDR nükleer boyanmasını da belirlemiştir (Eyles ve ark., 2005).

2.34. Gelişmekte Olan Beyinde D Vitamini Reseptörü

D vitamininin en belirgin işlevlerinden biri, çeşitli dokularda güçlü farklılaştırma etkileridir (Metha, & Metha, 2002). Kanıtlar, beynin bu etkilerden dışlanmadığını göstermeye devam etmektedir (Eyles, Brown, Mackay-Sim, McGrath, & Feron, 2003; Ko, Burkert, McGrath, & Eyles, 2004). Gelişmekte olan kemirgen beyinlerinde VDR'in immünhistokimyasal varlığı tanımlanmıştır. İlk olarak fetal sıçan dorsal kök gangliyon hücrelerinde yapılan çalışmalar, VDR'in gelişmekte olan beyinde bulunduğunu öne sürmüştür (Johnson, Grande, Windebank, & Kumar, 1996). Daha sonra VDR'in gelişimdeki zamansal doğası, hem sıçan (Veenstra ve ark., 1998) hem de fare beyinlerinde immünohistokimyasal olarak haritalandırılmıştır (Erben ve ark., 2002). Sıçanlarda embriyonik gün (E) 12'de ve farelerde E11.5'te VDR ilk kez tespit edilir. Yetişkin insan beyninde olduğu gibi, kemirgenlerde de çeşitli bölgelerde geniş bir dağılım gösterir. D vitamininin beyin hücrelerinde farklılaştırma rolüne destek vermek için, VDR'ın farklılaşma alanlarında ayrıcalıklı olarak lokalize olduğu gözlemlenmiştir (Veenstra ve ark., 1998). Ayrıca, Cui ve arkadaşları, D vitamininin proliferasyonu düzenleme rolünü destekleyen bir çalışmada, neonatal sıçanlarda yan ventriküllerin ependimal yüzeyinde yoğun bir VDR immünohistokimyasal yanıtı belirlemişlerdir (Cui, McGrath, Burne, Mackay-Sim, & Eyles, 2007). Bu bölge, doğum sonrası beyinde hücre bölünmesinin en zengin kaynağını temsil eder. Sıçan beyninde E15-22 arasındaki VDR protein ve mRNA ekspresyonunun zaman çizelgesi, gelişimin bu kritik penceresinde belirgin bir ekspresyon artışı göstermektedir (Burkert, McGrath, & Eyles, 2003). Bu VDR ekspresyonundaki artışın zamanlaması, hücre proliferasyonunda azalma ve programlanmış hücresel eliminasyonda artışla aynı

zamana denk gelir. Bu anatomik çalışmalardan doğrudan bir nedensel ilişki kurulamazken, D vitamininin reseptörü aracılığıyla gelişmekte olan kemirgen beyin içinde proliferasyon ve apoptoz özelliklerini doğrudan veya dolaylı olarak iletebileceğini güçlü bir şekilde önermektedir (Eyles ve ark., 2013).

2.35. Genomik Olmayan D Vitamini Sinyali

Çoğu steroid hormonu gibi, D vitamini de hızlı, genomik olmayan eylemlere sahiptir (Menegaz ve ark., 2011; Norman, Olivera, Silva, & Bishop, 2002). Bu yanıtların nükleusta değil, muhtemelen lipid dolu kaveoller içinde plazma membranında bulunan aynı VDR tarafından iletilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bir başka 1,25(OH)2D3 membran reseptörü olan hızlı yanıt steroidi membran ilişkili reseptör (MARRS), D vitamininin genomik olmayan sinyallerinin bazılarını da iletebilir, ancak bu proteinle daha az yapı etkinlik çalışması yapılmıştır, bu yüzden tam olarak rolü bilinmemektedir (Nemere, & Hintze, 2008). Yine de, erken dönem embriyonik D vitamini eksikliği sonucu yetişkin sıçan beyninde MARRS ekspresyonu eksikliği gösterilmiştir (Eyles ve ark., 2007). Ayrıca, Bartoccini ve arkadaşları VDR'nin, gelişmekte olan hipokampal nöronlarda nükleer membran içindeki lipid bakımından zengin mikroalanlarda hızla eksprese olduğunu göstermiştir. Bu mikroalanlar, plazma membranında bulunanlarla benzer özelliktedir (Bartoccini ve ark., 2011).

2.36. D Vitamini Eksikliği

Beklenildiği gibi, D vitamininin farklılaştırma ve anti-apoptotik özellikleri göz önüne alındığında, gelişim sırasında D vitamini eksik sıçanlarda, daha az farklılaşmış bir beyin ile birlikte çeşitli beyin bölgelerinde artmış proliferasyonla ilişkilendirilmiştir (Eyles ve ark., 2003; Ko ve ark., 2004). Bu bulgularla uyumlu olarak, D vitamini eksik sıçanların gelişmekte olan beyinlerinde apoptoz, kontrol grubuna kıyasla farklı bir seyir izledi; E19'da apoptotik hücre sayısında fark yokken, E21 ve doğumda D vitamini eksik sıçanlarda kontrol grubuna göre daha az apoptotik hücre vardı. Bu azalma, gelişmekte olan singulat, dentat girus, bazal gangliyon ve hipotalamusta gözlemlendi. Bu çalışma ayrıca, hücre döngüsü ve apoptotik gen ekspresyonunda uyumlu değişiklikler olduğunu doğruladı (Ko ve ark., 2004).

Beyin dokusundaki hücre proliferasyonundaki değişiklikler, nörosfer kültürleri kullanılarak da analiz edilebilir. Embriyonik beyin dokusu uygun koşullar altında in

vitro kültüre alındığında, çoğalan hücrelerin küçük küreleri oluşur. Her küre, çoğalan bir öncü hücreyi gösterir. Dolayısıyla nörosfer sayısı, beyin dokusundaki proliferasyon durumunun bir göstergesidir (Reynolds, & Rietze, 2005). D vitamini eksik neonatal beyinlerin subventriküler zonundan nörosfer kültürleri hazırlandığında, nörosfer sayısının arttığı gösterilmiştir, böylece doğumda bu beyinlerde hücre bölünmesinin arttığını doğrulamaktadır. Benzer bir çalışma da, kontrol grubunda ki hayvanlara 100 μM 1,25(OH)2D3 verilmesi bu hayvanlardan elde edilen dokudalarda nörosfer sayısında azalma olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ancak, D vitamini eksik hayvanlardan elde edilen dokulara 100 μM 1,25(OH)2D3 eklenmesi nörosfer sayısını etkilememiştir. Bu kafa karıştırıcı bir sonuçtur çünkü maternal D vitamini eksikliği VDR yoğunluğunda bir değişikliğe neden olmamıştır. Vücuttaki ligandın annesel yokluğunun, reseptör fonksiyonunda post-translasyonel bir değişikliğe neden olmuş olabileceği ve bu durumun reseptörü işlevsiz hale getirdiği düşünülebilir. Ayrıca, gelişim sürecinde bu ligandın kronik yokluğu, hücre proliferasyonunu düzenleyen başka bir yolun işlevinde artışa neden olmuş olabilir; bu da bu vitaminin etkisini azaltır. Her durumda, hem D vitamininin çıkarılması hem de normal koşullarda eklenmesi, gelişmekte olan beyin hücrelerinde hücresel proliferasyonu manipüle etme yeteneğine sahiptir (Cui ve ark., 2007).

D vitamini eksik embriyonik beyinlerin anatomisi incelendiğinde, D vitamini eksik sıçanların yavrularının daha büyük beyinlere sahip olduğu ortaya çıktı; bu da gözlemlenen artmış hücre proliferasyonu ve azalmış hücresel eliminasyonla uyumludur (Eyles ve ark., 2003). Bu bulgulara biraz karşıt olarak, lateral ventrikül hacminde bir artış ve neokortikal genişliğin ise daha ince olduğunu gözlemlenmiştir. Bu, D vitamini eksik neokorteksin, subkortikal bölgelerle karşılaştırıldığında farklı bir gelişim seyri izlediğini (belki de dendritik veya sinaptik yoğunluklar açısından) gösterebilir (Eyles ve ark., 2013).

2.36.1. D Vitamini eksikliğinin yetişkin beyin üzerinde kalıcı etkileri

D vitamininin tekrar yerine konmasının zamanlaması, bu gelişimsel değişikliklerin yetişkinlik dönemine kadar kalıcılığı açısından önemli görünmektedir. D vitamini eksikliği olan yenidoğanlarda görülen büyümüş lateral ventriküller (Eyles ve ark., 2003), yenidoğanlar sütten kesildikten sonra D vitamini açısından zengin bir diyet başlandığında, sadece yetişkinliğe kadar devam etmiştir. Bu nedenle, doğumdan

itibaren D vitamininin diyete geri eklenmesi, D vitamini eksik sıçanlarda gözlenen lateral ventrikül genişlemesini kısmen hafifletmiş görünmektedir (Feron ve ark., 2005). Normal diyet D vitamininin tekrar verilme zamanlaması, bu yetişkin hayvanların davranışları açısından da benzer şekilde önemlidir (Eyles ve ark., 2013).

Gen dizi ve proteomik analizler, yetişkin D vitamini eksik sıçanların tüm beyinlerindeki gen ekspresyonunu ve prefrontal korteks ile hipokampüsteki protein ekspresyonunu keşfetmek için kullanılmıştır. D vitamini eksikliği, hücre iskeleti devamlılığı, kalsiyum homeostazı, sinaptik plastisite ve nörotransmisyon, oksidatif fosforilasyon, redoks dengesi, protein taşıma, şaperonlama, hücre döngüsü kontrolü ve post-translasyonel değişiklikler gibi çeşitli fonksiyonlarla ilgili olan 74 gen ve 36 proteinin ekspresyonunu önemli ölçüde değiştirmiştir (Almeras ve ark., 2007; Eyles ve ark., 2007). D vitamini eksik sıçanların nükleus akumbensindeki protein ekspresyonunu inceleyen daha sonraki bir çalışma, gen düzensizliğinin derecesinin hafif olduğunu gösterdi, ancak kalsiyum bağlanması (kalbindin, kalretinin ve hipokalsin) veya mitokondriyal fonksiyonla ilişkili birkaç proteinde önemli değişiklikler olduğunu ortaya koydu (McGrath ve ark., 2008). D vitamini eksik yetişkinlerdeki nörogenez üzerine yapılan son bir çalışma, yetişkin hipokampüste nörogenezin azaldığını göstermektedir (Keilhoff, Grecksch, & Becker, 2010).

2.36.2. D Vitamini eksikliği ve nörotransmitterler

Erken çalışmalar, östrojen gibi nükleer steroid düzenleyicilerinin beyinde katekolamin seviyelerini etkileyebileceğini gösterdi. VDR'nin de bu protein ailesine ait olması, araştırmacıları benzer bir ilişki olup olmadığını araştırmaya teşvik etti. Çalışmalar, genç sıçanlarda uzun süreli D vitamini eksikliğinin beyinde katekolamin seviyelerinde artışa neden olabileceğini doğrulamış gibi görünüyordu, ancak bu deneyler aynı zamanda hipokalsemiyi de indükledi, bu da sonuçların yorumunu karmaşık hale getirdi (Baksi, & Hughes, 1982; Tenenhouse, Warner, & Commissiong, 1991). Beyindeki ana inhibe edici nörotransmitter olan gama-aminobütirik asit (GABA), bu hayvanların beyinlerinde de artmıştı, ancak bu artış, kalsiyum seviyeleri normalize edildiğinde ortadan kalkmıştı (Tenenhouse ve ark., 1991).

2.36.3. D Vitamini eksikliği ve dopamin

VDR ve CYP27B1, insan beyninin dopamin açısından zengin bölgesi olan substantia nigra'da belirgin bir şekilde dağılmıştır. (Eyles ve ark., 2005). İlginç bir şekilde, 1,25(OH)2D3'ün yokluğunda dopaminin de VDR aracılı sinyallemeyi indükleyebildiği görülmüştür. Bu durum, D vitamini ve katekolaminler arasında karmaşık bir etkileşimi ortaya koymaktadır (Matkovits, & Christakos, 1995). Ek olarak, 1,25(OH)2D3, çeşitli patolojik senaryolarda dopamin için hız sınırlayıcı enzim olan tirozin hidroksilaz (TH) üretimi ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Chen, Lin, & Chiu, 2003; Sanchez, Relova, Gallego, Ben-Batalla, & Perez-Fernandez, 2009; Wang ve ark., 2001).

VDR ilk olarak sıçan beyininde gelişmekte olan orta beyinde E12'de (embriyonun 12. günü) görünür (Veenstra ve ark., 1998). Bu, çoğu dopamin nöronunun doğduğu yaşı temsil eder (Gates, Torres, White, Fricker-Gates, & Dunnett, 2006). D vitamininin iyi tanımlanmış farklılaştırma etkileri göz önüne alındığında, D vitamini eksikliğinin gelişmekte olan dopamin sistemi üzerinde farklı etkileri olabileceğini düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada bu araştırma sorusunu incelenirken, D vitamini eksik modeller kullanılmıştır ancak daha önceleri D vitamininin dopamin üretimi üzerine etkisini inceleyen benzer çalışmalar da karşılaşılan D vitamini eksikliği kaynaklı kalsiyum düşüklüğünden kaçınılmıştır (Baksi, & Hughes, 1982; Tenenhouse ve ark., 1991). D vitamini eksikliği olan embriyolardan hem dopamin nöron hücre oluşumunun en yüksek olduğu E12 döneminde hem de nispeten postmitotik bir aşama olan E15'te mesensefalon örnekleri alınmıştır. Dopaminerjik nöronların oluşumu ve olgunlaşması için hayati öneme sahip birkaç temel post-mitotik belirleme faktörünün ekspresyonunu incelenmiştir (Smidt, & Burbach, 2007). Kontrollerle karşılaştırıldığında, D vitamini eksik embriyonik beyinlerde bu faktörlerden ikisi olan Nurr 1 (Nükleer reseptör ilişkili 1 protein) ve p57kip2a (CDKN1C) (Siklin-Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1C) ekspresyonunda azalma gözlenmiştir (Cui, Pelekanos, Burne, McGrath, & Eyles, 2010). Nurr 1 veya p57kip2a'nın genetik manipülasyonla ekspresyonu azaltıldığında, dopamin nöron sayısı ve konumu tehlikeye girmiştir (Joseph ve ark., 2003; Kadkhodaei ve ark., 2009; Wallen ve ark., 2001). Başka bir çalışmada, D vitamini eksik yenidoğan önbeyininde dopamin seviyelerini ölçülmüş ve dopamin seviyelerinin normal olduğu, ancak

dopamin metabolizmasının değiştiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, 3,4-dihidroksifenilasetik asit/homovanilik asit (DOPAC/HVA) oranlarının arttığı raporlanmıştır, ki bu iki ana dopamin metabolitidir. Bu durum, DOPAC'ı HVA'ya dönüştüren enzim olan katekol-O-metil transferaz (COMT) düzeyinde azalma ile birlikte seyretmiştir (Kesby ve ark., 2009). Bu nedenle, gelişim sırasında D vitamini eksikliğinin dopamin sistemlerinin ontogenezini etkilediği görünmektedir. Araştırmacılar, dopaminerjik sistemlerin oluşumundaki bu erken değişikliklerin olgun hayvanlardaki sonraki beyin fonksiyonunu nasıl etkilediğini anlamak için çalışmalara devam etmektedir (Eyles, Feldon, & Meyer, 2012).

2.36.4. D Vitamini eksikliğinin yetişkinlerde davranışlar üzerine etkisi

Artan kanıtlar, glutamat ve aspartat gibi uyarıcı aminoasitlerin en az üç farklı alt sınıf reseptör için nörotransmitter olarak işlev görebileceğini göstermektedir. Bu reseptör alt sınıfları, quisqualis, kainik asit ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri olarak adlandırılır (Foster, & Fagg, 1984; Cotman, & Iversen, 1987; Stone, & Burton, 1988). Bu reseptörlerden NMDA reseptörleri, biyokimyasal ve davranışsal deneylerde en kapsamlı şekilde incelenen ve karakterize edilenlerdir. Biyokimyasal araştırmalar, NMDA reseptörlerinin heterojen bir dağılımını ortaya koymuş, özellikle frontal korteks ve hipokampüs bölgelerinde yüksek konsantrasyonlara sahip olduklarını göstermiştir. Ayrıca, glutamaterjik yolların, frontal kortikal bölgelerden striatum ve nükleus akkumbens dahil olmak üzere çeşitli subkortikal beyin bölgelerine projeksiyon yaptığı gösterilmiştir (Cotman, & Monaghan, 1986).

Davranışsal deneyler, NMDA reseptörü agonistlerinin ve antagonistlerinin karmaşık bir farmakolojik profili olduğunu göstermiştir. NMDA reseptörü antagonistlerinin uygulanmasının anksiyolitik, ataksik ve antikonvülsan etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Liljequist, Ossowska, Anden, & Anden, 1991). Ayrıca, özellikle rekabet dışı antagonistler, artmış lokomosyon aktivitesi, kafa sallama, dönme davranışı ve beden yuvarlanması gibi belirgin bir davranış sendromuna neden olur (Tricklebank, Singh, Oles, Preston, & Iversen, 1989; Willetts, Balster, & Leander, 1990). Bu tipik davranış sendromu belirli bir ölçüde amfetamin gibi klasik psikostimulanlar uygulandıktan sonra gözlemlenen artmış lokomosyon aktivitesi ve stereotipik davranışla benzerlik gösterse de, bir farklılık şudur ki; NMDA reseptör antagonistleri doza bağımlı bir şekilde ataksiyi artırır. Artan lokomosyon aktivitesi ve

stereotipik davranışların birçok durumda özellikle dopamin açısından zengin beyin bölgelerinde dopaminerjik nörotransmisyonun kolaylaştırılmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Jackson, Anden, & Dahlström, 1975; Pijnenburg, & van Rossum, 1973).

D vitamini eksikliği ve lokomasyon değişiklikleri ilişkisi açılan yeni bir araştırma alanıdır. D vitamini eksikliği modelinin davranışsal fenotipi hafif ve belirgin olmayan eksikliklere sahiptir. Örneğin, D vitamini eksikliğine sahip yetişkin hayvanlarda hafif ancak anlamlı bir spontan hiperlokomosyon görülür (Burne ve ark., 2004). D vitamini eksik sıçan modelinin aksine, D vitamini reseptörü nakavt fare modeli, saç dökülmesi, azalmış vücut boyutu, kas ve motor bozukluklar ile değişmiş mineral iyon homeostazı ile karakterize edilen bir davranış fenotipine sahiptir (Burne, McGrath, Eyles, & Mackay-Sim, 2005). Yapılan bir çalışmada psikomimetik ajanlara karşı lokomasyon değişiklikleri değerlendirilmiştir. N-metil-D-aspartik asit reseptörü (NMDA-R) antagonisti MK-801 kullanılarak (MK-801, hiperlokomosyonu indüklemesiyle iyi bilinen bir ajandır) yetişkin erkek D vitamini eksik sıçanların kontrollere kıyasla artmış hareket aktivitesi gösterdiği defalarca gösterilmiştir (Kesby, Burne, McGrath, & Eyles, 2006; O'Loan ve ark., 2007).

D vitamini eksikliği olan sıçanlar, presinaptik dopamin salınımını indükleyen bir ilaç olan amfetaminin lokomosyon artırıcı etkilerine seçici olarak duyarlıdır (Kesby ve ark., 2010). Amfetamin, dopamin salınımını birkaç mekanizma aracılığıyla indükler, ancak öncelikle dopamin taşıyıcı aracılığıyla bunu yapar. (Sulzer, Maidment, & Rayport, 1993). Önemli bir şekilde artmış lokomosyon, subkortikal dopamin taşıyıcı yoğunluğunda ve bağlanma özelliğinde artış gösteren dişi bireylerde daha belirgindir (Kesby ve ark., 2010). Birçok çalışma, D vitamini eksikliği olan sıçanların özellikle postsinaptik dopamin blokajına seçici olarak duyarlı olduğunu göstermiştir (özellikle de yaygın olarak kullanılan bir antipsikotik ajan olan dopamin 2 reseptör blokörü haloperidole karşı). Haloperidolün lokomosyonu yavaşlatıcı etkileri, MK-801 tarafından hiperlokomosyonu indüklenmiş D vitamini eksikliği olan hayvanlarda daha belirgindir (Kesby ve ark., 2006).

Serbestçe hareket eden sıçanların hipokampüsünden elektrofizyolojik kayıtlar kullanılarak, bir sonraki çalışmada öğrenme ve belleğin hücresel karşılığı olan uzun süreli potansiyasyonu (LTP) araştırıldı (Grecksch, Rüthrich, Höllt, & Becker, 2009).

D vitamini eksikliği olan sıçanlarda artmış LTP gösterilmiş ve bu, haloperidol tedavisi ile tersine çevrilmiştir. Yetişkinlikte D vitamini eksikliği sebebiyle görülen bu etkiler tersine çevrilebilir, çünkü 8 hafta boyunca D vitamini eksikliği yaşayan yetişkin sıçanlar normal başlangıç hipokampal LTP sergilemesine rağmen, tetanizasyondan sonra azalmış LTP'ye sahip olması nedeniyle bu etkiyi tersine çevirme eğilimindedir (Salami, Talaei, Davari, & Taghizadeh, 2012). Sonuç olarak, D vitamininin hipokampüs gelişimi boyunca farklı nörofizyolojik hedefleri düzenlemesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Eyles ve ark., 2013).

Düşük prenatal ve perinatal D vitamini düzeyleri şizofreni ile ilişkilendirilmiştir (McGrath ve ark., 2010). D vitamini eksikliği olan sıçanlar, şizofreninin gelişimsel nörobiyolojisini anlamak için kullanışlı bir hayvan modeli olarak önerilmiştir (McGrath, Burne, Feron, Mackay-Sim, & Eyles, 2010). Bugüne kadar yayınlanan beyinin yapısal ve davranışsal farmakolojisi büyük ölçüde bu öneriyi desteklemektedir. Diğer hayvan modelleri gibi, D vitamini eksikliği olan model şizofreninin her yönünü tam olarak taklit etmez ancak bu vitamin eksikliği diğer hayvan modelleri ile karşılaştırıldığında birkaç çekici özelliğe sahiptir: (a) epidemiyolojiden gelen ipuçlarına dayanır; (b) şizofreninin en tutarlı nörobiyolojik belirteçlerinden biri olan lateral ventrikül büyümesini artırır (Harrison, & Weinberger, 2005); ve (c) şizofreni ile ilişkilendirilen iki önemli davranışsal endofenotipi, yani NMDA antagonistlerine ve dopaminerjik agonistlere davranışsal duyarlılık artar (Laruelle, Frankle, Narendran, Kegeles, & Dargham, 2005) ve bozulmuş latent inhibisyonu gözlemlenir (Kathmann, Recum, Haag, & Engel, 2000).

2.37. D Vitamini ve Yetişkin Beyinde Nörotransmitter Ekspresyonu

Bu zamana kadar yapılan çaışmalarda, diyet manipülasyonunun veya beyine doğrudan 1,25(OH)2D3 ilavesinin, kolinerjik, dopaminerjik ve noradrenerjik nörotransmitter sistemlerini değiştirdiğine dair deneysel kanıtlar bulunmaktadır. Bu nörotransmitterlerdeki anormallikler, şizofreni, otizm, depresyon ve Alzheimer gibi çeşitli nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda epidemiyolojik çalışmalarda, D vitamini düzeyleri bu bozuklukların riskiyle ilişkilendirmiştir (Eyles ve ark., 2013).

1,25(OH)2D3'ün beyin fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştıran erken çalışmalar, D vitamininin homeostatik olayları düzenleyen bir nörohormon olarak

davranmasının beklenmesi nedeniyle hipotalamus ve hipofiz üzerinde yoğunlaşmıştır. Periferik olarak verildiğinde, 1,25(OH)2D3'ün bu bölgelerde kolin asetil transferaz seviyesini artırdığı bildirilmiştir (Sonnenberg, Luine, Krey, & Christakos, 1986). Daha sonraki diyabetik sıçan modellerinde yapılan çalışmalar özellikle ilgi çekici olmuştur. Bu model, beyin sapı ve beyincikte kolinerjik reseptör yoğunluğunu azaltırken, beyincikte DA2'yi artırır ve DA1 reseptör ekspresyonunu azaltmaktadır. 14 gün boyunca (12 µg/kg) oral yolla D3 vitamini eklenmesi, bu nörotransmitter reseptörlerinin ekspresyonunu diyabetik olmayan seviyelere geri getirmiştir (Peeyush ve ark., 2010; Peeyush, Paul, Antony, & Paulose, 2011). Bu diyabetik hayvanlar Y labirentinde bilişsel ayrım yeteneklerinde bozulma yaşarlar. Önemli olan, D3 vitamini uygulamasının sadece kolinerjik reseptör ekspresyonunu geri getirmekle kalmadığı, aynı zamanda bilişsel bozukluklarda meydana gelen iyileşmeyle ilişkilendirilmiş olmasıdır. Bu çalışmanın yazarları, oral D vitamini takviyesinin diyabetle ilişkilendirilen nörolojik sonuçların etkisini azaltmada önemli olabileceğini öne sürmüşlerdir (Kumar ve ark., 2011).

Merkezi sinir sistemi üzerindeki D vitamininin etkileriyle ilgili literatür bilgilerine bakıldığında, 1,25(OH)2D3 ilavesinin dopamin nörotransmisyonunun bazı yönlerinde değişikliklere yol açtığını açıklayan çalışmaların sayısı oldukça fazladır. Yeni doğan sıçanlara 1,25(OH)2D3 verildiğinde, yetişkin yavrularda beyincik bölgesinde dopamin ve noradrenalin içeriğinin yükseldiği gösterilmiştir (Tekes, Gyenge, Folyovich, & Csaba, 2009). Yüksek dozlarda uzun süre 1,25(OH)2D3 ile tedavi edilen yetişkin hayvanlarda, bazal striatal dopamin içeriğinde ve dopaminin uyarılmış salınımında artış görülür (Smith, Fletcher-Turner, Yurek, & Cass, 2006).

D vitamininin merkezi sinir sistemi dopamin seviyelerini artırma yeteneği göz önüne alındığında, Parkinson hastalığına ait çeşitli modellerde potansiyel bir sinir koruyucu madde olarak incelenmiştir. Bu tür modellerde dopaminerjik nöronların seçici kaybı, genellikle substantia nigrada lokal olarak dopaminerjik bir toksin eklenerek (örneğin 6-hidroksi dopamin) veya bu beyin bölgesinde oksidatif stresi indükleyecek bir ajan (örneğin demir) kullanılarak incelenir. Dopaminerjik toksisite tarafından başlatılan bazı nörolojik hasarlar, 1,25(OH)2D3'ün sistematik olarak verilmesiye iyileşir, bu durum muhtemelen dopaminin sentezindeki hız sınırlayıcı enzim olan tirozin hidroksilaz (TH) seviyesinin artması nedeniyledir (Chen ve ark.,

2003; Sanchez ve ark., 2009; Wang ve ark., 2001). Bilinen dopamini azaltan ajanların (örneğin metamfetamin) uygulanmasından sonra, 1,25(OH)2D3'ün verilmesi dopamini kontrol seviyelerine geri getirdiği de gösterilmiştir (Cass, Smith, & Peters, 2006). Başka bir yakın zamandaki çalışma, demirin yanı sıra çinkonun da substantia nigrada oksidatif hasara neden olabileceğini göstermiştir. Substantia nigraya çinko lokal olarak verildiğinde, lipit peroksidasyonunu indükler, dopamin nöronlarının apoptotik eliminasyonunu ve striatal dopamin içeriğini azaltır. Eğer 1,25(OH)2D3 bu toksine maruz kalmadan önce sistemik olarak uygulanırsa, çinko tarafından indüklenen lipit peroksidasyon artışları ve striatal dopamindeki azalmalar önlenir (Lin, Fan, Yang, Hsu, & Yang, 2003).

Bu nedenle, birlikte ele alındığında, 1,25(OH)2D3'ün hem dopamin sentezi ve depolanmasında rol alan faktörleri indükleyebileceği hem de dopamin nöron bütünlüğünü korumak için antioksidan bir etki gösterdiği anlaşılmıştır. Gerçektende birkaç araştırmacı, D vitamini eksikliğini (Evatt ve ark., 2008; Newmark, & Newmark, 2007) Parkinson hastalığının artmış riski ile ilişkilendirmiştir. Bu çalışmalardan biri özel bir ilgiyi hak etmektedir. Bu çalışma, genel nüfusta 25OHD3 seviyelerine bakılarak Parkinson hastalığının daha sonraki başlangıcının tahmin edilip edilemeyeceğini incelemiştir. Yazarlar, büyük bir hasta topluluğunda (50-79 yaş, n = 3000), D vitamini seviyelerinin daha yüksek olmasının, bu hastalığın ileriki yaşlarda gelişme riskini azalttığını göstermektedir (Kenkt ve ark., 2010). D vitamini reseptöründe görülen anormalliklerin Parkinson hastalığı riski ile ilişkilendirildiği bilinmektedir (Kim ve ark., 2005).

2.38. D Vitamini ve Aksonel Gelişim

Embriyonik hipokampal eksplant kültürlerinde yapılan erken bir çalışmada, 1,25(OH)2D3 eklenmesinin nörit gelişimini artırdığı gösterilmiştir (Brown, Bianco, McGrath, & Eyles, 2003). Bu bulgu, daha yakın zamanda, aynı konsantrasyondaki 1,25(OH)2D3 kullanılarak bireysel hipokampal nöronlarda tekrarlanmıştır. (Marini ve ark., 2010). Her iki gruptada sinir büyüme faktörü (NGF) seviyelerinde küçük ancak anlamlı bir artıştan bahsetmiş ve bu etkinin neden olduğunu varsaymıştır. Başka bir grup, periferik denervasyon sonrası akson rejenerasyonunu artırmak için ergokalsiferolün (D2 vitamini) yeteneğini incelemeyi tercih etmiştir. Yazarlar bu seçimlerini, farelerde 25OHD3 seviyelerini yükseltmek için D2 vitamininin D3

vitamininden daha güçlü bir form olduğunu iddia eden eski bir çalışmaya dayandırmışlardır (Horst, Napoli, & Littledike, 1982). Bu yazarlar, ergokalsiferol tedavisinin lezyonlar oluştuktan hemen sonra başlatılması durumunda artmış aksonojenez, akson çapı ve daha yüksek fonksiyonel iyileşmeyi göstermeyi başarmışlardır (Chabas ve ark., 2008).

2.39. D Vitamini ve L-Tipi Kalsiyum Kanalları

Kalsiyum geçişleri normal nöronal fonksiyon için esastır, ancak tamponlanmamış hücresel kalsiyum beyin hücreleri için nörotoksiktir. D vitamininin, hücresel kalsiyumu şelatlayarak hücreyi koruyan kalsiyum bağlayıcı proteinlerin (örneğin kalbindin) ekspresyonunu uyaracağı bilinmektedir. Başlangıçta, D vitamininin bu tür proteinlerin düzenlenmesi yoluyla aşırı kalsiyuma karşı bazı sinir koruyucu işlevler sunabileceği öne sürülmüştür. Ancak, bunu çürüten iki önemli veri bulunmaktadır. İlk olarak, 1,25(OH)2D3 böbrekte kalbindin üretimini artırabilirken, beyinde herhangi bir etkisinin olmadığı görünmektedir (Huang, & Christakos, 1988). Ek olarak, VDR'nin genetik olarak yok edilmesi bu proteinlerin bazal ekspresyonunu etkilememektedir (Erben ve ark., 2002).

Bir süredir, fizyolojik olarak önemli konsantrasyonlarda 1,25(OH)2D3'ün osteoblastlarda ve osteosarkom hücrelerinde kalsiyum kanal fonksiyonunu güçlü ve hızlı bir şekilde modüle ettiği bilinmektedir (Caffrey, & Farach-Carson, 1989; Lieberherr, 1987). Daha önce yapılan bir çalışma, 1,25(OH)2D3'ün kültüre edilmiş mezensefalik nöronlardaki kalsiyum girişinin toksik etkilerini engelleyebildiğini göstermiş olsa da, bu eylemin mekanizmaları belirsiz kalmıştır (Ibi ve ark., 2001). Bu belirsizlik, Brewer ve meslektaşlarının önemli bir çalışmasına kadar devam etmiştir, ancak bu çalışmada 1,25(OH)2D3'ün ilk kez hipokampal nöronlarda L-tipi voltaj duyarlı kalsiyum kanallarını aşağı yönlü düzenlediği gösterilmiştir (Brewer ve ark., 2001). Bu bağlantı, iki yeni çalışma ile desteklenmiştri. İlk çalışmada, primer kortikal nöronlarda RNA interferans teknolojisi kullanılarak VDR ekspresyonunu susturulduğunda, L-tipi-A1C voltaj duyarlı kalsiyum kanallarının protein ve mRNA düzeylerinin yukarı regüle olduğu gösterilmiştir, ancak L-tipi-A1D kanalları bu durumdan etkilenmemiştir. Buna uygun olarak 1,25(OH)2D3, VDR normal dokusuna eklendiğinde, mRNA ve protein seviyelerinde her iki kalsiyum kanalının da ekspresyonunu azaltmıştır. İkinci çalışmada, aynı grup, 1,25(OH)2D3'ün bu kalsiyum

kanallarını sıçan kortikal nöronlarda da aşağı regüle ettiğini ve aşırı kalsiyum girişine karşı koruma sağladığını doğrulamıştır (Gezen-Ak, Dursun, & Yilmazer, 2011). Bu nedenle, en azından bir ölçüde, D vitamininin bu mekanizma aracılığıyla bazı ekzitotoksik ajanlara karşı sinir koruyucu etki sağlayabileceği muhtemeldir. Diğer iyon kanalları da bu mekanizmalarda rol oynayabilir. Örneğin, nöron olmayan hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarda 1,25(OH)2D3'ün klor kanalı fonksiyonunu değiştirdiği gösterilmiştir (Menegaz ve ark., 2011).

2.40. D Vitamini ve Reaktif Oksijen Türleri

Son zamanlarda, 1,25(OH)2D3'ün dentat girus üzerine akut oksidatif lezyonun etkilerini hafiflettiği gösterilmiştir (Goudarzvand, Javan, Mirnafaji-Zadeh, Mozafari, & Tiraihi, 2010). Oksidatif stres koşullarında, fizyolojik olarak anlamlı konsantrasyonlarda 1,25(OH)2D3 beyinde glutatyon gibi güçlü antioksidanları artırabilir (Chen ve ark., 2003; Lin ve ark., 2003). Aynı fizyolojik düzeylerde 1,25(OH)2D3, mezensefalik doku içinde hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin alımını bloke eder. Tam mekanizma netleştirilmemiş olsa da, bu koruyucu etkiler için hem transkripsiyonel olaylar hem de de novo protein sentezi gereklidir, bu da D vitamini aracılı genetik düzenlemenin etkili olduğunu düşündürmektedir (Ibi ve ark., 2001). Reaktif oksijen türleri lipid membranlara karşı spesifik olmayan hasara neden olurken, bu moleküllerle 1,25(OH)2D3 arasında doğrudan ve geri dönüşümlü etkileşimlere dair bazı kanıtlar bulunmaktadır. Nitrik oksit, hidrojen peroksit ve peroksinitrit, hepsi de nükleer D vitamini sinyalini doğrudan inhibe etmektedir ve VDR ile koreseptörü RXR arasındaki kompleks oluşumunu doza bağlı bir şekilde engellemektedirler (Kroncke, Klotz, Suschek, & Sies, 2002). Bu inhibisyon, 100 nM 1,25(OH)2D3 eklenmesi ile büyük ölçüde tersine dönmektedir. Dolayısıyla, 1,25(OH)2D3'ün beyindeki potansiyel olarak önemli bir etki mekanizması, nitrik oksit adlı önemli bir oksidan ve sinyal molekülünün üretimini inhibe etmek olabilir (Garcion, Wion-Barbot, Montero-Menei, Berger, & Vion, 2002).

2.41. D Vitamini ve Nörotrofik Faktörler

Wion ve meslektaşlarının laboratuvarındaki çalışmalar, D vitamininin bir dizi nörotrofik faktörü modüle edebileceğini ortaya koymuştur. Bunlar arasında en sık rapor edileni sinir büyüme faktörüdür (NGF) (Neveu, Naveilhan, Baudet, Brachet, & Metsis; Wion ve ark., 1991). NGF, beyinde birçok hücrenin büyümesi ve hayatta

kalması için esastır, ancak özellikle hipokampal nöronlar için tropik destek sağlayan kolinerjik bazal önbeyin nöronları açısından önemlidir (Korsching, Auburger, Huemann, Scott, & Thoenen, 1985). Bu nedenle D vitamini, hipokampal nöronların gelişimi ve fonksiyonları için önemli olabilir. Gerçektende, bu fikre yönelik orta düzeyde bir destek bulunmaktadır. Kültüre edilmiş hipokampal nöronlarda veya bireysel nöronlarda benzer konsantrasyonlarda 1,25(OH)2D3 eklenmesi, NGF ekspresyonunu ve ayrıca nörit gelişimini artırmaktadır (Brown ve ark., 2003; Marini ve ark., 2010). Daha yakın zamanda, bu etki primer kortikal nöronlarda yeniden doğrulanmıştır (Dursun, Gezen-Ak, Yilmazer, 2011). Yapılan başka bir çalışmada ise, geçici olarak VDR ekspresyonunu sessizleştirildiğinde primer kortikal nöronlarda NGF üretiminde bir azalma olduğu ortaya konmuştur (Gezen-Ak ve ark., 2011). Yetişkin sıçanların hipokampusuna 1,25(OH)2D3'nin doğrudan uygulanması NGF ekspresyonunu artırmaktadır (Saporito ve ark., 1993).

Özetle, D vitamininin beyin gelişimini ve işlevlerini etkileyebileceği birçok yol bulunmaktadır. Nükleer reseptörler aracılığıyla sinyal veren diğer steroid hormonları gibi D vitamini, beyindeki çoğalan hücrelerin düzenlenmesinde ve çeşitli farklılaşma aşamalarında önemli bir rol oynar. Ayrıca, L-tipi kalsiyum kanallarını aşağı düzenleme yeteneği aracılığıyla kalsiyum geçişlerini kontrol etme, gelişmekte olan ve olgunlaşmış nöronlara trofik destek sağlama, reaktif oksijen türlerine karşı koruma yeteneği, bireysel nöronların canlılığı ve nöronlar arası bağlantıya katkıda bulunabilir. Bu mekanizmalar, D vitamini durumu ile yakından ilişkilendirilen multiple skleroz gibi nöropatolojik durumlar için merkezi bir rol oynayabilir (Handel, Giovannoni, Ebers, & Ramagopalan, 2010).

2.42. D Vitamini, Melatonin, Serotonin İlişkisi ve Epifiz Bezi

2.42.1. Triptofan hidroksilazlar ve D Vitamini

Nörotransmitter serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), çeşitli merkezi sinir sistemi ile ilgili fizyolojik işlevler ve patofizyolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Periferik dokularda ise, 5-HT vasküler tonusu düzenleme, gastrointestinal sistem hareketliliği, hemostaz ve bağışıklık tepkisini düzenleme gibi işlevlerde rol oynar (VanderWeele, Anderson, & Cook, 2000). Ayrıca, serotonin melatonin için bir öncü maddedir ve bu nedenle epifiz bezinde yüksek miktarda sentezlenir. Triptofan hidroksilaz (TPH), 5-HT sentezindeki hız sınırlayıcı adımı katalizler. TPH, triptofanı

hidroksile ederek 5-hidroksitriptofan (5-HT) oluşturmak için Fe2+'yi koenzim, O2 ve tetrahidrobiopterini (BH4) ko-substratlar olarak kullanır (Walther, & Bader, 2003). Epifiz bezinde, 5-HT konsantrasyonu çok yüksektir ve gün içinde geceye göre çok daha yüksek olan dramatik bir günlük desen gösterir (Synder, Axelrod, & Zweig, 1967). Günlük ritim, üst servikal ganglionun postgangliyonik sempatik liflerinden pinealositlerin adrenerjik olarak aktive edilmesine bağlıdır. Pinealositlerin adrenerjik aktivasyonu, arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) enziminin aktivitesinde büyük bir artış nedeniyle melatonin adlı epifiz bezi hormonunun sentezinde dramatik bir artışa neden olur. Mekanizma AANAT proteininin, proteazomal proteoliz ile parçalanma hızını kontrol eden ve enzimin substratına olan afinitesini etkileyen pinealosit siklik AMP'nin adrenerjik uyarılmasını içerir (Ganguly ve ark., 2001; Ganguly, Coon, & Klein, 2002; Gastel, Roseboom, Rinaldi, Weller, & Klein, 1988). Ek olarak, kemirgenlerde geceleyin AANAT gen transkripsiyonunda büyük (> 100 kat) bir artış mevcuttur (Roseboom ve ark., 1996). 5-HT, AANAT için bir substrat olduğundan, bu enzimin geceleyin aktive edilmesi epifiz bezinde 5-HT'nin azalmasına neden olur ve melatonin sentezinin düşük olduğu gündüz saatlerinde ise epifiz bezinde 5-HT daha yüksek seviyelerde bulunur. Epifiz bezi içindeki 5-HT seviyesini etkileyen diğer faktörler de bulunmaktadır. İlk olarak, in vitro deneyler ve sıçan epifiz bezleri üzerinde yapılan in vivo diyaliz çalışmaları, epifiz bezi alfa1-adrenoseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla gece 5-HT salınımında artış olduğunu göstermiştir (Azekawa, Sano, Sei, & Morita, 1991; Sun, Deng, Liu, & Borjigin, 2002; Walker, & Aloyo, 1987). İkinci olarak, birkaç çalışma, sıçan epifiz bezinde 5-HT sentezindeki hız sınırlayıcı enzim olan triptofan hidroksilaz (TPH) aktivitesinde yaklaşık olarak iki kat artış olduğunu belgelemiştir (Shibuya, Toru, & Watanabe, 1977; Sitaram, & Lees, 1978; Sugden, Grady, & Mefford, 1989). Bu artış, pinealosit beta-adrenoseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir ve artan 5-HT sentezinin, artan melatonin sentezi yoluyla 5-HT'nin salınımı ve tükenmesini telafi etmek amacıyla olduğu öne sürülmüştür (Sugden, 2003).

TPH enzimi, fenilalanin hidroksilaz (PAH) ve tirozin hidroksilaz (TH) ile birlikte aromatik aminoasit hidroksilazlar (AAAH) süper ailesine aittir (Fitzpatrick, 1999; Hufton, Jennings, & Cotton, 1995). Karakterize edilen ilk TPH geni, 11 ekzon içeriyordu ve insan kromozom 11'de, fare kromozom 7'de bulunmaktaydı (Craig,

Boularand, Darmon, Mallet, & Craig, 1991; Ledley ve ark., 1987; Nielsen, Dean, & Goldman, 1992; Stoll, Kozak, & Goldman, 1990; Stoll, & Goldman, 1991). Onyıldan fazla bir süredir bu genin, omurgalı genomunda tek TPH geni olduğu düşünülmekteydi (Kim ve ark., 1991). Bu TPH geninin (şimdi Tph1 olarak adlandırılan) hedefe yönelik ablasyonuyla, son zamanlarda insan kromozom 12 ve fare kromozom 10'da bulunan ek bir gen tarafından kodlanan ikinci bir TPH izoformu (TPH2) keşfedildi. TPH2, başlıca beyin kökünde eksprese edilirken, farelerin bağırsak, dalak ve timüs gibi periferik organlarında TPH1 mRNA'sı bulunmaktadır (Walther ve ark., 2003). Ayrıca, kan-beyin bariyeri tarafından beyinden ayrılmış olduğu düşünülen epifiz bezinde oldukça aktif 5-HT sentezi, tamamen TPH1'in varlığına bağlıdır. Bu nedenle epifiz bezi, periferik bir doku olarak kabul edilebilir (Aldegunde, Miguez, & Veira, 1985).

TPH1 ve TPH2, insanlarda %71 aminoasit özdeşliği gösteren homolog proteinlerdir. TPH1'in yapısal ve işlevsel özellikleri için önemli olduğu tespit edilen tüm kalıntılar, TPH2'nin yapısında da korunmuştur (Daubner, Moran, & Fitzpatrick, 2002; Jiang, Yohrling, Schmitt, & Vrana, 2000; Knappskog, & Haavik, 2001; Martinez, Wang, Erlandsen, Haavik, Knappskog, & Stevens, 2002; McKinney ve ark., 2001). Bu nedenle, TPH1'in çoğu özelliği, TPH2'de de bulunmaktadır. Aslında, beyin kökünden hazırlanan TPH örnekleri kullanılarak düzenlenen önceki raporlar bu kavramı istemsizce desteklemiştir. Beyin kökü TPH (TPH2) enziminin kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz II (CaMKII) ve protein kinaz A (PKA) tarafından fosforile edilebileceği gösterilmiştir (Biber, 1980; Ehret, Cash, Hamon, & Maitre, 1989; Johansen, Jennings, Cotton, & Kuhn, 1996). CaMKII için fosforilasyon bölgeleri serin 58 ve 260 ve PKA için serin 58 olarak rekombinant TPH1'de haritalanmıştır (Jiang ve ark., 200; Kuhn, Arthur, & States, 1997; Kumer, Mockus, Rucker, & Vrana, 1997; Yohrling, Jiang, Mockus, & Vrana, 2000). Her ikisi de TPH2'de korunduğundan, bunların aynı zamanda yeni keşfedilen izoformdaki fosforilasyon bölgeleri olduğu önerilmektedir. Fosforilasyondan sonra, bir 14-3-3 proteininin muhtemelen TPH1'deki fosfo-serin 58 kalıntısına bağlandığı, enzimin aktivitesini artırdığı ve de-fosforilasyonunu engellediği belirtilmiştir (Kowlessur, & Kaufman, 1999; Kuhn ve ark., 1997; Kumer ve ark., 1997; Yohrling ve ark., 2000; Yamauchi, Nakata, & Fujisawa, 1981). Bu her iki kinaz aktivasyonunun, beyinin 5-HT sentezi ve salınımının düzenlenmesinde rol oynadığı göz önüne alındığında

fonksiyonel öneme sahip olabilir (Chen, Rainnie, Greene, & Tonegawa, 1994; Stenfors, & Ross, 2002). Öte yandan son zamanlarda yapılan bir çalışmada, TPH1'in CaMKII tarafından fosforile edilmesinin onun proteazom tarafından yıkımını tetiklediği gösterilmiştir (Lida ve ark., 2002). Farklı dokulardan elde edilen TPH enzimleri farklı stabilitelere sahiptir. Bir 14-3-3 proteininin TPH enzimine bağlanması, enzimin proteazom tarafından yıkımını önlemektedir ve TPH enzimlerindeki bu stabilite farklılıklarının sebebi bağlanmanın bazı dokularda gerçekleştiği ya da iki izoformdan yalnızca biriyle gerçekleştiği önerisi ile açıklanabilir (Meek, & Neff, 1972; Sitaram, & Lees, 1978).

Son zamanlarda bulunan ikinci bir gen (TPH2), işlevsel bir triptofan hidroksilazı kodlar ve TPH1'den çok daha yüksek miktarda beyinde eksprese edilmektedir (Walther ve ark., 2003). Bu bulgu orta beyin rafe çekirdekleri gibi 5-HT sentezinin bulunduğu bölgelerde TPH1'in tespitinde uzun süredir devam eden zorlukları açıklayabilir (Clark, & Russo, 1997; Dumas, Darmon, Delort, & Mallet, 1989). Ticari olarak bulunan TPH1 antikorları ayrıca rekombinant TPH2'yi de tanımaktadır, bu da daha önceki çalışmalarda beyinde TPH proteininin tespitini açıklar (VanderWeele, & Cook, 2003; Walther ve ark., 2003). Epifiz bezi beyin içinde bulunup yüksek triptofan hidroksilaz aktivitesine sahip olduğundan ve bol miktarda TPH1'i eksprese ettiğinden, iki TPH izoformunu kodlayan mRNA ekspresyonlarını karşılaştırmak ilgi çekici olmuştur. Gerçek zamanlı RT-PCR ile TPH2 kolayca tespit edilmiş, ancak epifiz bezinde TPH1'den çok daha düşük bir düzeyde eksprese edildiği ortaya çıkmıştır. Gerçektende 0.25x10^6 TPH pozitif hücre içeren bir bezde TPH2'nin (yaklaşık 400 kopya) düşük kopya sayısı, ya çok az pinealositin düşük düzeyde TPH2 eksprese ettiğini ya da üretilen TPH2 izoformlarının epifiz bezinde bulunan pinealosit dışı hücreler (mast hücreleri, glial hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar) tarafından gerçekleştirildiğini düşündürmektedir (Sugden, 2003). Ancak morfolojik ve immünohistokimyasal verilere göre, bezdeki hücrelerin büyük çoğunluğunun pinealositler olduğunu ve bu hücrelerin epifiz spesifik bir belirteç olan S-antijenini eksprese ettiğini göstermektedir; yaklaşık1000 hücreden yanlızca 1 tanesinin glial fibriller asidik protein için pozitif boyandığı belirtilmektedir (Wicht, Korf, & Schaad, 1993). Bu nedenle, epifiz bezinde 5-HT'nin sentezinde TPH1'in sorumlu olan triptofan hidroksilaz izoformu olduğu açıktır (Sugden, 2003).

D vitamini hormonu (kalsitriol), beyinde serotonin sentezleyen gen olan triptofan hidroksilaz 2 (TPH2)'nin transkripsiyonunu D vitamini yanıt elementi (VDRE) üzerinden aktive ederken, kan-beyin bariyeri dışındaki dokularda ise D vitamini TPH1 trankripsiyonunu farklı bir VDRE üzerinden baskılamaktadır. D vitaminin TPH1 ve TPH2 enzimlerini düzenlemede farklı etkileri olduğunu destekleyen kanıtlar vardır: 1) DNA-transkripsiyon faktörü etkileşimlerinin incelenmesi, bütün genom kromatin immünopresipitasyonu ile birleştirilmiş DNA dizileme verileri ile TPH2'nin RXR ile ilişkilendirildiğini ortaya çıkarmıştır. RXR'nin, D vitamini varlığında VDR ile heterodimer oluşturduğu göz önüne alındığında, bu, TPH2'nin D vitamini tarafından transkripsiyonel olarak aktive edildiğini öne sürmektedir (Patrick, & Ames, 2014). 2) D vitamini eksikliğinin kemik dönüşüm hızını (osteoklastogenez) artırdığı ve bunun kısmen yükselmiş paratiroid hormonu (PTH) seviyeleri aracılığıyla gerçekleştiği iyi bilinmektedir. PTH, D vitamininin negatif bir transkripsiyonel hedefidir (Haussler, Jurutka, Mizwicki, & Norman, 2011; Holick, & Chen, 2008; Kremer ve ark., 1996). Dikkat çekici bir şekilde, TPH1 aracılığıyla serotonin üretimi de osteoklast oluşumunu indükler ve kemik kaybına neden olurken, TPH1 eksikliği olan fareler azalmış osteoklastogenez ve artmış kemik kütlesi sergiler (Achengli ve ark., 2012). Ayrıca, farelerde TPH1'in farmakolojik inhibisyonu, osteoporoz fare modelinde osteoblast oluşumunu teşvik eder ve kemik kütlesini artırır (Yadav ve ark., 2010). Gerçekten de, otizmli erkekler (otizmde D vitamini düşüklüğü karakteristik bir bulgudur), otizmli olmayan erkeklere kıyasla azalmış kemik mineral yoğunluğuna sahiptir, bu da TPH1 aracılığıyla serotonin üretiminin otizmli erkeklerde yükselmiş olabileceğini düşündürmektedir (Hediger ve ark., 2008; Neumeyer, Gates, Ferrone, Lee, & Misra, 2013). Bu veriler, D vitaminin, TPH1 gen baskılanması aracılığıyla bağırsak enterokromafin hücrelerinden serotonin üretimini azaltarak osteoblast oluşumunu arttırıp kemik kütlesini bir yeni mekanizma ile düzenleyebileceğini önermektedir (Patrick, & Ames, 2014). 3) D vitamini tarafından transkripsiyonel olarak baskılanan genler, D vitamini olmadığında yüksek bazal mRNA ekspresyonuna sahiptir; ancak, D vitamini hormonunun bağlanmasıyla mRNA ekspresyonu azalır (Turunen, Dunlop, Carlberg, & Vaisanen, 2007). Bu, insan epifiz bezinde TPH1'in yüksek mRNA ekspresyon seviyeleriyle uyumludur; ki bu, beyin sapındaki TPH2'ye kıyasla 150 kat daha yüksektir (Austin, & Donnell, 1999).

4) Kan dolaşımındaki serotonin, TPH1'den üretilir ve yaz aylarında en düşük, kış aylarında ise en yüksek seviyededir; oysa, TPH2'den üretilen beyin serotonin düzeyi yaz aylarında en yüksek, kış aylarında ise en düşük seviyededir (Lambert, Reid, Kaye, Jennings, & Esler, 2002; Mann, McBride, Anderson, & Mieczkowski, 1992; Moffitt ve ark., 1998). Bu veriler, gözlemlenen serum D vitamini konsantrasyonlarındaki mevsimsel varyasyonlarla uyumludur (Kasahara, Singh, & Noymer, 2013). 5) Serum D vitamini konsantrasyonları ile epifiz bezinde TPH-1 aracılığıyla serotoninden üretilen melatonin seviyeleri arasında ters ilişki bulunmaktadır. D vitamini takviyesinin artan dozlarıyla melatonin üretiminde doza bağlı bir azalma olduğu gösterilmiştir (Golan ve ark., 2013).

D vitamini konsantrasyonları ile melatonin arasındaki ters ilişkinin, TPH1'in D vitamini aracılı transkripsiyonel baskılanması nedeniyle olabileceğini düşündürmektedir. (Patrick, & Ames, 2014). 6) TPH1 mRNA ekspresyonu gündüz en düşükken ve gece en yüksektir, TPH2 ise gündüz en yüksekken gece en düşüktür (Malek, Dardente, Pevet, & Raison, 2005; Nexon, Poirel, Clesse, Pevet, & Raison, 2009; Sugden, 2003). Tüm bu kanıtlar bir araya geldiğinde, D vitamini TPH1 izoformunu transkripsiyonel olarak baskılarken ve TPH2 izoformunu aktive etmektedir, böylece serotonin üretimini periferik dokularda ve beyinde tersine etkileyen yeni bir mekanizmayı işaret eder (Patrick, & Ames, 2014).

2.42.2. D Vitamini, melatonin ve uyku

Uyku, yaşamın üçte birini oluşturur ve günlük rutinimizde büyük öneme sahiptir (Dahl, 2009). Ulusal Uyku Vakfı, yetişkinlerin her gün 7-8 saat uyumalarını önerir, ancak uyku ihtiyaçları yaş ve cinsiyete göre değişebilir (Hirshkowitz ve ark., 2015). Sağlıklı uyku, fiziksel ve psikolojik sağlığın korunması için gereklidir. Günlük uyku-uyanıklık döngüsü sirkadiyen saat, farklı nöronlar, hipotalamus tarafından üretilen hormonlar ve çevresel sinyaller (karanlık/aydınlık) tarafından kontrol edilir (Jones, 2011; Vitaterna, Takahashi, & Turek, 2001).

D vitamini, uyku düzenlemesinde hem doğrudan hem de dolaylı bir rol oynar (Romano ve ark., 2020). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi'nde düşük D vitamini seviyelerinin daha kısa uyku süresi ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Muscogiuri ve ark., 2018). Kesitsel bir çalışmada da, D vitamini eksikliğinin kötü uyku kalitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Massa ve ark., 2015). D vitamini eksikliği

uyku bozuklukları ile ilişkilendirilmesine rağmen, uyku rahatsızlıklarının önlenmesi veya tedavisinde D vitamini takviyesinin rolünü kesin olarak destekleyecek kanıtlar hala yetersizdir; aslında, bu yönleri daha iyi açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Romano ve ark., 2020).

D vitamini reseptörleri ile bu reseptörlerin aktivasyonlarını ve parçalanmalarını kontrol eden enzimler, uyku düzenlemesinde rol alan birçok beyin bölgesinde eksprese edilmektedir. Ayrıca D vitamini sirkadiyen ritim ve uyku düzenlenmesinde rol oymayan melatonin hormonunun üretim yolağında etkilidir. Dahası D vitamini non-spesifik ağrı bozuklukları, uyku kalitesini etkileyen huzursuz bacak sendromu ve obstrüktif uyku apne sendromu gibi rahatsızlıklardaki rolü aracılığıyla uykuyu dolaylı olarakta etkilemektedir (Romano ve ark., 2020).

Kemik homeostazının yanı sıra D vitamini, uyku, bağışıklık ve diğer birçok fizyolojik mekanizmada da rol oynar (Pludowski ve ark., 2013). D vitamini eksikliği (VDD) ile uyku bozuklukları arasındaki ilişkiyi açıklayan altta yatan mekanizmalar henüz bilinmemektedir, ancak birkaç olası mekanizma önerilmiştir. Son deneysel çalışmalarda, D vitamini reseptörlerinin (VDR) merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere vücudun neredeyse tüm dokularında yaygın olduğu belirlenmiştir (Garcion, Barbot, Menei, Berger, & Wion, 2002). VDR, uyku düzenlemesinde önemli roller üstlendikleri bilinen hipotalamus, prefrontal korteks, beyin orta gri maddesi, substantia nigra ve rafe çekirdekleri gibi insan beyninde geniş bir şekilde dağılmıştır (Musiol ve ark., 1992; Stumpf, Sar, Clark, & DeLuca, 1982). VDD son zamanlarda uyku bozukluğuna neden olan kronik non-spesifik ağrı ile ilişkiliendirilmiştir (Abbasi, Hashemipour, Hajmanuchehri, & Kazemifar, 2012; Benson, Wilson, Stocks, & Moulding, 2006; Heath, & Elovic, 2006; Lotfi, Nasser, Hamdy, Omran, & Rehany, 2007; Plotnikoff, &Quigley, 2003; Poole, 2009). Kronik spesifik olmayan klinik ağrı, VDD'nin bir belirteci gibi görünmektedir: Belirsiz bir nedenle dayanılmaz ağrı şikayeti olan hastalarda VDD yaygınlığı yüksektir. Okura ve arkadaşları, kronik ağrısı olan bireylerin kötü uyku kalitesi ve kısa uyku süresi için artmış bir risk taşıdığını rapor etmişlerdir (Okura e ark., 2008). Uyku yoksunluğuyla ilişkili artan ağrı hissinin IL-6 artışıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Haack, Sanchez, & Mullington, 2007); bu inflamatuar belirteç, obstrüktif uyku apnesi (OSA) olan hastalarda yükselebilir (Yokoe ve ark., 2003) ve bu hastalarda 25(OH)D düşük seviyelerde bulunur (Zittermann,

2003). Veteranlarla ilgili kronik ağrı üzerine yapılan bir çalışmada, standartlaştırılmış D vitamini takviyesi sonrasında ağrı seviyeleri, uyku kalitesi ve yaşam kalitesinin çeşitli yönlerinin önemli ölçüde iyileşebileceği bulunmuştur (Huang, Shah, Long, Crankshaw, & Tangpricha, 2013). Ayrıca, D vitamini eksikliği otoimmün hastalıklar ve solunum yolu enfeksiyonları hastalıkları riskini artırır. Giderek artan kanıtlar, D vitamininin bağışıklık düzenlemesini etkileyerek, prostaglandin D2, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve sitokinler gibi uyku düzenleyici inflamatuar maddelerin salınımını azaltarak immünomodülatör bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir (Feldman ve ark., 2007; Jablonski, Chonchol, Pierce, Walker, & Seals, 2011; Krueger, Majde, & Rector, 2011). Barcelo ve arkadaşları, obstrüktif uyku apnesi sendromu (OSAS) olan hastalarda, OSAS olmayan hastalara göre daha yüksek lipokalin tipi prostaglandin sentaz seviyeleri olduğunu bulmuşlardır (Barcelo ve ark., 2007). Uzun süreli düşük D vitamini seviyeleri ile normal uyku ve uyku bozuklukları arasındaki karmaşık ilişki hakkında çok daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (Gao ve ark., 2018).

Golan ve arkadaşlarının MS hastaları üzerinde yaptıkları bir çalışmada, D vitamini ve melatonin seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bu çalışmada, serum 25-OH-D seviyelerindeki değişiklikler ile idrar melatonin metaboliti değişiklikleri arasında ters bir ilişki bulunmuştur. MS hastalarında ilk 3 aylık sürede yüksek doz D vitamini takviyesi sonrasında gece melatonin salınımı azalmıştır. Daha sonra, 1 yıla kadar sürdürülen çalışmada aynı doz 25-OH-D uygulamasına devam edilmesine rağmen serum 25-OH-D seviyelerindeki azalma ile birlikte gece melatonin salınımında bir artış gözlemlenmiştir. Aslında, gece melatonin salınımındaki değişimlerin seyri, serum 25-OH-D seviyelerindeki eğilimin tam tersi olduğu görülmüştür (Golan ve ark., 2013).

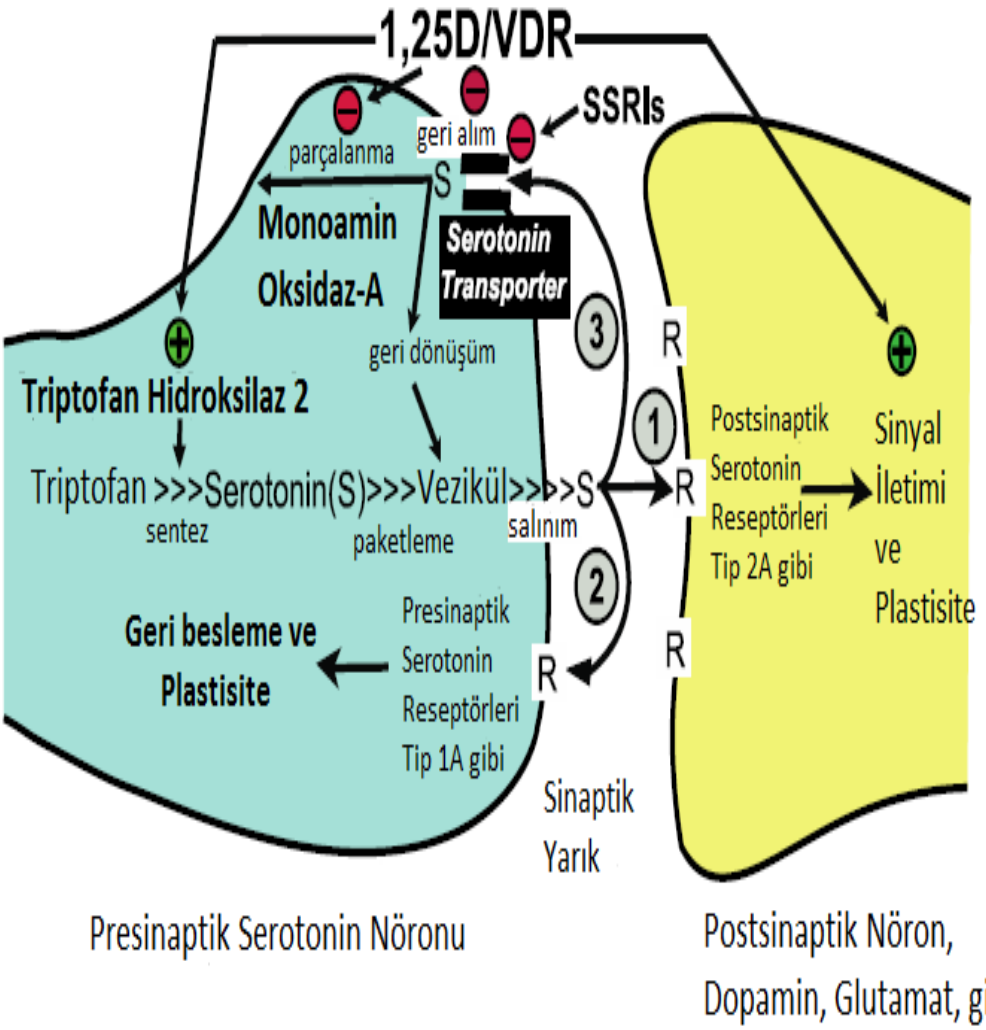
Melatoninin sentezi ve salınımı, karanlık tarafından uyarılır ve ışık tarafından inhibe edilir. Retinadan gelen ışık bilgisi, hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeği aracılığıyla epifiz bezine iletilir (Brzezinski, 1997). 25-OH-D'nin epifiz bezine 'ışık mesajı' getirebileceğini ve dolayısıyla melatonin sentezini azaltabileceğini varsaymaktayız. D vitamini ile nöro-endokrin/hormonal (melatonin) sistem arasındaki bu biyolojik kaskad ve bağlantılar henüz tam olarak ortaya konmamıştır (Golan ve ark., 2013).

2.42.3. Melatonin ve VDR ilişkisi

Önceki çalışmalar, melatoninin Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (Runx2) ekspresyonunu düzenlediğini doğrulamıştır ancak mekanizması belirsizdir. Runx2 ve D vitamini reseptörü (VDR) arasında doğrudan bir etkileşim vardır. Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, izotermal titrasyon kalorimetrisi kullanılarak melatonin ile VDR arasında doğrudan bir etkileşim olduğu, ancak Runx2 ile doğrudan bir etkileşim olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu doğrudan bağlanma sadece VDR'nin C-terminal ligand bağlanma bölgesinde (LBD) tespit edildi, ancak N-terminal DNA bağlanma bölgesinde (DBD) veya menteşe bölgesinde tespit edilmedi. Başka bir floresan elektroforetik mobilite değişimi (EMSA) deneyi, özellikle melatonin varlığında VDR konsantrasyonlarının yükseldiğini ve bununla birlikte VDR'nin Runx2'ye bağlanmasının arttığını ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, VDR yeni bir melatonin bağlanan nükleer reseptörüdür ve melatonin, sırasıyla VDR'nin LBD'sine ve DBD'sine doğrudan bağlandığında Runx2'yi dolaylı olarak düzenler (Fang ve ark., 2020).

2.42.4. D Vitamini, serotonin, SERT ve MAO ilişkisi

Diferansiye olmuş serotonerjik sıçan rafe RN46A-B14 hücrelerinde 1,25D tarafından transkripsiyonel olarak düzenlenen bir dizi triptofan metabolizma enzimi/proteini vardır ve bu şekilde optimum D vitamini hormon seviyeleri serotonin üretimini teşvik etmede doğal bir etkendir. Şekil 25'teki modelde şematik olarak tasvir edildiği gibi 1,25D, sinaptik aralıkta serotonin konsantrasyonlarını potansiyel olarak ayarlayarak sosyal davranış gibi süreçlerin nörolojik kontrolünü yönlendirebilir ve otizm spektrum bozuklukları ve depresyonu önleyebilir. Özetle D vitamini hormonu, hem VDR ve TPH2'nin hem de SERT ve MAO-A'nın eksprese edildiği ilgili beyin bölgelerinde serotonin konsantrasyonlarını yönetme yeteneğine sahiptir (Sabir ve ark., 2018).



Şekil 25. 1,25D/VDR'nin serotonin dinamikleri üzerindeki etkileri, serotonin sinapsında serotoninin seviyelerinin ince ayarlanmasını tasvir eder. Bu modelde, 1,25D'nin TPH2, SERT ve MAO-A'nın transkripsiyonel düzenlemesi aracılığıyla serotonin çıkışını artırarak serotoninin sinirsel iletimini güçlendirmesi görülmektedir. Başlangıçta (solda), 1,25D TPH2'yi indükleyerek serotonin çıkışını artırır ve yol 3 (geri alım ve parçalanma) 1,25D tarafından SERT ve MAO-A'nın baskılanması yoluyla zayıflatıldığı için, serotonin etkisi hem ön-sinaptik (çevrili yol 2) hem de post-sinaptik (çevrili yol 1) alanlarda, sırasıyla tip 1A ve 2A serotonin reseptörleri aracılığıyla artarak gerçekleşir (Sabir ve ark., 2018).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

Etik kurul onayı, Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK onay tarihi ve numarası: 06/10/2020, 2020-10/02) alınan çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmamızda 40 adet, 10 haftalık Sprague-Dawley ırkı erkek ratlar (ortalama 300-350 g arası ağırlıkta) kullanıldı.

3.2. Kullanılan Gereçler

3.2.1. İmmunohistokimyasal boyama metodu için kullanılan gereçler

3.2.1.1. İmmunohistokimyasal boyama metodu için kullanılan cihazlar

Etüv (Nüve FN500)

Mikrodalga Fırın

Mikrofotoğrafi Ataçmanlı Mikroskop

Mikrotom

Su Banyosu

pH Metre

Hassas Terazi (Sartorius Analytic AC210S)

Vorteks

3.2.1.2. İmmunohistokimyasal boyama metodu için kullanılan antikorlar

Anti-Vitamin D Receptor antibody (Marka: Abcam, Ürün kodu: ab216514)

TPH1 Polyclonal Antibody (Marka: Invitrogen, Ürün kodu: PA1-777)

TPH2 Polyclonal Antibody (Marka: Invitrogen, Ürün kodu: PA1-778)

ImmPRESS® HRP Goat Anti-Rabbit IgG Polymer Detection Kit, Peroxidase (Marka: Vector, Ürün kodu: MP-7451-50)

3.2.1.3. İmmunohistokimyasal boyama metodu için kullanılan kimyasallar, çözeltiler ve diğer malzemeler

Etanol Absollü >99,5 Extra Püre (Marka: Tekkim, Ürün kodu: TK.200655.02500)

Entellan New For Microscopy (Marka: Merck, Ürün kodu: 107961.0100)

Formaldehit Solüsyonu Minimum %37 (Marka: Merck, Ürün kodu: 104002.2500)

Citrate Buffer, pH 6,0, 10x, Antigen Retriever (Marka: Sigma Aldrich, Ürün kodu: C9999)

Lam Kenarları Rodajlı (Marka: Lamtek, Ürün kodu: LT1001740)

Lamel 20x20 (Marka: Isolab, Ürün kodu: 075.00.002)

Lamel 18x18 (Marka: Isolab, Üürn kodu: 075.00.001)

Phosphate Buffered Saline Tablet (Marka: Sigma Aldrich, Ürün kodu: P4417-100TAB)

DAB Substrate (Marka: Roche, Ürün kodu: 11718096001)

Hydrogen Peroxide Blocking Reagent (Marka: Abcam, Ürün kodu: ab64218)

Parafin Boncuk 56-58 C (patoloji & histoloji) Extra püre (Marka: Tekkim, Ürün kodu: TK.200661.05004)

Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra Pure (Marka: Tekkim, Ürün kodu: TK.090270.02500)

3.2.2. ELISA yöntemi için kullanılan gereçler

3.2.2.1. ELISA yöntemi için kullanılan cihazlar

Biotek Elisa Reader (BioTek Instruments, VT 05404-0998, Winooski-USA)

Soğutmalı Santrifüj

Çalkalamalı İnkubatör

3.2.2.2. ELISA yöntemi için kullanılan kitler

Melatonin (MT) General ELISA KIT/96 Test (Marka: Mybiosource, Ürün kodu: MBS764385)

Serotonin 5-hydroxytryptamine (5-HT) General ELISA KIT/96 Test (Marka: Mybiosource, Ürün kodu: MBS2700308)

3.2.2.3. ELISA yöntemi için kullanılan kimyasallar, çözeltiler ve diğer malzemeler

Aprotinin (30 Trypsin Inhibitory Units (TIU)) (Marka: Phoenix, Ürün kodu: RK-APRO)

Steril Pipet Ucu 200 ul (Marka: Tarsons, Ürün kodu: E522100)

Steril Pipet Ucu 10ul (Marka: Tarsons, Ürün kodu: E522100)

Eppendorf Tüp 1.5 ml

Tween 80 (Marka: Merck, Ürün kodu: 822187)

Tüp –Mikrosantrifüj –P.P – 1,5 ml – DNA & RNA Free – Gamma Steril Sertifikalı

Sıvı Aktarım Kabı PP 75ml (Marka: Tarsons, Ürün kodu: E524090)

ELISA Küveti Steril Kapaksız (Marka: LP, Ürün kodu: L122038)

3.2.3. İntraperitoneal enjeksiyon için kullanılan ilaçlar

Melatonin (Bostonchem BLS-7862Ge / General MT(Melatonin))

Devit-3 Oral Damla, 50.000IU/15ml (Deva, Türkiye)

3.2.4. D Vitamini ölçümü için kullanılan gereçler

3.2.4.1. D Vitamini ölçümü için kullanılan cihaz

Roche Cobas e601

3.2.4.2. D Vitamini ölçümü için kullanılan kit

Elecsys Vitamin D kit (Lot: 07464215190)

3.2.5. Ratlarda cerrahi ve anestezi işlemi için kullanılacak gereçler

Dietil Eter >99,5%, BP, PH. EUR.

Bistüri Sapı No:3 (Safir kod: S02-003-120)

Adson Dişli Penset 12 cm (Safir kod: S04-083-120)

Adson Dişsiz Penset 12 cm (Safir kod: S04-081-120)

Mosquito Klemp 10 cm Düz (Safir kod: S05-003-100)

Mosquito Klemp 10 cm Eğri (Safir kod: S05-004-100)

Metzenbaum Makas 14 cm (Safir kod: S03-420-145)

Makas 11 cm s/s (Safir kod: S03-400-115)

Sen Miller Ekartör 15 cm Künt (Safir kod: S12-190-150)

3.3. Yöntem

3.3.1. Deney gruplarının oluşturulması ve yapılan uygulamalar

Çalışmada kullanılacak Sprague-Dawley erkek ratlar (10 haftalık yaşta) U.Ü. Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlandı. D vitamini kısıtlaması yapılacak deney grubu dışındaki ratlar, yem olarak standart rodent yemini ad libitum olarak, içme suyu olarak çeşme suyunu da yine ad libitum şeklinde tüketmeleri sağlandı. Aynı zamanda hayvanların bulundurulacağı odada 20-23°C' lik oda sıcaklığı, %50-60 oranında nem, uygun havalandırma ve 100 W' lık ışık yoğunluğu uygulandı.

Tüm ratlar çalışmaya başlamadan 2 hafta önce gruplara göre adaptasyona alındı. Adaptasyon süresince tüm gruplardaki ratlara i.p. (intraperitoneal) serum

fizyolojik (%0,9 NaCl) enjeksiyonu yapıldı. Deney grupları 4 grup ve her grupta rastgele 10 adet rat bulunacak şekilde oluşturuldu;

1. Kontrol grubu (1. grup) ratlara i.p. serum fizyolojik (%0,9 NaCl) enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubuna i.p serum fizyolojik verilmesinin sebebi, diğer gruplarda uygulanacak i.p enjeksiyonların yaratacağı stres faktörlerinin kan parametrelerine yansımasını standardize etmek amacıyladır.
2. D vit (-) grubu (2. grup) ratlarda D vitamini kısıtlaması uygulandı. Bunun için ratlar D vitamini katkısı olmayan(0 I.U/kg normal kalsiyum ve fosfor içeren) bir yemle beslenecek, aynı zamanda 12 saat karanlık 12 saat U.V. olmayan bir ışık kullanılarak aydınlatma siklusu uygulandı (O'Loan ve ark., 2007). U.V. olmayan ışık kullanılmasının sebebi deri altı D vitamini sentezini önlemektir. D vitamini eksikliği oluşturmak, çalışmadan sonra alınacak epifiz bezlerinde TPH1/TPH2 enzimleri ve VDR üzerine etkisini gözlemlemek ve ayrıca eksik D vitamininin plazma melatonin ve serotonin seviyeleri üzerine olan etkisini araştırmak amaçlı yaptığımız bir uygulamadır.
3. D vit (+) grubu (3. grup) ratlara D vitamini i.p 5 mikrogram/kg dozda günde bir kez olarak uygulandı (Moghadamnia, Hakiminia, Baradaran, Kazemi, & Ashrafpour, 2015). Bu şekilde aynı ikinci grup gibi bu sefer D vitamini katkısının melatonin ve serotonin üzerine etkisi ile epifiz bezindeki TPH1/TPH2 enzimleri ve VDR ekspresyonunda meydana gelen değişimleri gözlemlemek amaçlı yaptığımız bir uygulamadır.
4. Melatonin grubunda (4. grup) bulunan ratlara ise melatonin i.p 10 mg/kg dozda günde bir kez aydınlık siklusunun geç saati olan akşam 17:00-18:00 arası uygulandı (Ostrowska ve ark., 2001). İ.p. olarak verilen melatoninin bu sefer hipotezimizde belirttiğimiz ve merak ettiğimiz üzere epifiz bezinde VDR ekspresyonları üzerine etkisi, pinealositlerde bulunan TPH izoformları üzerine etkisi ve plazma D vitamini ve serotonin seviyeleri üzerine olan muhtemel etkilerini ölçmek için yaptığımız bir uygulamadır.

Bu yemleme ve uygulama periyodu adaptasyon süresi ile berabar toplam 5 hafta süreyle uygulandı. Bu uygulama esnasında Dvit(-) grubu hariç diğer gruplarda uygulanan yemler protein, yağ, vitamin ve mineral madde eksikliği çekmeyecek şekilde ayarlandı. D vitamini katkısı olmayan yem içeriği Tablo 5'te gösterilmiştir. Her deney grubunda bulunan 10 adet rat için 3 kafes tahsis edilmiştir. 10'ar rattan oluşan her bir grup için, kafeslerden ikisinde 3'er rat ve diğer kafeste ise 4 adet rat olacak şekilde rastgele ratlar kafeslere yerleştirildi.

3.3.2. İntraperitoneal olarak uygulanacak D Vitamini ve melatoninin hazırlanması

İ.p. enjeksiyonlar Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi (Şekil 26).

İ.p. olarak enjekte edilecek rat spesifik melatonin saf etanolde çözdürülerek stok solüsyon hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyondan alınan 0,1 ml üzerine enjeksiyon sırasında 0,9 ml NaCl solüsyonu eklenerek uygulamalar gerçekleştirildi (Li ve ark., 2005; Ostrowska ve ark., 2001).

İ.p. olarak uygulanacak D vitamini ticari bir firmadan temin edilip uygulamadan hemen önce 5 mikrogram/kg günlük doz için 0,3 ml Tween 80'de çözdürülüp hazırlandı (Moghadamnia ve ark., 2015).

3.3.3. Örneklerin toplanması

2 haftalık adaptasyon süresi ile beraber toplam 10 haftalık deney süresi sonunda ratlar eter inhalasyonu ile uyutularak öncelikle kalplerinden alınan kan örnekleri 0,6 mg aprotinin (tripsinaz inhibitörü) içeren heparinli tüplere alındı. Kanları alınan denekler hemen ardından dekapite edilip epifiz bezleri çıkartıldı. Çıkarılan epifiz bezleri, 24-48 saat süreyle tespit edilmek üzere numaralandırılmış kasetler içerisinde %10'luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonuna alındı. Daha sonra alınan kan örnekleri 4°C'de, 1500 g'de 10 dakika santrifuj edilerek plazma kısımları ayrıldı. Her bir denekten elde edilen kan plazmaları yapılacak ölçümlerde kullanmak ve olası bir aksilikte yedek numune bulundurmak amacıyla 50 µl'lik hacimlerde olacak şekilde ependorf tüplere bölündü ve gruplara göre etiketlendi. Ependorf tüplere aktarılan plazma örnekleri -80°C'de analiz gününe kadar saklandı.

Şekil 26. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ratlara yapılan i.p. enjeksiyon.

Tablo 5. D vitamini fakir rat yemi içeriği.

Madde Adı	**Miktarı**
Ham protein	20 (%)
Ham selüloz	5,2 (%)
Ham yağ	2,7 (%)
Kalsiyum	0,9 (%)
Fosfor	0,6 (%)
Sodyum	0,14 (%)
Lizin	0,95 (%)
Metiyonin	0,4 (%)
Sistein	0,26 (%)
A vitamini	24000 (IU/kg)
D vitamini	Eser
E vitamini	300 (IU/kg)
K vitamini	30 (IU/kg)
B1 vitamini	20 (IU/kg)
B2 vitamini	20 (IU/kg)
B6 vitamini	12 (IU/kg)
B12 vitamini	100 (mcg/kg)
Nikotinik asit	100 (mg/kg)
Pantotenik asit	41 (mg/kg)
Biotin	6,3 (mg/kg)
Kolin	1000 (mg/kg)

3.3.4. Melatonin ve serotoninin plazma konsantrasyonlarının ELISA yöntemiyle ölçülmesi

Kan analizlerine başlanmadan bir gün önce -80°C'de saklanan kan örneklerinden kullanılacak olanlar +4°C buzdolabına alınıp çözünmesi sağlandı. Plazma numunelerinde melatonin ve serotonin konsantrasyonları ticari ELISA kitleriyle belirlendi. Bu ELISA mikropleytleri daha önceden serotonin veya melatonin ile kaplanmıştır. Mikropleytlerin uygun kuyucuklarına standartlar ve plazma örnekleri

kitte yazılan miktar baz alınarak konuldu. Her kuyuya 50µL Biotinlenmiş Detection Ab çalışma solüsyonu eklendikten sonra 37°C'de 30-45 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda mikropleyt kuyucukları aspire edilerek, 3 kez yıkama solüyonu ile yıkandı. Daha sonra 100µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenip, 37°C'de 30 dakika süre ile inkübe edildi. Mikropileyt tekrar aspire edildikten sonra 5 kez tekrar yıkandı. 50 µL stop solüsyonu konulduktan sonra hemen 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu cihaz ile konsantrasyonlar ölçüldü.

3.3.5. 25(OH)D ölçümü

D vitamininin alınması ya da üretilmesi fark etmeksizin her iki formu da (D2 ve D3) karaciğer tarafından 25(OH)vitamin D'ye metabolize edilmektedir ve sonra böbrekte 1,25-dihidroksivitamin D'ye çevrilmektedir D vitamini metabolitleri, vücuttaki bir taşıyıcı proteine bağlanır (D vitamini bağlayan protein/DBP). Daha sonra plazma ve tüm vücuda dağılır. D vitamininin vücuttaki durumunun en güvenilir klinik göstergesi 25(OH)D vitaminidir, çünkü plazma 25(OH)D vitamini seviyeleri vücudun D vitamini depolama seviyelerini yansıtmaktadır ve ayrıca D vitamini eksikliğinin klinik semptomlarıyla ilişkilidir (Hollis, Wagner, Drezner, & Binkley, 2007). Bundan dolayı, D vitamini seviyelerini değerlendirmek için ölçülecek parametremiz 25(OH)D vitaminidir.

Ratlarda yapılacak olan 25(OH)D ölçümü için özel bir laboratuvardan hizmet satın alındı ve ölçümler otoanalizatör aracılığıyla ticaret kit kullanılarak yapıldı.

3.3.6. Histolojik prosedür

Deney sonrasında, hayvanların dekapite edilmesini takiben hızlıca toplanıp numaralandırılmış kasetler içerisinde %10'luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonuna alınarak 24-48 saat tespit edilen epifiz bezleri artan alkol derecelerinden (%50, 70, 80, 90, absolüt) , ksilol ve parafin serisinden geçirilerek doku blokajları yapıldı. Parafine gömülen dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve elde edilen kesitlere, yapısal özelliklerin tespit edilebilmesi için Mallory'nin Crossmonn tarafından modifiye edilen üçlü boyama yöntemi (Crossmon, 1937) immunohistokimyasal boyama tekniği uygulandı.

3.3.7. İmmunohistokimyasal prosedür

Parafin bloklardan yarı otomatik mikrotomla 5 µm kalınlığında (Leica RM 2155, U.S.A.) kesitler % 30' luk lizinle hazırlanmış, lizinli lamlara çekildi. Doku

kesitlerine spesifik antikorlar ile indirekt Streptavidin-Biotin Peroksidaz immunohistokimyasal yöntem uygulandı ve ışık mikroskobunda incelendi. Deparafinizasyon ve rehidrasyon aşamalarından geçirilip sitrat buffer ile (pH 6,0, 10x, Antigen Retriever, cat no C9999-1000ML) antijen retriavel aşaması sonrası antijenler açığa çıkarıldı. H2O2 yardımı ile (distile su: 64 ml, %3'lük hidrojen peroksit: 6 ml) endojen peroksit aktivitesi giderildi. Anti-Vitamin D Receptor/VDR Antibody (Novus/NBP2-98841 1:300 dilüsyon) ile dokularda ki VDR ekspresyonu, TPH1 Polyclonal Antibody (Affinty/DF6465 1:200 dilüsyon) ile Triptofan hidroksilaz 1 ekspresyonu, TPH2 Polyclonal Antibody (Affinty/DF8732 1:200 dilüsyon) ile ise Triptofan hidroksilaz 2 ekspresyonu belirlendi. Primer antikorlarla +4°C'de 1 gece bekledikten sonra dokulara sekonder antikor (Vector Laboratory İmmPRESS anti rabbit Ig Peroksidaz) ile muamele edildi. İmmunohistokimsayasal değerlendirmenin yapılacağı kesitlerde görüntüleme için DAB substrat-kromojen solüsyonu (Thermo/34002) kullanılırken zıt boyama için Harris hemotoksilen kullanıldı. Son olarak artan alkol serilerinden geçirilen kesitler, ksilol ile parlatma aşamasından sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskobunda incelendi.

3.3.8. Verilerin değerlendirilmesi

İmmunohistokimyasal olarak VDR ekspresyonu, Triptofan hidroksilaz 1 ekspresyonu ve Triptofan hidroksilaz 2 ekspresyonu, DAB substrat-kromojen immunohistokimyasal görüntüleme tekniği ile, yine DAB substrat-kromojen tekniğinin çalışma prensibine uygun olarak varlığını gösteren ekspresyonların ayrı ayrı boyanma miktar ve şiddetleri iki bağımsız gözlemci tarafından değerlendirilerek istatistiksel olarak raporlandı. Kontrol ve Deney grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları belirmek için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılarak, VDR ekspresyonu, Triptofan hidroksilaz 1 ekspresyonu ve Triptofan hidroksilaz 2 ekspresyonları, ekspresyon şiddeti bakımından incelendi. İki grup arasındaki istatistiksel anlamlılık için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. (Güven aralığı; $P<0,5$, $P<0,001$). Araştırmanın istatistiksel analizi SPSS 23.0 (Statistical Package For Social Sciences) kullanılarak gerçekleştirildi.

Kan plazmasından bakılan D vitamini, serotonin ve melatonin sonuçlarının istatistiği ANOVA (Çoklu karşılaştırılmalı; Duncan testi) analizi kullanılarak gerçekleştirildi.

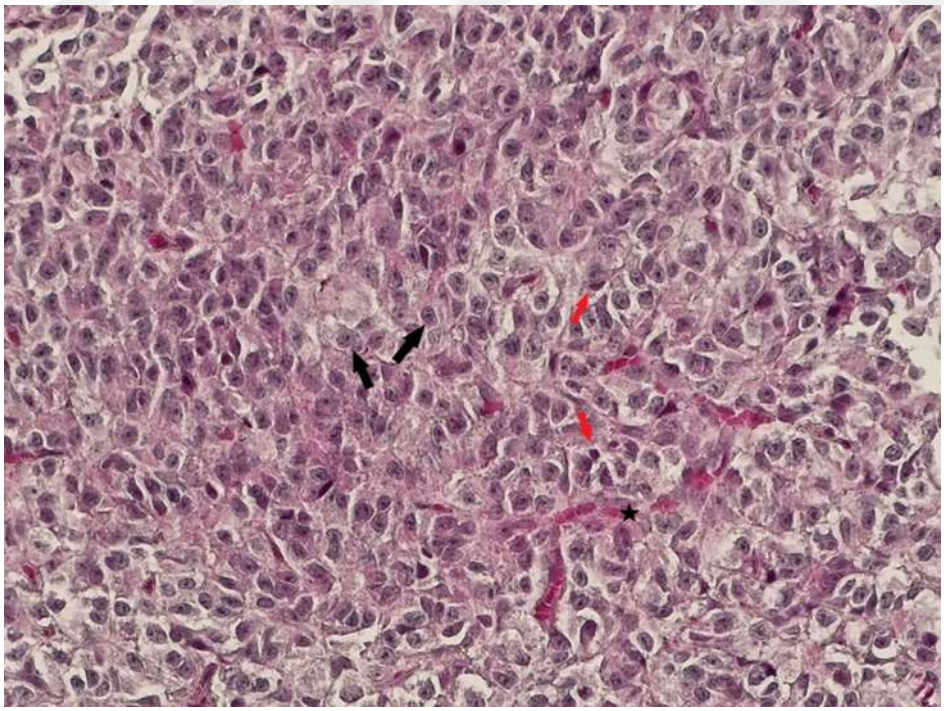
4. BULGULAR

Bu çalışmaya 40 adet rat ile başlanmıştır ancak melatonin grubundan 1 adet ratın deneyden bağımsız bir hastalıktan ölmesi nedeniyle çalışma dışı bırakılması sonucu deney 39 adet rat ile tamamlanmıştır. Geriye kalan 39 adet ratın epifiz bezleri immunohistokimyasal çalışmada kullanılmıştır ancak biyokimyasal çalışma için gerekli olan kanların alımı sırasında yaşanan aksilikler ve bazı kanların hemolizi sonucu kontrol grubundan 2 adet rat, Dvit(-) grubundan 3 adet rat ve melatonin grubundan ölen rat ile birlikte toplamda 4 adet ratın kan örnekleri hem ELISA çalışmasında hem de otoanalizatör cihaz aracılığıyla ticari kit kullanılarak bakılacak D vitamini ölçümünde kullanılamamıştır. Sonuç olarak kan plazmasından ELISA yöntemiyle bakılacak olan hormonlar ve D vitamini ölçümü için toplamda 31 adet rat kanı incelenmiştir.

4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.1.1. Epifiz bezinin histolojik görüntüsü

Kontrol grubundan elde edilen rat epifiz bezinin histolojik görüntüsü Şekil 27'de gösterilmektedir.

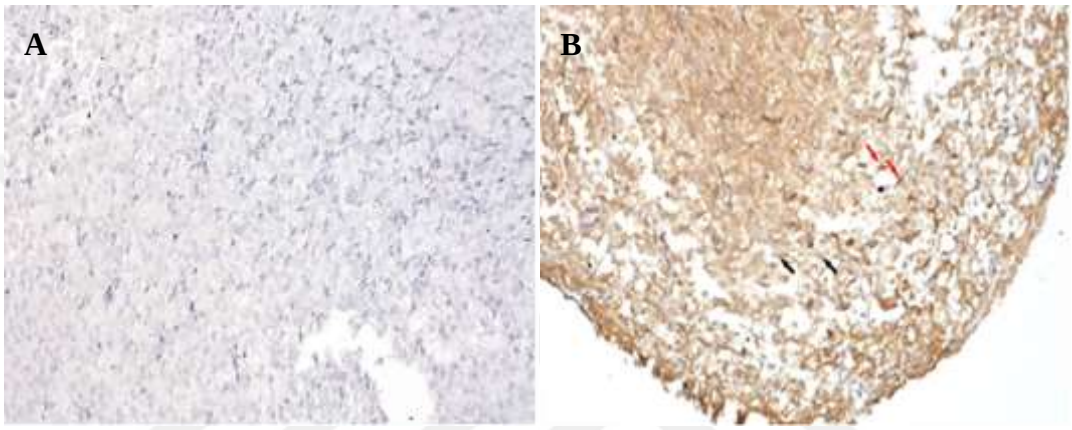


Şekil 27. Epifiz bezi genel görünüm. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri, yılız: kapiller) Bar:100µm. (kontrol grubu)

4.1.2. İmmunuhistokimyasal olarak epifiz bezinde VDR ekspresyonu bulguları

4.1.2.1. Kontrol grubu bulguları

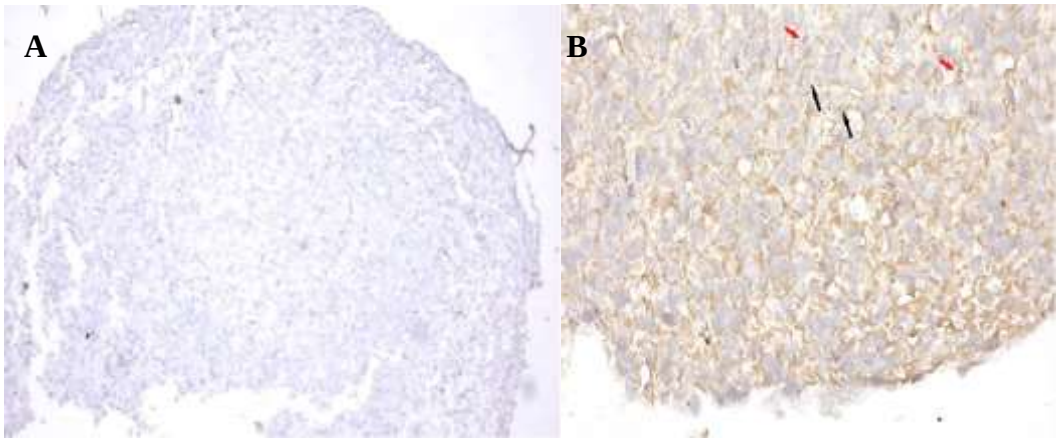
Epifiz bezinde VDR varlığı ilk defa immunohistokimyasal olarak gösterildi (Şekil 28).



Şekil 28. Epifiz bezinde VDR ekspresyonu. **A.** Negatif kontrol grubu **B**. Kontrol grubu VDR ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.2.2. D vit (+) grubu bulguları

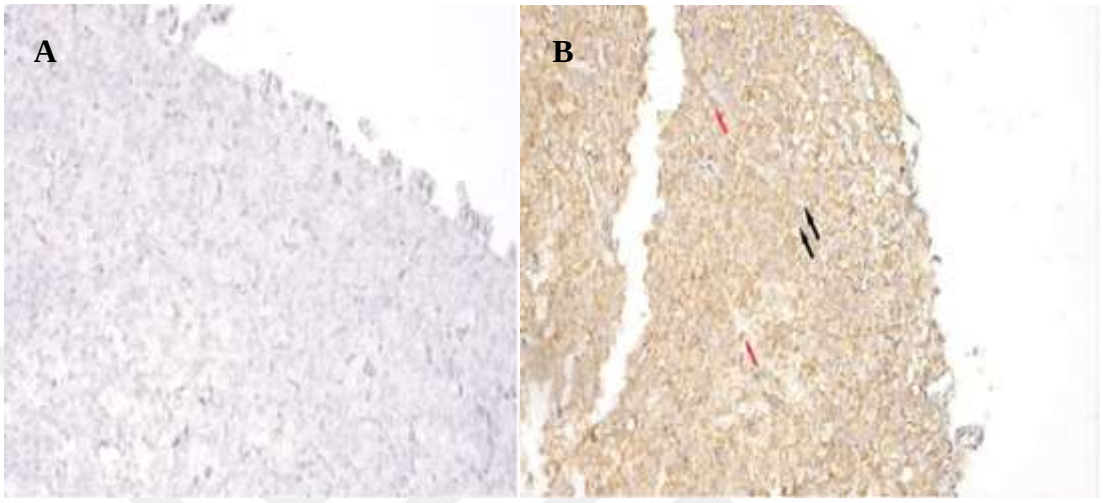
D vit (+) grubunda VDR ekspresyon şiddeti bakımından kontrol grubuna kıyasla artış gözlemlendi (Şekil 29).



Şekil 29. Epifiz bezinde VDR ekspresyonu **A:** D vit (+) grubu negatif kontrol. **B:** D vit (+) grubunda VDR ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.2.3. D vit (-) grubu bulguları

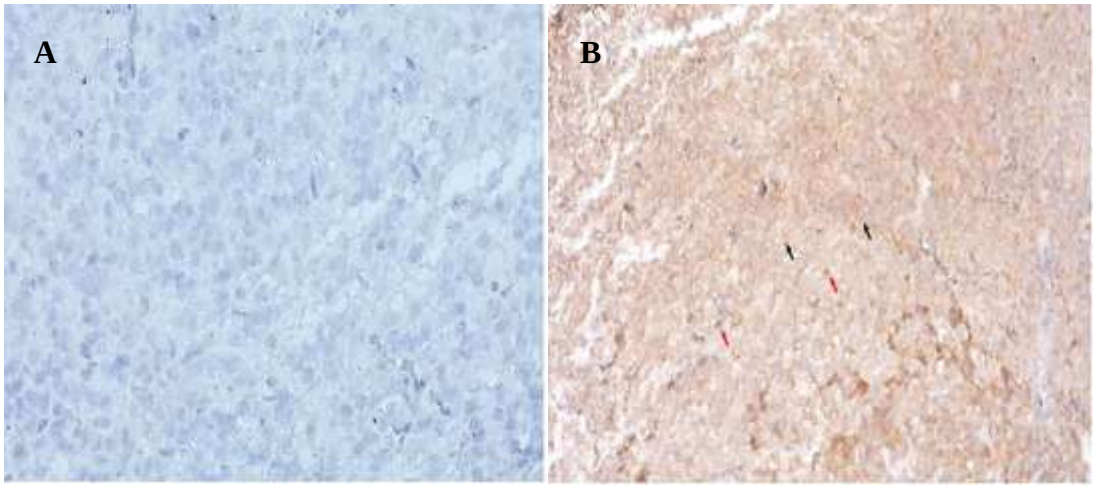
Kontrol grubu ve D vit (-) grubu arasında VDR ekspresyon şiddeti bakımından istatiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (Şekil 30).



Şekil 30. Epifiz bezinde VDR ekspresyonu **A:** D vit (-) grubu negatif kontrol. **B:** D vit (-) grubunda VDR ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.2.4. Melatonin Grubu Bulguları

Melatonin grubunda kontrol grubuna kıyasla VDR ekspresyon şiddetinin istatiksel açıdan anlamlı derecede arttığı gözlemlendi (Şekil 31).

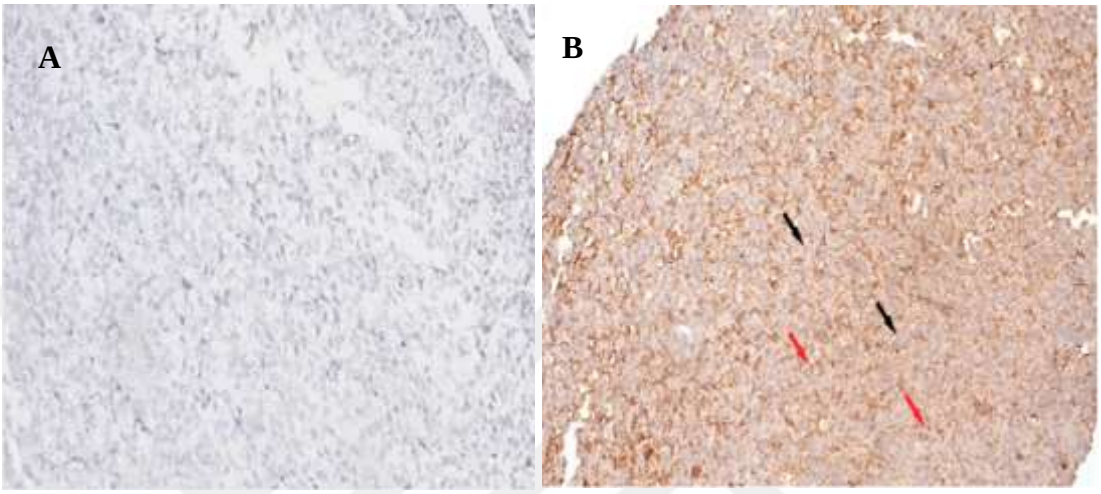


Şekil 31. Epifiz bezinde VDR ekspresyonu **A:** Melatonin grubu negatif kontrol. **B:** Melatonin grubunda VDR ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.3. İmmunuhistokimyasal olarak epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu bulguları

4.1.3.1. Kontrol grubu bulguları

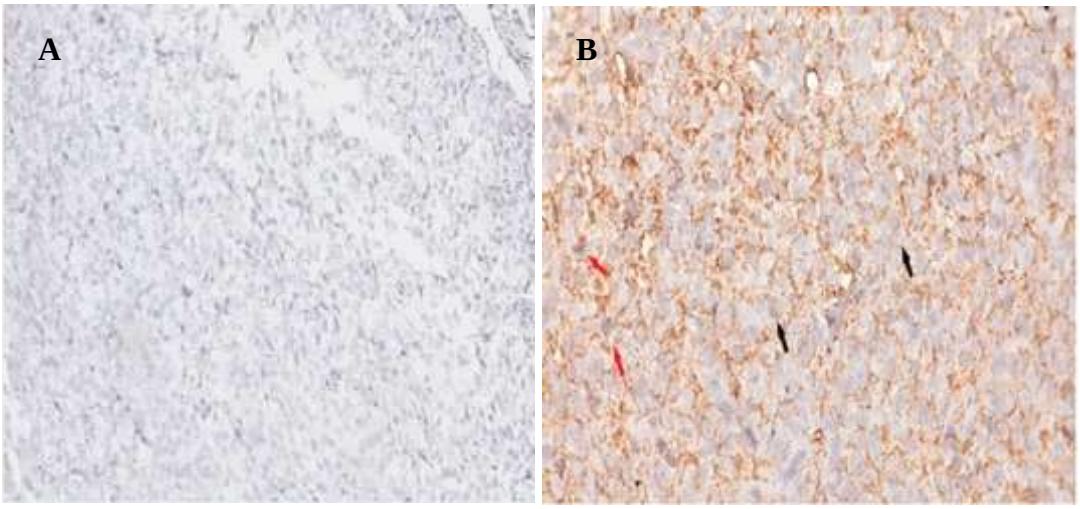
İmmunohistokimyasal olarak kontrol grubuna ait TPH1 ekspresyon şiddeti Şekil 32'de gösterilmektedir.



Şekil 32. Epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu **A:** Negatif kontrol grubu. **B:** Kontrol grubunda TPH1 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.3.2. D vit (+) grubu bulguları

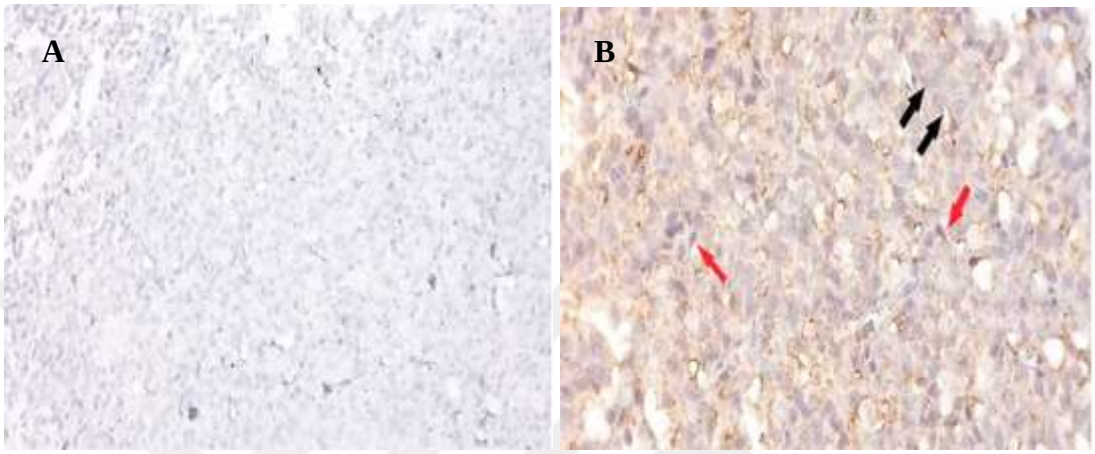
TPH1 ekspresyon şiddeti, D vit (+) grubunda kontrol grubuna kıyasla istatiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı Şekil 33'te gösterilmektedir.



Şekil 33. Epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu **A:** D vit (+) grubu, negatif kontrol. **B:** D vit (+) grubunda TPH1 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.3.3. D vit (-) grubu bulguları

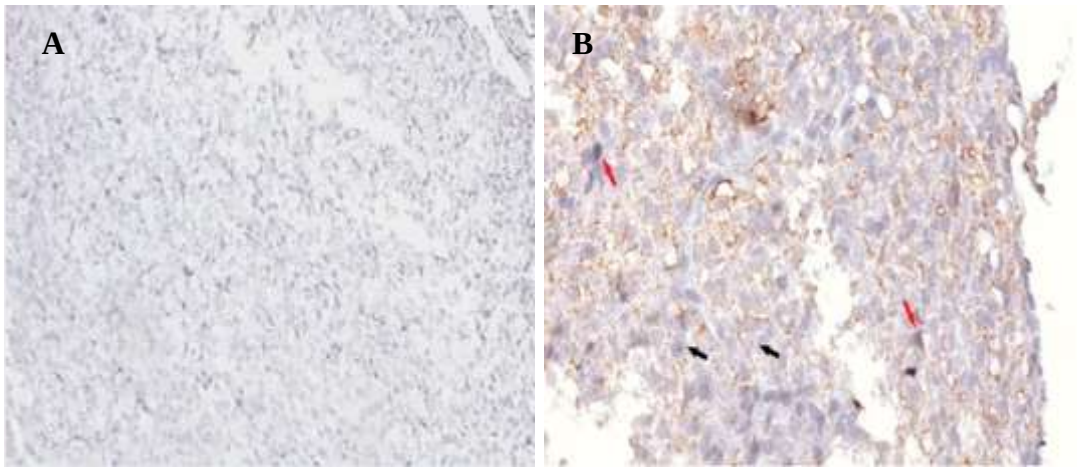
TPH1 ekspresyon şiddeti, D vit (-) grubunda kontrol grubuna kıyasla istatiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı Şekil 34'te gösterilmektedir.



Şekil 34. Epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu **A:** D vit (-) grubu, negatif kontrol. **B:** D vit (-) grubunda TPH1 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.3.4. Melatonin grubu bulguları

Melatonin grubu TPH1 ekspresyon şiddeti, tüm gruplar içinde en düşük seviyede olduğu gözlemlendi (Şekil 35).

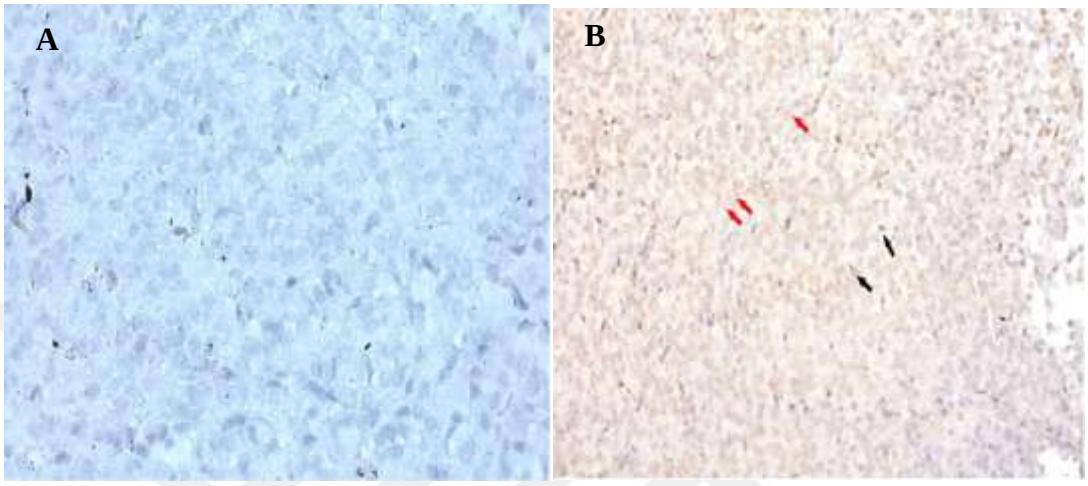


Şekil 35. Epifiz bezinde TPH1 ekspresyonu **A:** Melatonin grubu, negatif kontrol. **B:** Melatonin grubunda TPH1 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.4. İmmunuhistokimyasal olarak epifiz bezinde TPH2 ekspresyonu bulguları

4.1.4.1. Kontrol grubu bulguları

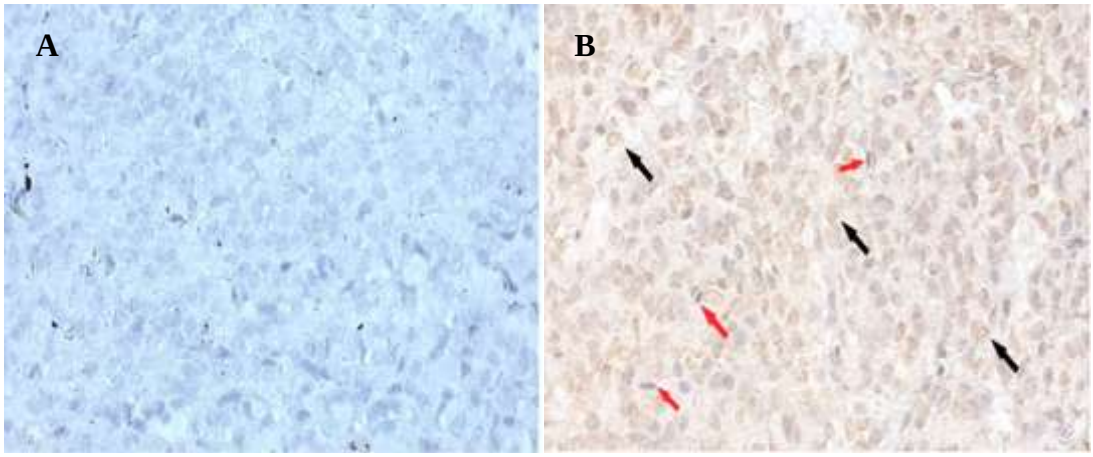
İmmunohistokimyasal olarak kontrol grubuna ait TPH2 ekspresyon şiddeti Şekil 36'da gösterilmektedir.



Şekil 36. Epifiz bezinde TPH2 ekspresyonu **A:** Negatif kontrol. **B:** Kontrol grubunda TPH2 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.4.2. D vit (+) grubu bulguları

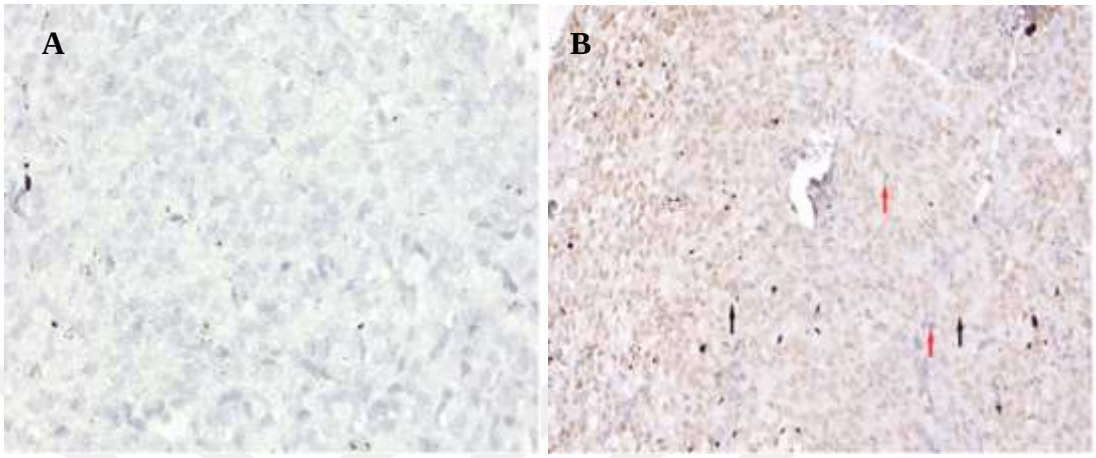
TPH2 ekspresyon şiddeti, D vit (+) grubunda kontrol grubuna kıyasla istatiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı Şekil 37'de gösterilmektedir.



Şekil 37. Epifiz bezinde TPH2 ekspresyonu **A:** D vit (+) grubu negatif kontrol. **B:** D vit (+) grubunda TPH2 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.4.3. D vit (-) grubu bulguları

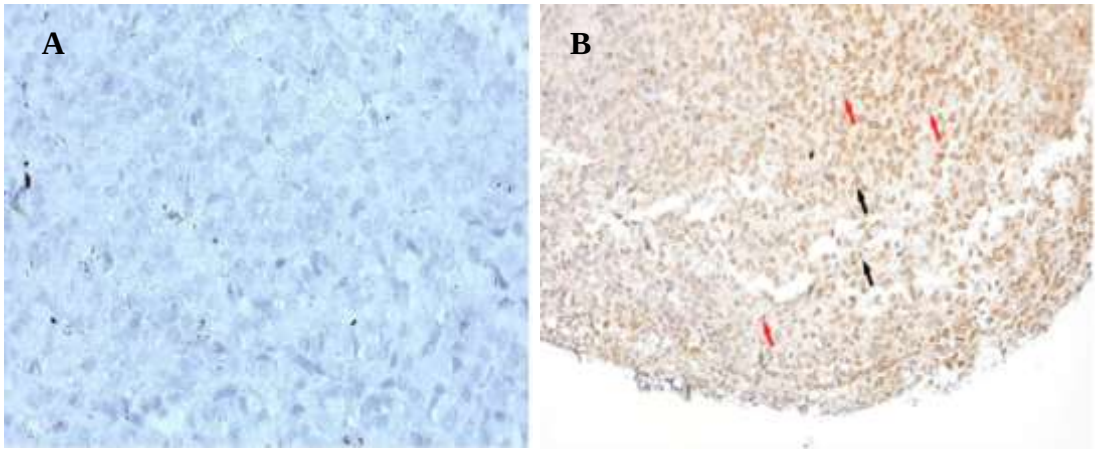
D vit (-) grubu TPH2 ekspresyon şiddeti, tüm gruplar içinde en düşük seviyede olduğu gözlemlendi (Şekil 38).



Şekil 38. Epifiz bezinde TPH2 ekspresyonu **A:** D vit (-) grubu negatif kontrol. **B:** D vit (-) grubunda TPH2 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.4.4. Melatonin grubu bulguları

TPH2 ekspresyon şiddeti, melatonin grubunda kontrol grubuna kıyasla istatiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı Şekil 39'da gösterilmektedir.



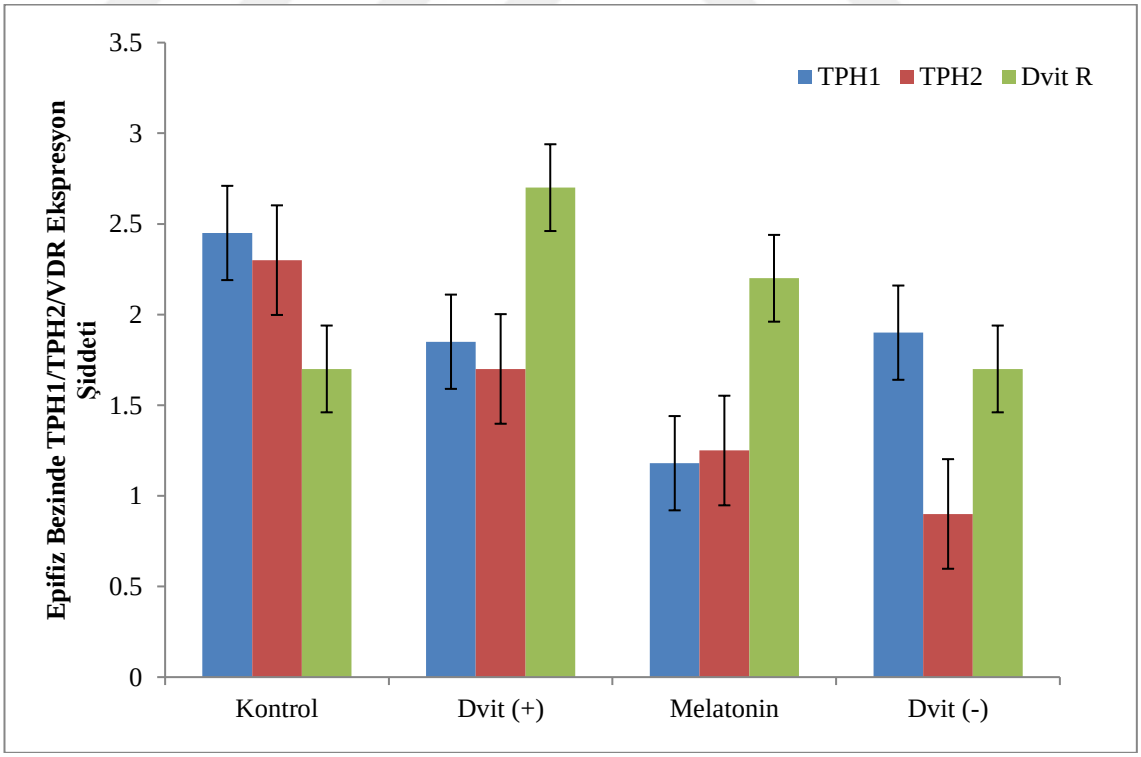
Şekil 39. Epifiz bezinde TPH2 ekspresyonu **A:** Melatonin grubu negatif kontrol. **B:** Melatonin grubunda TPH2 ekspresyonu. (Siyah ok: pinealositler, Kırmızı ok: glial hücreleri) Bar: 50 µm

4.1.5. İmmunohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi

Ratların epifiz bezinden elde edilen TPH1, TPH2 ve VDR ekspresyon şiddeti bulgularının istatiksel olarak gruplara göre kıyaslaması Tablo 6'da özetlendi. Ayrıca elde edilen bu bulgular grafik üzerinde Şekil 40'ta gösterildi.

Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarında TPH1, TPH2 ve VDR'nin ekspresyon şiddetleri. (Aynı sütunda farklı harfler gruplar arasında istatistiki önem arz eder)

Gruplar	N	TPH1 Ortalama Ekspresyon Şiddeti (±SE)	TPH2 Ortalama Ekspresyon Şiddeti (±SE)	VDR Ortalama Ekspresyon Şiddeti (±SE)	**P**
Kontrol	10	2,45±0,16^{a}	2,30±0,16^{a}	1,70±0,26^{a}	**0,001**; 0,05***
Dvit (+)	10	1,85±0,11^{b}	1,70±0,15^{ab}	2,70±0,15^{b}	**0,001**; 0,05***
Melatonin	9	1,18±0,09^{c}	1,25±0,17^{b}	2,20±0,25^{ab}	**0,001**; 0,05***
Dvit (-)	10	1,90±0,24^{ab}	0,90±0,10^{cb}	1,70±0,15^{a}	**0,001**; 0,05***



Şekil 40. Kontrol ve deney gruplarında TPH1, TPH2 ve VDR'nin ekspresyon şiddetleri.

Epifiz bezinde gruplar arasında yapılan ekspresyon şiddeti skorlaması (0 ile 3 arasında) sonucunda elde edilen istatistiki verilere göre;

Kontrol grubu için; hem TPH1 hem THP 2 hem de VDR ekspresyon şiddetleri orta ile güçlü ekspresyon şiddeti olarak belirlendi. Kontrol grubunda en yüksek TPH1'in ekspresyonu belirlenmiş olmasına rağmen TPH1 ve TPH2 arasında istatistiki bir fark görülmedi. Kontrol grubunda en düşük D vitamini reseptörünün ekspresyonu belirlenirken TPH1 ve VDR ekspresyonları arasında anlamlı bir istatistiki fark tespit edildi ($p<0,05$, $p<0,001$) (Şekil 40, Tablo6).

Dvit (+) grubunda beklendiği şekilde en yüksek ekspresyon şiddeti VDR'de görüldü. ($p<0,05$*). TPH1 ve TPH2 ekspresyon şiddetleri kendi arasında anlamlı bir ekspreyon farkı göstermese de, bu gruplarda orta şiddete yakın ekspresyon yoğunluğu belirlendi.

Melatonin grubunda TPH1'in ekspresyonu, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. ($p<0,001$). Bu grupta TPH1 ve TPH2 ekspresyonlarının her ikiside zayıf olarak görülmüş ve TPH1/ TPH2 arasında istatistiki bir fark belirlenmemiştir. Melatonin grubunda en yüksek ekspresyon şiddeti VDR'de belirlenmiştir ($p<0,05$).

Dvit(-) grubunda dramatik olarak en düşük ekspresyon şiddeti TPH2 üzerinde gözlenmiştir ($p<0,05$). Ancak Dvit(-) grubunda hem TPH1 hem de VDR ekspresyonlarının orta şiddete yakın eksprese olması dikkat çekmiştir.

TPH1'in melatonin sentezindeki aktif rolü düşünüldüğünde dışarıdan verilen bir melatonin takviyesinin salgı ve sentez mekanizmasında olumsuz bir etki yarattığı düşünülmektedir.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 7. Biyokimyasal verilerin grup ortalaması.

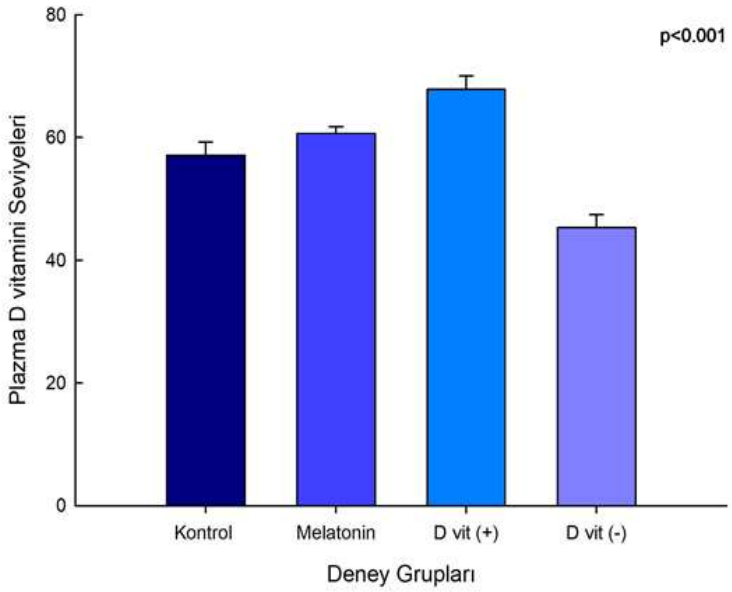
	Grup	Arit. Ort.	SE	p
Serotonin	Kontrol	31,98 [a] ng/ml	0,65	<0,001
	Melatonin	27,81 [b] ng/ml	1,20	
	Dvit(+)	34,19 [a] ng/ml	1,66	
	Dvit(-)	23,38 [c] ng/ml	0,71	
D Vitamini	Kontrol	57,15 [b] ng/ml	2,10	<0,001
	Melatonin	60,73 [b] ng/ml	1,03	
	Dvit(+)	67,91 [a] ng/ml	2,15	
	Dvit(-)	45,40 [c] ng/ml	2,02	
Melatonin	Kontrol	21,80 [b] pg/ml	1,00	0,005
	Melatonin	24,42 [ab] pg/ml	0,83	
	Dvit(+)	26,35 [a] pg/ml	0,98	
	Dvit(-)	23,17 [b] pg/ml	0,59	

ANOVA (Çoklu karşılaştırmalı; Duncan testi)

4.2.1. Biyokimyasal bulguların değerlendirilmesi

4.2.1.1. Plazma D Vitamini seviyeleri

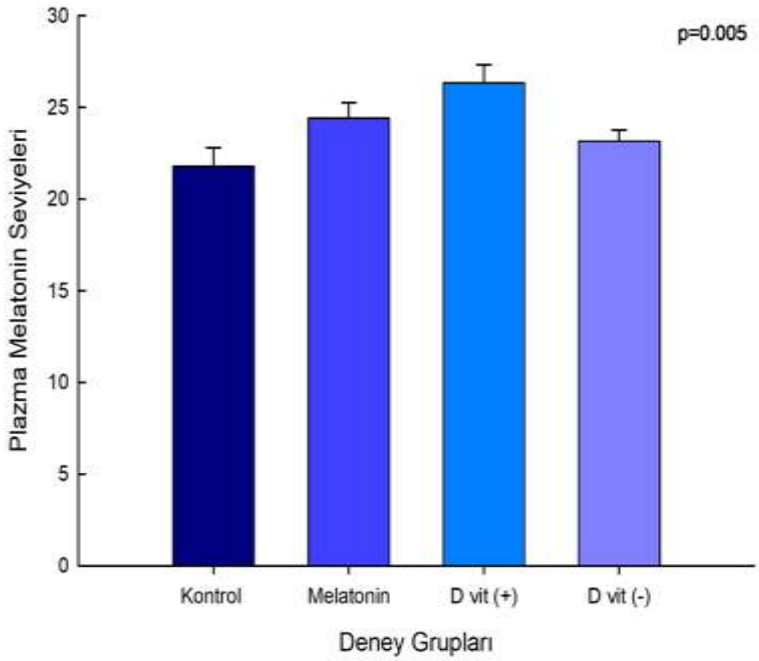
Plazma D vitamin konsantrasyonlarının en yüksek seyrettiği grup D vit (+) grup olup diğer tüm gruplara göre istatistiki bir anlama sahiptir ($p<0.001$) (Şekil 41). Melatonin verilen gruptaki D vitamini seviyeleri, kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde bulunmasına rağmen aralarında istatistiki bir önem görülmemiştir, ancak melatonin verilen grubun D vitamini seviyeleri D vit (+) gruba göre düşük; D vit (-) grubuna göre de yüksek seviyelerde olduğu istatistiki olarak önemlidir ($p<0.001$). D vitamini seviyelerinin en düşük seyrettiği grup ise D vit (-) grubu olup, diğer tüm gruplara göre istatistiki bir öneme sahiptir ($p<0.001$).



Şekil 41. Gruplara göre plazma D Vitamini seviyeleri

4.2.1.2. Plazma melatonin seviyeleri

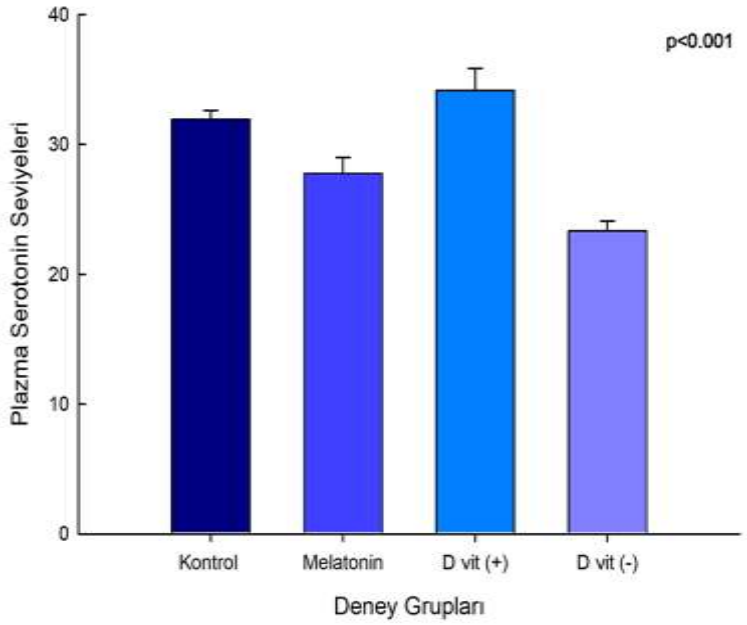
Plazma melatonin seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiki olarak en yüksek seviyelerde olduğu grup D vit (+) grubudur ($p<0.005$) (Şekil 42). Melatonin verilen grubun plazma melatonin seviyeleri D vit (+) gruptan sonra ikinci en yüksek değerlere sahip olmasına rağmen kontrol grubu ve D vit (-) grubuna göre istatistiki bir öneme sahip değildir. Plazma melatonin seviyeleri kontrol grubunda istatistiki olarak en düşük seyrettiği gruptur ($p<0.005$). D vit (-) gurubundaki melatonin düzeyleri kontrol grubuna göre hafif yüksek olmasıyla birlikte istatistiki olarak bir önem bulunmamıştır.



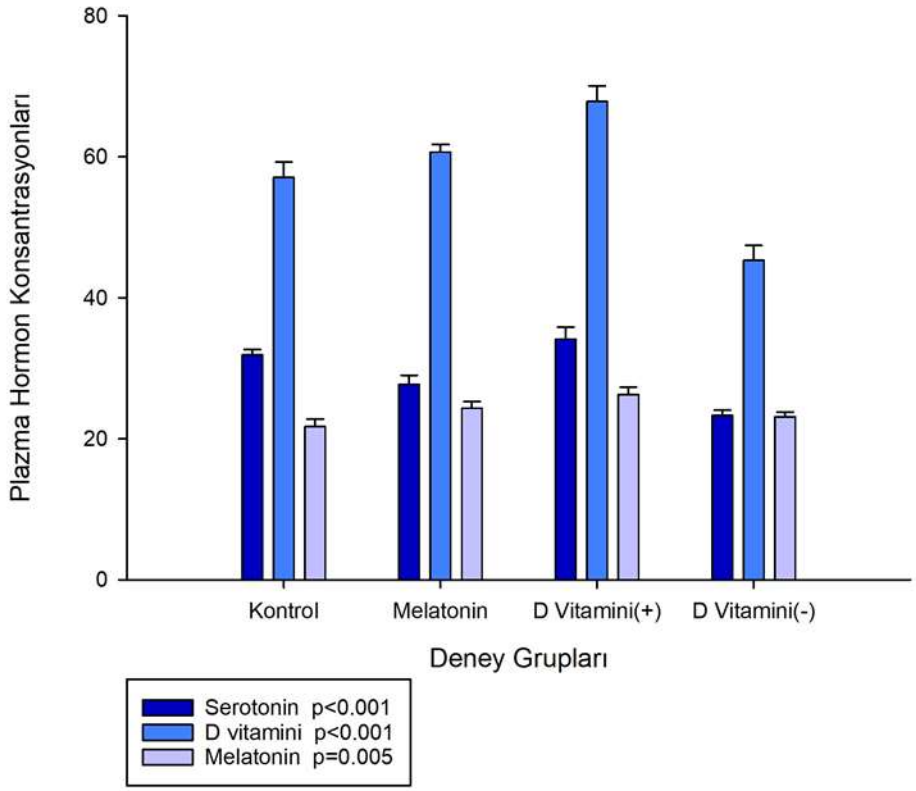
Şekil 42. Gruplara göre plazma melatonin seviyeleri

4.2.1.3. Plazma serotonin seviyeleri

Plazma serotonin seviyelerinin en yüksek olduğu grup D vit (+) grubunda gözlenmiştir ancak kontrol grubuna göre bu seviyeler istatistiki olarak anlamlı değilken, melatonin verilen ve D vit (-) gruba göre istatistiki düzeyde bir önem ile yükselme göstermiştir ($p<0.001$). Serotonin seviyelerinin en düşün değerlerde olduğu grup ise D vit (-) grubudur ve diğer tüm gruplara göre istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.001$).



Şekil 43. Gruplara göre plazma serotonin seviyeleri.



Şekil 44: Gruplara göre plazma hormon konsantrasyonları.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sprague-Dawley erkek ratlarda öncelikle epifiz bezinde D vitamini reseptörünün (VDR) varlığını incelediğimiz bu çalışmada, yapılan immünohistokimyasal boyamalar sonucunda epifiz bezinde ilk defa VDR varlığı gösterilmiştir. Gruplara göre VDR ekspresyon şiddeti kontrol grubu (1,70±0,26) ve D vitamini eksik beslenenlerde (1,70±0,15) yaklaşık aynı olduğu tespit edilirken, D vitamini verilen grup (2,70±0,15) ile melatonin verilen grupta (2,20±0,25) VDR ekspresyon şiddetinin kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Elde edilen bu veriler oldukça değerlidir. Taniura ve ark., 2006'da yaptıkları bir çalışmada VDR bağlanma bölgeleri için etiketli problar kullanan elektroforetik mobilite değişim deneyi, neokorteks, hipokampus, hipotalamus, striatum, orta beyin, serebellum ve medulla-pons bölgelerinde bağlanma yerleri olduğunu göstermişlerdir. Aynı grup ayrıca in situ hibridizasyon gerçekleştirmiş ve "fare beyninde yaygın tespit, ancak özellikle hipokampus ve serebellar kortekste bol miktarda VDR mRNA yönünden boyanmış hücreler" bulmuştur. İnsanlarda da beyinde benzer bir VDR ve 1,α-hidroksilaz ekspresyon paterni bulunmuştur; en yüksek boyama prefrontal korteks, singulat girus, hipokampus, kaudat/putamen, substantia nigra, hipotalamus ve serebellumda gözlemlenmiştir (Eyles ve ark., 2005). Son zamanlarda yapılan bir çalışma olarak Fang ve ark. 2020'de serebral korteks, amigdala, orta beyin ve hipotalamusta benzer VDR ekspresyonlarını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmalar vitamin D reseptörünün beynin çoğu bölgesinde var olduğunu göstermiştir. Ancak epifiz bezinde vitamin D reseptörü varlığını gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir. Yaptığımız bu çalışmada, epifiz bezi pinealositlerdeki VDR ekspresyonu, kontrol grubu dahil tüm gruplarda görülmüştür ve bu sonuç epifiz bezinde VDR varlığını gösteren bir kanıttır. D vitamini verilen gruptaki pinealositlerin VDR immunoreaktivite şiddetinin diğer gruplara göre en yüksek seviyede bulunmuş olması, dışarıdan verilen vitamin D'nin bu bölgedeki yoğunluğunun artması ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca yaptığımız çalışmada melatonin verilen grupta bulunan ratların pinealositlerindeki VDR immunoreaktivitesin kontrol ve eksik D vitamini grubuna göre istatistiki anlamda yüksek olması, melatonin varlığında VDR konsantrasyonlarının yükseldiğini gösteren ve "VDR'nin yeni bir

melatonin bağlanan nükleer reseptörü" tezini öne süren son çalışmaları (Fang ve ark., 2020) doğrulamaktadır.

TPH izoformları hakkında bugüne kadar bilinen bilgilere göre, TPH1 epifiz bezi ve periferik organlarda bulunurken, TPH2 ise epfizi bezi haricinde beyinin diğer bölgelerinde bulunmaktadır (Patel, Pontrello, & Burke, 2004). Ancak yapılan bir çalışmada epifiz bezinde hem TPH1 mRNA'sı hem de TPH2 mRNA'sı olduğu tespit edilmiş ancak TPH2 mRNA'sının eser miktarda olduğu rapor edilmiştir. Epifiz bezinde tespit edilen bu eser miktarda ki TPH2 mRNA'sının kaynağının pinealositler değil de glial hücreler olabileceği düşünülmüştür (Sugden, 2003). Yaptığımız çalışmada, ilk defa epifiz bezi hücreleri olan pinealositlerde TPH2 varlığını immunuhistokimyasal olarak göstermiş olduk. Ayrıca kontrol grubu bulgularına bakacak olursak ortalama TPH2 ekspresyon şiddeti neredeyse ortalama TPH1 ekspresyon şiddetine yakın olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz ortalama TPH1 ekspresyon şiddeti verilerine göre, kontrol grubu ortalama TPH1 ekspresyon şiddeti 2,45±0,16, D vit (+) grubu ortalama TPH1 ekspresyon şiddeti 1,85±0,11 ve D vit (-) grubu ortalama TPH1 ekspresyon şiddeti 1,90±0,24ab olarak belirlenmiştir. Ortalama TPH1 ekspresyon şiddeti açısından, D vit (+) grubunda kontrol grubuna kıyasla istatiksel açıdan anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Yaptığımız bu çalışma ile genel olarak D vitamininin TPH1 ekspresyonunu baskıladığı bilgisiyle (Patrick, & Ames, 2014) uyumlu sonuçlar elde ettik ve epifiz bezinde bu durum ilk defa tespit edildi. Ancak ortalama TPH1 ekspresyon şiddetleri D vit (-) grubunda da kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur. D vitamini eksikliğinin epifiz bezinde TPH1 ekspresyonları üzerine olan bu etkisi de ilk defa bizim tarafımızdan gösterilmiş olup oldukça ilgi çekicidir.

Çalışmada elde ettiğimiz ortalama TPH2 ekspresyon şiddetleri, kontrol grubu ortalama TPH2 ekspresyon şiddeti 2,30±0,16, D vit (+) grubu ortalama TPH2 ekspresyon şiddeti 1,70±0,15 ve D vit (-) grubu ortalama TPH2 ekspresyon şiddeti 0,90±0,10 olarak belirlenmiştir. D vitamininin epifiz bezindeki TPH2 ekspresyonu üzerine etkisi yine ilk defa tarafımızdan gösterilmiş oldu. Normalde D vitamininin TPH2 ekspresyonunu artırdığı bilinmektedir (Kaneko ve ark., 2015). Ancak biz yaptığımız çalışmada, kontrol grubu ortalama TPH2 ekspresyon şiddetine kıyasla D vit (+) grubu ortalama TPH2 ekspresyon şiddetinde bir azalma olduğunu gördük. D vit

(-) grubunda kontrol grubuna kıyasla azalmış TPH2 ekspresyon şiddeti bulgumuz ise genel olarak D vitamininin TPH2 ekspresyonlarını artırdığı bilgisiyle (Lucas ve ark., 2018) uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Plazma D vitamini konsantrasyonlarının en yüksek seyrettiği grup beklendiği üzere Dvit(+) grubudur ve daha sonra melatonin verilen grup bu yüksek seviyeleri takip etmektedir ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Melatonin verilen grubun D vitamini konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek olması, bu iki molekülün arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Stumpf W.E. (1988)'nin 1,25(OH)2 vitamin D3'ün etki alanlarına ilişkin histokimyasal çalışmalarında elde edilen bulgular, cilt-vitamini D ve göz-epifiz sistemlerinin genel önemini ve bu iki endokrin sistem arasındaki yakın ilişkileri ortaya koymaktadır. Her iki sistemin de ortak hedefleri olduğu görülmekte ve bu sistemlerin ilettikleri mesajlar biyolojik işlevlerin düzenlenmesinde ve modülasyonunda, güneş ışığı ile uyumlu bir şekilde, karşıt ya da tamamlayıcı etkiler gösterdiğini öne sürmektedir. Melatonin, vitamin D sinyalizasyonunu artırıyor gibi görünmektedir. Tek taraflı üreteral obstrüksiyon modeli sıçanlarda melatonin ile yapılan kronik tedavinin, VDR ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (Prado ve ark., 2018). Ayrıca in vitro çalışmalarda melatoninin insan meme kanseri hücrelerinde VDR'nin transkripsiyonel aktivitesini artırdığı da gösterilmiştir (Hill ve ark., 2011). Bizim yaptığımız çalışmada da melatonin verilen grupraki epifiz bezi D vitamini reseptörü ekspresyonunun arttığı bulgusu göz önüne alındığında, melatonin verilen grubun plazma D vitamini konsantrasyonlarının yüksek olması doğal olarak beklenmektedir. Ayrıca D vitamini verilen grupta da melatonin seviyeleri, kontrol grubuna göre istatistiki önemde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Çalışmanın başında da her iki doz grubunda (D vitamini verilen grupta plazma melatonin yüksekliği ile melatonin verilen grupta plazma D vitamini yüksekliği) aynı oranda etkilemesi beklenmiş ve sonuçlar da hipotezimize uygun olarak bu iki molekülün birbiri ile pozitif paralelde etkileşimde olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bizim çalışmamıza karşıt olarak D vitaminnin melatonin üzerinde negatif bir düzenleyici etkisi olabileceği de düşünülen bir çalışma mevcuttur. Golan ve meslektaşlarının yaptığı bir klinik çalışmada, yüksek doz vitamin D takviyesi alan multipl skleroz hastalarında melatoninin gece salınımının üç ay sonra azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak, serum 25(OH)D3 düzeylerindeki düşüş, melatonin

salınımında bir artış ile ilişkilendirilmiştir. Bu düzenleyici mekanizma, fazlalığı önlemek ve sistemin homeostazını artırmak için gerekli olabileceği kanısına varmışlardır. Bu çalışmanın gerçekleştirildiği süreler de bu moleküllerin salınımı üzerinde önem arz etmektedir, çünkü 3 ay boyunca kronik ve yüksek dozda bir D vitamini takviyesi, melatonin konsantrasyonlarının düşmesinde etkili olabilir. Çalışmamızda intraperitoneal olarak verilen hem D vitamini hem de melatonin dozları kg/canlı ağırlığa göre fizyolojik sınırlar içindedir ve bir hastalığı tedavi etmek amaçlanmamıştır. Bu fizyolojik durumlarda her iki molekülün birbirini indükleyerek plazmada yükselmeleri mümkündür. Çünkü son bir çalışmada (Fang ve ark., 2019), melatoninin VDR'ye doğrudan bağlandığı ve VDR'nin yeni bir melatonin bağlayıcı reseptör olduğu gösterilmiştir. Melatoninin bir vitamin D reseptörüne bağlanıyor olması, D vitamini ile arasında direkt bir ilişkiyi göstermektedir. Bununla beraber son zamanlarda yapılan çalışmalar; melatonin ve D vitamininin birlikte verilmesi, radyasyona maruz kalan kişileri koruma ajanları olarak değerlendirmede (Nuszkiewicz ve ark., 2020), melatonin ve D vitamininin adiposit-spesifik genlerin transkripsiyonu (ACOT2 ve LPL) yani bu kök hücrelerin kaderini belirlemedeki rolü ortaya konmasında (Basoli ve ark., 2017) ve D vitamini ve melatonin kombinasyonu kanser hücrelerinin büyümesini azaltmada rol oynaması ve uyku parametrelerini iyileştirdiğine dair güçlü kanıtların olmasında (Vitti-Ruela ve ark., 2021) bu iki molekülün birlikte çalıştığını gösteren açık ve net kanıtlardır.

D vit (-) grubu D vitamini konsantrasyonları beklenildiği üzere en düşük düzeylere sahiptir ve diğer tüm gruplara göre istatistiki olarak önem arz etmektedir ($p<0,001$). D vit (-) grubunun aynı zamanda melatonin konsantrasyonları da, kontrol grubu gibi en düşük düzeylerde gözlenmiştir ve D vit (+) grubu ile melatonin verilen gruba göre istatistiki önem mevcuttur ($p<0,005$). D vit (-) grubundaki bu plazma melatonin konsantrasyonlarının düşüklüğü, yine D vit (+) grubundaki melatonin yüksekliği ile doğru orantılıdır. D vitamini eksik beslenen ratların plazma melatonin konsantrasyonlarının düşmesi, yukarı açıklandığı üzere, bu iki molekülün birbirinden etkilendiğini ve birlikte çalıştığını gösteren bir kanıttır.

Bu çalışmada değerlendirilen diğer bir hormon olan plazma serotonin konsantrasyonlarının en yüksek seyrettiği grup D vit (+) gurubu olarak gözlenmiştir ($p<0,001$), ardından kontrol grubu, melatonin verilen grup ve en son D vit (-) grubu

olarak konsantrasyonlar sırasıyla düşmüştür. D vit (+) grubundaki serotonin yüksekliği, melatoninin plazma konsantrasyonlarına benzerdir. Serotonin (5-hidroksitriptofan, 5-HT), beyin sapının rafe çekirdeklerinde sentezlenen ve yiyecek alımının, uykunun ve ruh halinin merkezi kontrolünde rol oynayan bir nörotransmiterdir. Buna bağlı olarak, serotonin sisteminin işlev bozukluğu, psikiyatrik hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır. Ayrıca, serotonin melatonin için bir öncüdür ve bu nedenle epifiz bezinde yüksek miktarlarda sentezlenir (Walther, & Bader, 2003). Bu bilgilere dayanarak D vit (+) grubunun plazmadaki hem serotonin, hem de melatonin konsantrasyonlarının yükselmesi beklenilen bir bulgudur. Ayrıca D vit (-) grubuna ait plazma serotonin ve melatonin konsantrasyonlarının da düşük olması benzer şekilde aynı mekanizmaya dayanmaktadır. Triptofan hidroksilaz (TPH) enzimi, serotonin sentezindeki hız kısıtlayıcı adımı katalize eder. D vitamini ise beyinde TPH2 ekspresyonunu artırırken, periferik dokularda TPH1 ekspresyonunu baskılamaktadır (Patrick, & Ames, 2014). Ayrıca, D vitamini yalnızca TPH2 ekspresyonunu artırarak serotonin sentezini indüklemekle kalmayıp, aynı zamanda dolaylı olarak moleküler-genomik düzeyde seçici serotonin geri alım inhibitörlerini (SSRI) ve monoamin oksidaz inhibitörlerini (MAOI) taklit ederek merkezi sinir sisteminde serotonin seviyelerini artırır (Sabir ve ark., 2018). Bu veriler, çalışmamızda D vitamini verildiğinde plazma serotonin ve melatonin yükselmesini açıklamaktadır. Ancak bizim çalışmamızın immunohistokimyadsal sonuçlarında, ratların epifiz bezindeki TPH1 ve TPH2 ekspresyonunun baskılandığı gösterilmiştir. TPH1 ve TPH2 ekspresyonlarının epifiz bezinde baskılanması aslında plazma serotonin ve melatonin konsantrasyonlarının da azalmasına sebep olması beklenilmektedir. Bununla beraber, Grozic ve ark., (2022)'nın son çalışmasında bağırsağın kolon kısmından alınan örneklerde D vitamininin TPH1 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Dolayısıyla D vit (+) grubunun serotonin ve melatonin konsantrasyonlarındaki bu artış, bu peptidlerin plazma konsantrasyonlarındaki en büyük kaynağı olan bağırsaklardaki TPH1 enzim ekspresyonunun artışı ile yakından ilgili olduğunu göstermektedir. Epifiz bezindeki TPH1 ve TPH2 ekspresyonunun azalması belki de daha önce bahsettiğimiz gibi memelilerdeki serotoninin çoğu, başlıca olarak enterokromafin hücreleri tarafından üretilen bağırsakta bulunmasından ve kan trombositlerinde de depolanması ile ilgili olarak (Nichols, & Nichols, 2008) fazla salgılanma mekanizmasını durdurmak

amacına yönelik olabilir. Ayrıca epifiz bezindeki D vitamini ile serotonin arasındaki işleyiş tamamen farklı bir mekanizmaya dayanabilir. Buna en iyi örnek Romano ve arkadaşlarının çalışmasıdır, bu çalışmada D vitamini eksikliği, uyku bozuklukları ile ilişkilendirilmiş ve D vitamininin dolaylı veya direkt olarak melatonini etkileyebileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmada aslında D vitamininin beyinde melatonin ve serotonini indüklediğini ancak uyku düzenlemesinde rol alan birçok beyin bölgesinin olduğu belirtilmiştir (Romano ve ark., 2020). Anlaşılan epifiz bezindeki bu TPH1 ve TPH2 ekspresyonlarının baskılanmasının amacı yine başka amaçla olabilir. Bu durumun açıklanması için konu ile ilgili spesifik bir çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz tüm bu verilere göre, hipotezimizde ki amaca uygun olarak, epifiz bezinde ilk defa VDR varlığı gösterilmiştir. Ayrıca VDR ekspresyonu üzerine D vitamini ve melatonin etkise de ortaya konmuştur. Temel olarak epifiz bezinden TPH izoformları aracılığıyla salgılanan melatonin hormonunun uyku üzerinde etkili olduğu bilinmektedir ve hatta çoğu uyku bozukluğunda melatonin takviyeleri kullanılmaktadır. Ayrıca yaptığımız çalışmada ilk defa D vitaminin epifiz bezinde TPH izoformları üzerine olan etkilerini göstermiş olduk. Dolayasıyla, bugüne kadar mekanizmaları halen araştırılmaya devam eden D vitamini ve uyku bozuklukları arasındaki ilişikinin anlaşılmasında yeni bir katkı sağladığımızı düşünmekteyiz. Ayrıca epifiz bezinde oluşan kireçlenmenin (özellikle kalsiyum birikimi nedenli) birçok nörolojik hastalıkla olan ilişkisi hakkında her geçen gün giderek artan kanıtlar elde edilmekte ve önemi vurgulanmaktadır. Özellikle, genel olarak Alzheimer hastalarında epifiz bezinde yüksek oranda kireçlenme ve düşük melatonin seviyeleri tespit edilmektedir. Ayrıca epifiz bezi kireçlenmesinin altında yatan mekanizmalar halen tam olarak anlaşılamamıştır ve bu konuyla ilgili çeşitli teoriler bulunmaktadır. D vitamininin kalsiyum kanalları üzerine olan etkisinin bilinmesi ve epifiz bezinde bulduğumuz VDR'nin, ileride bu konunun aydınlatılmasına ışık tutacağını düşünmekteyiz. Tüm bunlara ek olarak, yaptığımız çalışmada D vitamini ve epifiz bezi arasında ortaya koyduğumuz ilişkiler sayesinde, D vitamini dengesizlikleri ile bağlantılı olan ruh hali bozuklukları ve pisikiyatrik hastalıkların artık daha iyi anlaşılabileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

Abbasi, M., Hashemipour, S., Hajmanuchehri, F., & Kazemifar, A.M. (2012). Is vitamin D deficiency associated with non specific musculoskeletal pain? Global Journal of Health Science, 5(1), 107-111.

Abir A. Alamro, Manal M. Al-Malky, Mohammed G.A. Ansari, Osama E. Amer, Abdullah M. Alnaami, Syed D. Hussain, Tlili A. Barhoumi, Amani A. Alghamdi, Samina H. Haq, Shaun Sabico, Nasser M. Al-Daghri. The effects of melatonin and vitamin D3 on the gene expression of BCl-2 and BAX in MCF-7 breast cancer cell line.

Achengli, Y.C., Coudert, A.E., Callebert, J., Geoffroy, V., Cote, F., Collet, C., & Vernejoul, M.C. (2012). Decreased osteoclastogenesis in serotonin-deficient mice. Proceeding of The National Academy of Sciences of The United States of America, 109(7), 2567-2572.

Acuna-Castroviejo, D., Martin, M., Macias, M., Escames, G., Leon, J., Khaldy, H., & Reiter, R.J. (2001). Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics. Journal of Pineal Research, 30, 65-74.

Ahmad, S.B., Ali, A., Bilal, M., Rashid, S.M., Wani, A.B., Bhat, R.R., & Rehman, M.U. (2023). Melatonin and Health: Insights of Melatonin Action, Biological Functions, and Associated Disorders. Cellular and Molecular Neurobiology, 43(6), 2437-2458.

Akbay, G.D. (2020). Sirkadiyen ritim ve obezite. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 5(2), 83-90.

Alam, M.N., Gong, H., Alam, T., Jaganath, R., McGinty, D., & Szymusiak, R. (2002). Sleep-waking discharge patterns of neurons recorded in the rat perifornical lateral hypothalamic area. The Journal of Physiology, 538(2), 619–631.

Albright, T.D., Jessell, T.M., Kandel, E.R., & Posner, M.I. (2000). Neural science: a century of progress and the mysteries that remain. Neuron, 25,1-55.

Aldegunde, M., Miguez, I., & Veira, J. (1985). Effects of pinealectomy on regional brain serotonin metabolism. The International Journal of Neuroscience, 26(1-2), 9-13.

Alexiuk, N.A., & Vriend, J. (1991). Effects of daily afternoon melatonin administration on monoamine accumulation in median eminence and striatum of ovariectomized hamsters receiving pargyline. Neuroendocrinology, 54(1), 55-61.

Al-Ghoul, W.M., Herman, M.D., & Dubocovich, M.L. (1998). Melatonin receptor subtype expression in human cerebellum. Neuroreport, 9(18), 4063-4068.

Allegra, M., Reiter, R.J., Tan, D.X., Gentile, C., Tesoriere, L., & Livrea, M.A. (2003). The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. Journal of Pineal Research, 34, 1-10.

Almeras, L., Eyles, D., Benech, P., Laffite, D., Villard, C., Patatian, A., … Feron, F. (2007). Developmental vitamin D deficiency alters brain protein expression in the adult rat: implications for neuropsychiatric disorders. Proteomics, 7(5), 769-780.

Andrisano, V., Bertucci, C., Battaglia, A., & Cavrini, V. (2000). Photostability of drugs: photodegradation of melatonin and its determination in commercial formulations. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 23, 15-23.

Anisimov, V.N., Popovich, I.G., Zabezhinski, M.A., Anisimov, S.V., Vesnushkin, G.M., & Vinogradova, I.A. (2006). Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. Biochimica et Biophysica Acta, 1757, 573-589.

Arendt, J., Skene, D.J., Middleton, B., Lockley, S.W., & Deacon, S. (1997). Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work, and blindness. Journal of Biological Rhythms, 12(6), 604–617.

Austin, M.C., & O'Donnell, S.M. (1999). Regional distribution and cellular expression of tryptophan hydroxylase messenger RNA in postmortem human brainstem and pineal gland. Journal of Neurochemistry, 72(5), 2065-2073.

Azekawa, T., Sano, A., Sei, H., & Morita, Y. (1991). Diurnal changes in pineal extracellular indoles of freely moving rats. Neuroscience Letter, 132(1), 93-96.

Baas, D., Prüfer, K., Ittel, M.E., Kuchler-Bopp, S., Labourdette, G., Sarlième, L.L., & Brachet, P. (2000). Rat oligodendrocytes express the vitamin D(3) receptor and respond to 1,25-dihydroxyvitamin D(3). Glia, 31(1), 59-68.

Bae, K., Jin, X., Maywood, E.S., Hastings, M.H., Reppert, S.M., & Weaver, D.R. (2001). Differential functions of mPer1, mPer2, and mPer3 in the SCN circadian clock. Neuron, 30(2), 525–536.

Baghdoyan, H.A., & Lydic, R. (2012). Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects. The neurochemistry of sleep and wakefulness (8. baskı) içinde (s.982-999). USA: Elsevier Yayınları.

Baghdoyan, H.A., & Lydic, R. (2012). Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects. Histamine (8. baskı) içinde (s.323-341). USA: Elsevier Yayınları.

Baghdoyan, H.A., & Lydic, R. (2012). Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects. Serotonin (8. Baskı) içinde (s.313-329). USA: Elsevier Yayınları.

Baksi, S.N., & Hughes, M.J. (1982). Chronic vitamin D deficiency in the weanling rat alters catecholamine metabolism in the cortex. Brain Research, 242(2), 387-390.

Balabanova, S., Richter, H.P., Antoniadis, G., Homoki, J., Kremmer, N., Hanle, J., & Teller, W.M. (1984). 25-Hydroxyvitamin D, 24, 25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid. Klinische Wochenschrift, 62(22), 1086-1090.

Balsalobre, A., Damiola, F., & Schibler, U. (1998). A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. Cell, 93(6), 929–937.

Barcelo, A., Pena, M., Barbe, F., Pierola, J., Bosch, M., & Agusti, A.G. (2007). Prostaglandin D synthase (beta trace) levels in sleep apnea patients with and without sleepiness. Sleep Medicine, 8(5), 509-511.

Barlow-Walden, L.R., Reiter, R.J., Abe, M., Pablos, M., Menendez-Pelaez, A., Chen, L.D., Poeggeler, B. (1995). Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. Neurochemistry İnt, 26, 497-502.

Barrett, P., Conway, S., & Morgan, P.J. (2003). Digging deep—structure–function relationships in the melatonin receptor family. Journal of Pineal Research, 35(4), 221-230.

Bartoccini, E., Marini, F., Damaskopoulou, E., Lazzarini, R., Cataldi, S., Cascianelli, G., … Albi, E. (2011). Nuclear lipid microdomains regulate

nuclear vitamin D3 uptake and influence embryonic hippocampal cell differentiation. Molecular Biology of The Cell, 22(17), 3022-3031.
Baydas, G., Ozer, M., Yasar, A., Tuzcu, M., & Koz, S.T. (2005). Melatonin improves learning and memory performances impaired by hyperhomocysteinemia in rats. Brain Research, 1046(1-2), 187-194.
Baydas, G., Yasar, A., & Tuzcu, M. (2005). Comparison of the impact of melatonin on chronic ethanol-induced learning and memory impairment between young and aged rats. Journal of Pineal Research, 39(4), 346-352.
Bazil, C.W., Short, D., Crispin, D., & Zheng, W. (2000). Patients with intractable epilepsy have low melatonin, which increases following seizures. Neurology, 55, 1746-1748.
Belay, D.G., & Worku, M.G. (2023). Prevalence of pineal gland calcification: systematic review and meta-analysis. Systematic Reviews, 12(1), 32.
Bell, N.H., Epstein, S., Greene, A., Shary, J., Oexmann, M.J., & Shaw, S. (1985). Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. The Journal of Clinical Investigation, 76(1), 370-373.
Benson, J., Wilson, A., Stocks, N., & Moulding, N. (2006). Muscle pain as an indicator of vitamin D deficiency in an urban Australian Aboriginal population. The Medical Journal of Australia, 185(2), 76-77.
Berkiks, I., Benmhammed, H., Mesfioui, A., Ouichou, A., Hasnaoui, A.E., Mouden, S., … Hesni, A.E. (2017). Postnatal melatonin treatment protects against affective disorders induced by early-life immune stimulation by reducing the microglia cell activation and oxidative stress. International Journal of Neuroscience, 128(6), 495-504.
Bersani, G., Garavini, A., Taddei, I., Tanfani, G., Nordio, M., & Pancheri, P. (1999). Computed tomography study of pineal calcification in schizophrenia. European Psychiatry, 14(3), 163-166.
Biber, M.C.B. (1980). Activation of tryptophan hydroxylase from slices of rat brain stem incubates with N6, 02'-dibutyryl adenosine-3':5'-cyclic monophosphate. Biochemical Pharmacology, 29(4), 669-672.
Boadle-Biber, M.C., Johannessen, J.N., Narasimhachari, N., & Phan, T.H. (1983). Activation of tryptophan hydroxylase by stimulation of central serotoninergic neurons. Biochemical Pharmacolog, 32(1), 185-188.
Bocchi, G., & Valdre, G. (1993). Physical, chemical, and mineralogical characterization of carbonate-hydroxyapatite concretions of the human pineal gland. Journal of Inorganic Biochemistry, 49(3), 209–220.
Bojkowski, C.J., & Arendt, J. (1990). Factors influencing urinary 6-sulphatoxymelatonin, a major melatonin matabolite, in normal human subject. Clinical Endocrinology, 33(4), 435-444.
Bondy, S.C. (1995). The relation of oxidative stres and hyperexcitation to neurological diseaes. Society for Experimental Biology and Medicine, 208(4), 337-345.
Bondy, S.C., & Lee, D.K. (1993). Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists. Brain Research, 610(2), 229-233.
Bondy, S.C., & Sharman, E.H. (2007). Melatonin and the aging brain. Neurochemistry International, 50(4), 571-580.
Boulter, J., Hollmann, M., O'Shea-Greenfield, A., Hartley, M., Deneris, E., Maron, C., & Heinemann, S. (1990). Molecular cloning and functional

expression of glutamate receptor subunit genes. Science, 249(4972), 1033-1037.

Bourne, R.S., & Mills, G.H. (2006). Melatonin: possible implications for the postoperative and critically ill patient. Intensive Care Medicine, 32(3), 371-379.

Brazão, V., Santello, F.H., Colato, R.P., Mazotti, T.T., Tazinafo, L.F., Toldo, M.P.A., … Prado, J.C. (2017). Antioxidant and modulatory properties in age-related changes during Trypanosoma cruzi infection. Journal of Pineal Research, 63(1), e12409.

Brewer, L.D., Thibault, V., Chen, K.C., Langub, M.C., Landfield, P.W., & Porter, N.M. (2001). Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. The Journal of Neurosciences, 21(1), 98-108.

Brown, J., Bianco, J.I., McGrath, J.J., & Eyles, D.W. (2003). 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. Neuroscience Letters, 343(2), 139-143.

Bryden, M.M., Griffiths, D.J., Kennaway, D.J., & Ledingham, J. (1986). The pineal gland is very large and active in newborn antarctic seals. Experientia, 42(5), 564-6.

Brzezinski, A. (1997). Melatonin in humans. The New England Journal of Medicine, 336(3), 186-195.

Bubenik, G.A. (2001). Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal melatonin. Biological Signals and Receptors, 10, 350-366.

Bubenik, G.A. (2002). Gastrointestinal melatonin localization, function, and clinical relevance. Digestive Diseases and Sciences, 47(10), 2336-2348.

Bukreeva, I., Junemann, O., Cedola, A., Brun, F., Longo, E., Tromba, G., … Asadchikov, V.E. (2023). Micromorphology of pineal gland calcification in age-related neurodegenerative diseases. Medical Physics, (3), 1601-1613.

Bumb, J.M., Schilling, C., Enning, F., Haddad, L., Paul, F., Lederbogen, F., … Nolte, I. (2014). Pineal gland volume in primary insomnia and healthy controls: a magnetic resonance imaging study. Journal of Sleep Research, 23(3), 276-282.

Bunger, M.K., Wilsbacher, L.D., Moran, S.M., Clendenin, C., Radcliffe, L.A., Hogenesch, J.B., … Bradfield, C.A. (2000). Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. Cell, 103(7), 1009–1017.

Burkert, R., McGrath, J., & Eyles, D. (2003). Vitamin D receptor expression in the embryonic rat brain. Neuroscience Research Communications, 33(1), 63-71.

Burkhardt, S., Reiter, R.J., Tan, D.X., Hardeland, R., Cabrera, J., & Karbownik, M. (2001). DNA oxidatively damaged by chromium(III) and H2O2 is protected by the antioxidants melatonin, N1 -acetyl-N2 -formyl-5-methoxykynuramine, resveratrol and uric acid. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 33, 775-783.

Burne, T.H., Becker, A., Brown, J., Eyles, D.W., Mackay-Sim, A., & McGrath, J.J. (2004). Transient prenatal Vitamin D deficiency is associated with hyperlocomotion in adult rats. Behavioural Brain Research, 2004 154(2), 549-55.

Burne, T.H., McGrath, J.J., Eyles, D.W., & Mackay-Sim, A. (2005). Behavioural characterization of vitamin D receptor knockout mice. Behavioural Brain Research, 157(2), 299-308.

Caffrey, J.M., & Farach-Carson, M.C. (1989). Vitamin D3 metabolites modulate dihydropyridine-sensitive calcium currents in clonal rat osteosarcoma cells. The Journal of Biological Chemitry, 264(34), 20265-20274.

Cajochen, C., Krauchi, K., & Wirz-Justice, A. (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. Journal of Neuroendocrinology, 15(4), 432–437.

Calvo, J., & Boya, J. (1981). Ultrastructural study of the embryonic development in the rat pineal gland. The Anatomical Record, 199, 543–553.

Cantorna, M.T., Hayes, C.E., & Deluca, H.F. (1996). 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 93(15), 7861-7864.

Cantorna, M.T., Hayes, C.E., & Deluca, H.F. (1998). 1, 25-Dihydroxyholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. The Journal of Nutrition, 154(1), 68-72.

Cardinali, D.P., & Pevet, P. (1998). Basic aspects of melatonin action. Sleep Medicine Reviews, 2(3), 175-190.

Cardinali, D.P., Nagle, C.A., Freire, F., & Rosner, J.M. (1975). Effects of melatonin on neurotransmitter uptake and release by synaptosome-rich homogenates of the rat hypothalamus. Neuroendocrinology 18(1), 72-85.

Cardinali, D.P., Vacas, M.I., & Boyer, E.E. (1979). Specific binding of melatonin in bovine brain. Endocrinology, 105(2), 437-441.

Cardinali, D.P., Vacas, M.I., Sarmiento, M.I.K., Morguenstern, E. (1983). Melatonin Action: Sites and Possible Mechanisms in Brain. The Pineal Gland and Its Endocrine Role, 65, 277-301.

Carlberg, C. (2006). Gene regulation by melatonin. Annals of The New York Academy of Sciences, 917, 387-396.

Carloni, S., Facchinetti, F., Pelizzi, N., Buonocore, G., & Balduini, W. (2018). Melatonin acts in synergy with hypothermia to reduce oxygen-glucose deprivation-induced cell death in rat hippocampus organotypic slice cultures. Neonatology, 114, 364-371.

Carrillo-Vico, A., Lardone, P.J., Fernández-Santos, J.M., Martín-Lacave, I., Calvo, J.R., Karasek, M., & Guerrero, J.M. (2005). Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the interleukin-2/interleukin-2 receptor system. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 90(2), 992–1000.

Cass, W.A., Smith, M.P., & Peters, L.E. (2006). Calcitriol protects against the dopamine- and serotonin-depleting effects of neurotoxic doses of methamphetamine. Annals of The New York Academy of Sciences, 1074, 261-271.

Castillo-Romero, J.L., Vives-Montero, F., Reiter, R.J., & Acuna-Castroviejo, D. (1993). Pineal modulation of the rat caudateputamen spontaneous neuronal activity: roles of melatonin and vasotocin. Journal of Pineal Research, 15(3), 147-152.

Celada, P., & Artigas, F. (1993). Effects of local and systemic MAO inhibitors on extracellular brain 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the frontal cortex and raphe nuclei of freely moving rats. An in vivo microdialysis study. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 347, 583-590.

Chabas, J.F., Alluin, O., Rao, G., Garcia, S., Lavaut, M.N., Risso, J.J., … Feron, F. (2008). Vitamin D2 potentiates axon regeneration. Journal of Neurotrauma, 25(10), 1247-1256.

Champney, T.H., Joshi, B.N., Vaughan, M.K., & Reiter, R.J. (1985). Superior cervical ganglionectomy results in the loss of pineal concretions in the adult male gerbil (meriones unguiculatus). The Anatomical Record, 211(4), 465-468.

Chaste, P., Clement, N., Botros, H.G., Guillaume, J.L., Konyukh, M., Pagan, C., … Bourgeron, T. (2011). Genetic variations of the melatonin pathway in patients with attention-deficit and hyperactivity disorders. Journal of Pineal Research, 51(4), 394-399.

Chaste, P., Clement, N., Mercati, O., Guillaume, J.C., Delorme, R., Botros, H.G., … Bourgeron, T. (2010). Identification of pathway-biased and deleterious melatonin receptor mutants in autism spectrum disorders and in the general population. PLoS One, 5(7), e11495.

Chauhan, S., Barbanta, A, Ettinger, U., & Kumari, V. (2023). Pineal Abnormalities in Psychosis and Mood Disorders: A Systematic Review. Brain Sciences, 13(5), 827.

Chen, C., Rainnie, D.G., Greene, R.W., & Tonegawa, S. (1994). Abnormal fear response and aggressive behavior in mutant mice deficient for alpha-calcium-calmodulin kinase II. Science, 266(5183), 291-294.

Chen, H., Lin, R.J., Schiltz, R.L., Chakravarti, D., Nash, A., Nagy, L., … Evans, R.M. (1997). Nuclear receptor coactivator ACTR is a novel histone acetyltransferase and forms a multimeric activation complex with P/CAF and CBP/p300. Cell, 90(3), 569-580.

Chen, K.B., Lin, A.M., & Chiu, T.H. (2003). Systemic vitamin D3 attenuated oxidative injuries in the locus coeruleus of rat brain. Annals of The New York Acadademy of Sciences, 993, 313-324.

Choi, D.W. (1988). Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. Neuron, 1(8), 623-634.

Chu, Z.M., Li, H.B., Sun, S.X., Jiang, Y.C., Wang, B., & Dong, Y.-F. (2017). Melatonin promotes osteoblast differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in aged rats. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 21(19), 4446–4456.

Ciarleglio, C.M., Resuehr, H.E.S., & McMahon, D.G. (2011). Interactions of the serotonin and circadian systems: nature and nurture in rhythms and blues. Neuroscience 197, 8–16.

Ciavarella, C., Gallitto, E., Ricci, F., Buzzi, M., Stella, A., & Pasquinelli, G (2017). The crosstalk between vascular MSCs and inflammatory mediators determines the pro-calcific remodelling of human atherosclerotic aneurysm. Stem Cell Research & Therapy, 8, 99.

Ciria, M., García, N.A., Ontoria-Oviedo, I., González-King, H., Carrero, R., De La Pompa, J.L., … Sepúlveda, P. (2017). Mesenchymal stem cell migration and

proliferation are mediated by hypoxia inducible factor-1 upstream of notch and SUMO pathways. Stem Cells and Development, 26(13), 973-985.
Clark, M.S., & Russo, A.F. (1997). Tissue-specific glucocorticoid regulation of tryptophan hydroxylase mRNA levels. Brain Research Molecular Brain Research, 48(2), 346-354.
Claustrat, B., Brun, J., & Chazot, G. (2005). The basic physiology and pathophisology of melatonin. Sleep Medicine Reviews, 9(1), 11-24.
Comai, S., & Gobbi, G. (2014). Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology. Journal of Psychiatry and Neuroscience, 39(1), 6-21.
Cotman, C.W., & Iversen, L.L. (1987). Excitatory amino acids in the brain - focus on NMDA receptors. Trends in Neurosciences, 10, 263-265.
Cotman, C.W., & Monaghan, D.T. (1986). Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their properties. Advances in Experimental Medicine and Biology, 203, 237-252.
Coyle, J.T., & Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. Science, 262(5134), 689-695.
Craig, S.P., Boularand, S., Darmon, M.C., Mallet, J., & Craig, I.W. (1991). Localization of human tryptophan hydroxylase (TPH) to chromosome 11p15.3----p14 by in situ hybridization. Cytogenetics and Cell Genetics, 56(3-4), 157-159.
Crossmon, G. (1937). A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. The Anatomical Record, 69(1), 33-38.
Cuello, A.C., & Tramezzanı, J.H. (1969). The epiphysis cerebri of the weddell seal: its remarkable size and glandular pattern. General and Comparative Endocrinology, 12(1), 154-164.
Cui, X., McGrath, J.J., Burne, T.H., Mackay-Sim, A., & Eyles, D.W. (2007). Maternal vitamin D depletion alters neurogenesis in the developing rat brain. International Jorunal of Developmental Neuroscience: The Offical Journal of The International Society for Developmental Neuroscience, 25(4), 227-232.
Cui, X., Pelekanos, M., Burne, T.H., McGrath, J.J., & Eyles, D.W. (2010). Maternal vitamin D deficiency alters the expression of genes involved in dopamine specification in the developing rat mesencephalon. Neuroscience Letters, 486(3), 220-223.
Czeisler, C.A. (2016). SLEEP. Measuring the passage of brain time. Science (New York, N.Y.), 353(6300), 648–649.
Çam, A., & Erdoğan, M.F. (2003). Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 56, 103-112.
Dahl, R.E. (2009). The regulation of sleep and arousal: Development and psychopathology. Development and Psychopathology, 1996, 8(1), 3-27.
Daramola, G.F., & Olowu, A.O. (1972). Physiological and radiological implications of a low incidence of pineal calcification in Nigeria. Neuroendocrinology, 9(1), 41–57.
Daubner, S.C., Moran, G.R., & Fitzpatrick, P.F. (2002). Role of tryptophan hydroxylase phe313 in determining substrate specificity. Biochemical and Biophysical Research Communications, 292(3), 639-641.

Dax, E.M., & Sugden, D. (1988). Age-associated changes in pineal adrenergic receptors and melatonin synthesizing enzymes in the Wistar rat. Journal of Neurochemistry, 50(2), 468-472.

Dehghan, F., Hadad, M.K., Asadikram, G., Najafipour, H., & Shahrokhi, N. (2013). Effect of melatonin on intracranial pressure and brain edema following traumatic brain injury: role of oxidative stresses. Archives of Medical Research, 44(4), 251-258.

Delagrange, P., Atkinson, J., Boutin, J.A., Casteilla, L., Lesieur, D., Misslin, R., … Renard, P. (2003). Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists. Journal of Neuroendocrinology, 15(4), 442-448.

De-Lima, E., Soares, J.M., Garrido, Y.C.S., Valente, S.G., Priel, M.R., & Baracat, E.C. (2005). Effects of pinealectomy and the treatment with melatonin on the temporal lobe epilepsy in rats. Brain Research, 1043(1-2), 24–31.

Deluca, H.F., & Cantorna, M.T. (2001). Vitamin D: its role and uses in immunology. Federation of American Societies for Experimental Biology, 15, 2579-2585.

Deng, Y., Xu, G., Duan, P., Zhang, Q., & Wang, J. (2005). Effects of melatonin on wortmannin-induced tau hyperphosphorylation. Acta Pharmacologica Sinica, 26, 519-526.

Diehl, B.J. (1978). Occurrence and regional distribution of calcareous concretions in the rat pineal gland. Cell and Tissue Research, 195, 359–366.

Diehl, B.J. (1978). Occurrence and regional distribution of striated muscle fibers in the rat pineal gland. Cell and Tissue Research, 190, 349–355.

Disanto, G., Morahan, J.M., Lacey, M.V., DeLuca, G.C., Giovannoni, G., Ebers, G.C., & Ramagopalan, S.V. (2012). Seasonal distribution of psychiatric births in England. PLoS One, 7(4), e34866.

Djamgoz, M.B., & Wagner, H.J. (1992). Localization and function of dopamine in the adult vertebrate retina. Neurochemistry International, 20(2), 139–191.

Dominguez-Lopez, S., Mahar, I., Bambico, F.R., Labonte, B., Ochoa-Sanchez, R., Leyton, M., & Gobbi, G. (2012). Short-term effects of melatonin and pinealectomy on serotonergic neuronal activity across the light-dark cycle. Journal of Psychopharmacology, 26(6), 830–844.

Dong, X.X., Wang, Y., & Qin, Z. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. Acta Pharmacologica Sinica, 30, 379-387.

Doyle, A.J., & Anderson, G.D. (2006). Physiologic calcification of the pineal gland in children on computed tomography: prevalence, observer reliability and association with choroid plexus calcification. Academic Radiology, 13(7), 822-826.

Dubocovich, M.L. (1983). Melatonin is a potent modulator of dopamine release in the retina. Nature, 306, 782-784.

Dubocovich, M.L., & Takahashi, J.S. (1987). Use of 2-[125I]iodomelatonin to characterize melatonin binding sites in chicken retina. Proceedings of The National Academy of Sciences, 84(11), 3916-3920.

Dubocovich, M.L., Masana, M.I., Iacob, S., & Sauri, D.M. (1997). Melatonin receptor antagonists that differentiate between the human Mel1a and Mel1b recombinant subtypes are used to assess the pharmacological profile of the

rabbit retina ML1 presynaptic heteroreceptor. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 355(3), 365–375.
Dubocovich, M.L., Rivera-Bermudez, M.A., Gerdin, M.J., & Masana, M.I. (2003). Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. Frontiers in Bioscience, 8(4), 1093-1108.
Dubocovich, M.L., Yun, K., Al-Ghoul, W.M., Benloucif, S., & Masana, M.I. (1998). Selective MT2 melatonin receptor antagonists block melatonin-mediated phase advances of circadian rhythms. FASEB journal: Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology, 12(12), 1211–1220.
Dufourny, L., Levasseur, A., Migaud, M., Callebaut, I., Pontarotti, P., Malpaux, B., & Monget, P. (2008). GPR50 is the mammalian ortholog of Mel1c: evidence of rapid evolution in mammals. BMC Evolutionary Biology, 8, 105.
Dugovic, C., Leysen, J.E., & Wauquier, A. (1989). Melatonin modulates the sensitivity of 5-hydroxytryptamine-2 receptor-mediated sleep-wakefulness regulation in the rat. Neuroscience Letters, 104(3), 320-325.
Dumas, S., Darmon, M.C., Delort, J., & Mallet, J. (1989). Differential control of tryptophan hydroxylase expression in raphe and in pineal gland: evidence for a role of translation efficiency. Journal of Neuroscience Research, 24(4), 537-547.
Dursun, E., Gezen-Ak, D., & Yilmazer, S. A novel perspective for Alzheimer's disease: vitamin D receptor suppression by amyloid-β and preventing the amyloid-β induced alterations by vitamin D in cortical neurons. Journal of Alzheimer's Disease, 23(2), 207-219.
Dusso, A.S., Brown, A.J., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. American Journal of Physiology. Renal Physiology, 289(1), 8–28.
Ebihara, K., Masuhiro, Y., Kitamoto, T., Suzawa, M., Uematsu, Y., Yoshizawa, T., … Kato, S. (1996). Intron retention generates a novel isoform of the murine vitamin D receptor that acts in a dominant negative way on the vitamin D signaling pathway. Molecular Cell Biology, 16(7), 3393-3400.
Ehret, M., Cash, C.D., Hamon, M., & Maitre, M. (1989). Formal demonstration of the phosphorylation of rat brain tryptophan hydroxylase by Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase. Journal of Neurochemistry, 52(6), 1886-1891.
Eison, A.S., Freeman, R.P., Guss, V.B., Mullins, U.L., & Wright, R.N. (1995). Melatonin agonists modulate 5-HT2A receptor-mediated neurotransmission: behavioral and biochemical studies in the rat. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273(1), 304-308.
Ekmecioglu, C. (2006). Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. Biomedicine & Pharmacotherapy, 60(3), 97-108.
El-Zayadi, A.A., Jones, E.A., Churchman, S.M., Baboolal, T.G., Cuthbert, R.J., El-Jawhari, J.J., … McGonagle, D. (2017). Interleukin-22 drives the proliferation, migration and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: A novel cytokine that could contribute to new bone formation in spondyloarthropathies. Rheumatology, 56(3), 488-493.
Emet, M., Ozcan, H., Ozel, L., Yayla, M., Halici, Z., & Hacimuftuoglu, A. (2016). A review of melatonin, its receptors and drugs. The Eurasian Journal of Medicine, 48(2), 135-141.

Erben, R.G., Soegiarto, D.W., Weber, K., Zeitz, U., Lieberherr, M., Gniadecki, R., … Balling, R. (2002). Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. Molecular Endocrinology, 16(7), 1524-1537.
Erben, R.G., Soegiarto, D.W., Weber, K., Zeitz, U., Lieberherr, M., Gniadecki, R., … Balling, R. (2002). Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. Molecular Endocrinology, 16(7), 1524-1537.
Ericson, H., Köhler, C., & Blomqvist, A. (1991). GABA-like immunoreactivity in the tuberomammillary nucleus: an electron microscopic study in the rat. The Journal of Comparative Neurology, 305(3), 462–469.

Erlich, S.S., & Apuzzo, M.L. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. Journal of Neurosurgery, 63(3), 321-341.

Escames, G., Castroviejo, A.D., & Vives, F. (1996). Melatonin-dopamine interaction in the striatal projection area of sensorimotor cortex in the rat. Neuroreport, 7(2), 597–600.

Escames, G., Leon, J., Lopez, L.C., & Acuna-Castroviejo, D. (2004). Mechanisms of N-methyl-D-aspartate receptor inhibition by melatonin in the rat striatum. Journal of Neuroendocrinology, 16, 929-935.

Escames, G., Macisas, M., Leon, J., Garcia, J., Khaldy, H., Martin, M., … Acuna-Castroviejo, D. (2001). Calcium-dependent effects of melatonin inhibition of glutamatergic response in rat striatum. Journal of Neuroendocrinology, 13, 459-466.

Esposito, E., & Cuzzocrea, S. (2010). Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. Current Neuropharmacology, 8(3), 228-242.

Evatt, M.L., Delong, M.R., Khazai, N., Rosen, A., Triche, S., & Tangpricha, V. (2008). Prevalence of vitamin d insufficiency in patients with Parkinson disease and Alzheimer disease. Archives of Neurology, 65(10), 1348-1352.

Eyles, D., Almeras, L., Benech, P., Patatian, A., Mackay-Sim, A., McGrath, J., & Féron, F. (2007). Developmental vitamin D deficiency alters the expression of genes encoding mitochondrial, cytoskeletal and synaptic proteins in the adult rat brain. The Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology, 103(3-5), 538-545.

Eyles, D., Brown, J., Mackay-Sim, A., McGrath, J., & Feron, F. (2003). Vitamin D3 and brain development. Neuroscience, 118(3), 641-653.

Eyles, D., Feldon, J., & Meyer, U. (2012). Schizophrenia: do all roads lead to dopamine or is this where they start? Evidence from two epidemiologically informed developmental rodent models. Translational Psychiatry, 2(2), e81.

Eyles, D.W., Burne, T.H., & McGrath, J.J. (2013). Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. Frontiers in Neuroendocrinology, 34(1), 47-64.
Eyles, D.W., Burne, T.H., & McGrath, J.J. (2013). Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. Frontiers in Neuroendocrinology, 34(1), 47-64.

Eyles, D.W., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., & McGrath, J.J. (2005). Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. Journal of Chemical Neuroanatomy, 29(1), 21-30.

Fang, N., Hu, C., Sun, W., Xu, Y., Gu, Y., Wu, L., … Liu, L. (2020). Identification of a novel melatonin-binding nuclear receptor: Vitamin D receptor. Journal of Pineal Research, 68(1), e12618.

Fauteck, J., Schmidt, H., Lerchl, A., Kurlemann, G., & Wittkowski, W. (1999). Melatonin in epilepsy: first results of replacement therapy and first clinical results. Biological Signals and Receptors, 8(1-2), 105-110.

Fauteck, J., Schmidt, H., Lerchl, A., Kurlemann, G., & Wittkowski, W. (1999). Melatonin in epilepsy: first results of replacement therapy and first clinical results. Biological Signals and Receptors, 8(1-2), 105–110.

Feldman, D., Krishnan, A., Moreno, J., Swami, S., Peehl, D.M., & Srinivas, S. (2007). Vitamin D inhibition of the prostaglandin pathway as therapy for prostate cancer. Nutrition Reviews, 65(8), 113-115.

Feldman, D., Zhao, X.Y., & Krishnan, A.V. (2000). Editorial/Mini-Review: Vitamin D and prostate cancer. Endocrinology, 141(1), 5-9.

Feron, F., Burne, T.H., Brown, J., Smith, E., McGrath, J.J., Mackay-Sim, A., & Eyles, D.W. (2005). Developmental Vitamin D3 deficiency alters the adult rat brain. Brain Research Bulletin, 65(2), 141-148.

Ferry, G., Ubeaud, C., Lambert, P.H., Bertin, S., Coge, F., Chomarat, P., … Boutin, A. (2005). Molecular evidence that melatonin is enzymatically oxidized in a different manner than tryptophan: investigations with both indoleamine 2,3-dioxygenase and myeloperoxidase. Biochemical Journal, 388, 205-215.

Fitzpatrick, P.F. (1999). Tetrahydropterin-dependent amino acid hydroxylases. Annual Review of Biochemistry, 68, 355-381.

Floyd, R.A., & Hensley, K. (2002). Oxidative stress in brain aging Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. Neurobiology of Aging, 23(5), 795-807.

Forsythe, I.D., & Westbrook, G.L. (1988). Slow excitatory postsynaptic currents mediated by N-methyl-D-aspartate receptors on cultured mouse central neurones. The Journal of Physiology, 396, 515-533.

Foster, A.C., & Fagg, G.E. (1984). Acidic amino acid binding sites in mammalian neuronal membranes: their characteristics and relationship to synaptic receptors. Brain Research, 319(2), 103-164.

Foster, R.G., & Roenneberg, T. (2008). Human responses to the geophysical daily, annual and lunar cycles. Current Biology, 18, R784–R794.

Fracp, M.J.D., & Spencer, D.D. (1992). Adenosine: A potential mediator of seizure arrest and postictal refractoriness. Annals of Neurology, 32, 618-624.

Freedman, L.P. (1999) Increasing the complexity of coactivation in nuclear receptor signaling. Cell, 97(1), 5-8.

Friedland, R., Luxenberg, J., & Koss, E. (1990). A quantitative study of intracranial calcification in dementia of the alzheimer type. International Psychogeriatrics, 2(1), 37-43.

Fu, G.K., Lin, D., Zhang, M.Y., Bikle, D.D., Shackleton, C.H., Miller, W.L., & Portale, A.A. (1997). Cloning of human 25-hydroxyvitamin D-1 alpha-hydroxylase and mutations causing vitamin D-dependent rickets type 1. Molecular Endocrinology, 11(13), 1961-1970.

Fujieda, H., Hamadanizadeh, S.A., Wankiewicz, E., Pang, S.F., & Brown, G.M. (1999). Expression of mt1 melatonin receptor in rat retina: evidence for multiple cell targets for melatonin. Neuroscience, 93(2), 793–799.

Fujieda, H., Scher, J., Hamadanizadeh, S.A., Wankiewicz, E., Pang, S.F., & Brown, G.M. (2000). Dopaminergic and GABAergic amacrine cells are direct targets of melatonin: immunocytochemical study of mt1 melatonin receptor in guinea pig retina. Visual Neuroscience, 17(1), 63–70.

Furukawa, H., Singh, S.K., Mancusso R., & Gouaux, E. (2005). Subunit arrangement and function in NMDA receptors. Nature, 438, 185-192.

Gaffori, O., & Van, J.M.R. (1985). Serotonin and antidepressant drugs antagonize melatonin-induced behavioural changes after injection into the nucleus accumbens of rats. Neuropharmacology, 24(3), 237–244.

Gall, V.C., Weaver, D.R., Kock, M., Korf, H.W., & Stehle, J.H. (2000). Melatonin limits transcriptional impact of phosphoCREB in the mouse SCN via the Mel1a receptor. Neuroreport, 11(9), 1803–1807.

Galliani, I., Falcieri, E., Giangaspero, F., Valdrè, G., & Mongiorgi, R. (1990). A preliminary study of human pineal gland concretions: Structural and chemical analysis. Bollettino della Societa italiana di biologia sperimentale, 66(7), 615–622.

Ganguly, S., Coon, S.L., & Klein, D.C. (2002). Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: the critical role of serotonin acetylation. Cell and Tissue Research, 309(1), 127-137.

Ganguly, S., Gastel, J.A., Weller, J.L., Schwartz, C., Jaffe, H., Namboodiri, M.A., … Klein, D.C. (2001). Role of a pineal cAMP-operated arylalkylamine N-acetyltransferase/14-3-3-binding switch in melatonin synthesis. Proceeding of The National Academy of Sciences of The United States of America, 98(14), 8083-8088.

Gao, Q., Kou, T., Zhuang, B., Ren, Y., Dong, X., & Wang, Q. (2018). The Association between Vitamin D Deficiency and Sleep Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. Nutrients, 10(10), 1395.

Gao, Q., Kou, T., Zhuang, B., Ren, Y., Dong, X., & Wang, Q. (2018). The Association between Vitamin D Deficiency and Sleep Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. Nutrients, 10(10), 1395.

Garcia-Mauriño, S., Gonzalez-Haba, M.G., Calvo, J. R., Goberna, R., & Guerrero, J.M. (1998). Involvement of nuclear binding sites for melatonin in the regulation of IL-2 and IL-6 production by human blood mononuclear cells. Journal of Neuroimmunology, 92(1-2), 76–84.

Garcion, E., Barbot N.W., Menei C.N.M., Berger, F., & Wion, D. New clues about vitamin D functions in the nervous system. Trends in Endocrinology Metabolism, 13(3), 100-105.

Garcion, E., Wion-Barbot, N., Montero-Menei, C.N., Berger, F., & Wion, D. (2002). New clues about vitamin D functions in the nervous system. Trends in Endocrinology and Metabolism, 13(3), 100-105.

Gastel, J.A., Roseboom, P.H., Rinaldi, P.A., Weller, J.L., & Klein, D.C. (1988). Melatonin production: proteasomal proteolysis in serotonin N-acetyltransferase regulation. Science, 279(5355), 1358-1360.

Gates, M.A., Torres, E.M., White, A., Fricker-Gates, R.A., & Dunnett, S.B. (2006). Re-examining the ontogeny of substantia nigra dopamine neurons. The Europan Journal of Neuroscience, 23(5), 1384-1390.

Gauer, F., Masson-Pévet, M., Skene, D.J., Vivien-Roels, B., & Pévet, P. (1993). Daily rhythms of melatonin binding sites in the rat pars tuberalis and suprachiasmatic nuclei; evidence for a regulation of melatonin receptors by melatonin itself. Neuroendocrinology, 57(1), 120–126.

Geary, G.G., Duckles, S.P., & Krause, D.N. (2009). Effect of melatonin in the rat tail artery: role of K+ channels and endothelial factors. British Journal of Pharmacology, 123(8), 1533-1540.

Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H.B., Davis, F.C., Wilsbacher, L.D., King, D.P., … Weitz, C.J. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. Science (New York, N.Y.), 280(5369), 1564–1569.

Genell, H. (2002). Melatonin and the pineal gland. Journal of Neuroscience Nursing, 34(2), 74-90.

Gezen-Ak, D., Dursun, E., & Yilmazer, S. (2011). The effects of vitamin D receptor silencing on the expression of LVSCC-A1C and LVSCC-A1D and the release of NGF in cortical neurons. Plos One, 6(3), e17553.

Gheban, B.A., Rosca, I.A., & Crisan, M. (2019). The morphological and functional characteristics of the pineal gland. Medicine and Pharmacy Report, 92(3), 226-234.

Gilgun-Sherki, Y., Rosenbaum, Z., Melamed, E., & Offen, D. (2002). Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. Pharmacological Reviews, 54, 271-284.

Gilman, S.C., Bonner, M.J., & Pellmar, T.C. (1993). Effect of oxidative stress on excitatory amino acid release by cerebral cortical synaptosomes. Free Radical Biology & Medicine, 15, 671-675.

Godson, C., & Reppert, S.M. (1997). The Mel1a melatonin receptor is coupled to parallel signal transduction pathways. Endocrinology, 138, 397–404.

Golan, D., Ram, E.S., Marmor, L.G., Lavi, I., Rozenberg, O., Dishon, S., … Miller, A. (2013). The influence of vitamin D supplementation on melatonin status in patients with multiple sclerosis. Brain Behaviour and Immunity, 32, 180-185.

Golan, J., Torres, K., Staskiewicz, G.J., Opielak, G., & Maciejewski, R. (2002). Morphometric parameters of the human pineal gland in relation to age, body weight and height. Folia Morphol, 61(2), 111-113.

Gomes, P., & Soares-da-Silva, P. (1999). L-DOPA transport properties in an immortalised cell line of rat capillary cerebral endothelial cells, RBE 4. Brain research, 829(1-2), 143–150.

Goree, J.A., Wallace, K.K., & Bean, R.L. (1963). The pineal tomogram. Visualization of the faintly calcified pineal gland. The American journal of roentgenology, radium therapy, and nuclear medicine, 89, 1209–1211.

Goudarzvand, M., Javan, M., Mirnajafi-Zadeh, J., Mozafari, S., & Tiraihi, T. (2010). Vitamins E and D3 attenuate demyelination and potentiate remyelination processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide. Cellular and Molecular Neurobiology, 30(2), 289-299.

Grecksch, G., Rüthrich, H., Höllt, V., & Becker, A. (2009). Transient prenatal vitamin D deficiency is associated with changes of synaptic plasticity in the dentate gyrus in adult rats. Psychoneuroendocrinology, 34(1), 258-264.

Green, N.H., Jackson, C.R., Iwamoto, H., Tackenberg, M.C., & McMahon, D.G. (2015). Photoperiod Programs Dorsal Raphe Serotonergic Neurons and Affective Behaviors. Current Biology, 25, 1389–1394.

Gregory, K., Warner, T., Cardona, J.J., Chaiyamoon, A., Iwanaga, J., Dumont, A.S., & Tubbs, R.S. (2023). Innervation of pineal gland by the nervus conarii: a review of this almost forgotten structure. Anatomy & Cell Biology, 56(3), 304-307.

Grosshans, M., Vollmert, C., Vollstaedt-Klein, S., Nolte, I., Schwarz, E., Wagner, X., … Bumb, J.M. (2016). The association of pineal gland volume and body mass in obese and normal weight individuals: a pilot study. Psychiatr Danubina, 28(3), 220-224.

Grozic, A., Coker, K., Dussik, C.M., Sabir, M.S., Sabir, Z., Bradley, A., … Jurutka, P.W. (2022). Identification of putative transcriptomic biomarkers in irritable bowel syndrome (IBS): Differential gene expression and regulation of TPH1 and SERT by vitamin D. PLOS One, 17(10), e0275683.

Grunewald, E., Kinnell, H.L., Porteous, D.J., & Thomson, P.A. GPR50 interacts with neuronal NOGO-A and affects neurite outgrowth. Molecular and Cellular Neuroscience, 42(4), 363-371.

Guchhait, R.B. (1976). Biogenesis of 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine in human pineal gland. Journal of Neurochemistry, 26(1), 187-90.

Gupta, Y.K., Gupta, M., Kohli, K. (2003). Neuroprotective role of melatonin in oxidative stres vulnerable brain. Indian Journal Physiol Pharmacol, 47(4), 373-386.

Haack, M., Sanchez, E., & Mullington, J.M. (2007). Elevated inflammatory markers in response to prolonged sleep restriction are associated with increased pain experience in healthy volunteers. Sleep, 30(9), 1145-1152.

Haddad, J.G., Matsuoka, L.Y., Hollis, B.W., Hu, Y.Z., & Wortsman, J. (1993). Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. The Journal of Clinical Investigation, 91(6), 2552-2555.

Hajri, F.A., Sirasanagandla, S.R., Boudaka, A., Dhuhli, H.A., & Ajmi, E.A. (2023). Physiological Intracranial Calcifications in Children: A computed tomography-based study. Sultan Qaboos University Medical Journal, 23(2), 227-232.

Hamada, T., Lesauter, J., Venuti, J.M., & Silver, R. (2001). Expression of Period genes: rhythmic and nonrhythmic compartments of the suprachiasmatic nucleus pacemaker. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of The Society for Neuroscience, 21(19), 7742–7750.

Handel, A.E., Giovannoni, G., Ebers, G.C., & Ramagopalan, S.V. (2010). Environmental factors and their timing in adult-onset multiple sclerosis. Nature Reviews, Neurology, 6(3), 156-166.

Hardeland, R. (2005). Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. Endocrine, 27(2), 119-130.

Hardeland, R. (2012). Melatonin in aging and disease multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. Aging and Disease, 3, 194-225.

Hardeland, R., Reiter, R. J., Poeggeler, B., & Tan, D.X. (1993). The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 17(3), 347-357.

Harrison, P.J., & Weinberger, D.R. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. Molecular Psychiatry, 10(1), 40-68.

Hastings, M.H., Herbert, J., Martensz, N.D., & Roberts, A.C. (1985). Annual reproductive rhythms in mammals: mechanisms of light synchronization. Annals of the New York Academy of Sciences, 453, 182–204.

Haussler, M.R., Jurutka, P.W., Mizwicki, M., & Norman, A.W. (2011). Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of $1\alpha,25(OH)_2$vitamin D_3: genomic and non-genomic mechanisms. Best Practise & Research Clinical Endocrinology Metabolism, 25(4), 543-559.

Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Haussler, C.A., Hsieh, J.C., Thompson, P.D., Selznick, S.H., … Jurutka, P.W. (1998). The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. The Journal of Bone and Mineral Research, 13(3), 325-349.

Hayano, M., Sung, J.H., Mastri, A.R., & Hill, E.G. (1976). Striated muscle in the pineal gland of swine. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 35(6), 613–621.

He, C., Wang, J., Zhang, Z., Yang, M., Li, Y., Tian, X., … Liu, G. (2016). Mitochondria synthesize melatonin to ameliorate its function and improve mice oocyte's quality under in vitro conditions. International Journal of Molecular Sciences, 17(6), 939.

Heath, K.M., & Elovic, E.P. (2006). Vitamin D deficiency: implications in the rehabilitation setting. American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation, 85(11), 916-923.

Hediger, M.L., England, L.J., Molloy, C.A., Yu, K.F., Courtney, P.M., & Mills, J.L. (2008). Reduced bone cortical thickness in boys with autism or autism spectrum disorder. Journal of Autism Developmental Disorders, 38(5), 848-856.

Henden, T., Stokkan, K.A., Reiter, R.J., Nonaka, K.O., Lerchl, A., & Jones, D.J. (1992). Age-associated reduction in pineal beta-adrenergic receptor density is prevented by life-long food restriction in rats. Neurosignals, 1(1), 34-39.

Hill, D.R., & Persinger, M.A. (2003). Application of transcerebral, weak (1 Microt) complex magnetic fields and mystical experiences: are they generated by field-induced dimethyltryptamine release from the pineal organ?. Perceptual and Motor Skills, 97, 1049-1050.

Hinterberger, H., & Pickering, J. (1976). Catecholamine, indolealkylamine and calcium levels of human pineal glands in various clinical conditions. Pathology, 8(3), 221-229.

Hirata, F., Hayaishi, O., Tokuyama, T., & Senoh, S. (1974). In vitro and in vivo formation of two new metabolites of melatonin. Journal of Biological Chemistry, 249(4), 1311-1313.

Hirose, T, Smith, R.J., & Jetten, A.M. (1994). ROR gamma: the third member of ROR/RZR orphan receptor subfamily that is highly expressed in skeletal muscle. Biochemical and Biophysical Research Communications, 205(3), 1976–1983.

Hirsch-Rodriguez, E., Imbesi, M., Manev, R., Uz, T., & Manev, H. (2007). The pattern of melatonin receptor expression in the brain may influence antidepressant treatment. Medical Hypotheses, 69(1), 120-124.

Hirshkowitz, M., Whiton, K., Albert, S.M., Alessi, C., Bruni, O., DonCarlos, L., … Hillard, P.J.A. (2015). National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. Sleep Health, 1(1), 40-43.

Hjorth, S., & Sharp, T. (1991). Effect of the 5-HTIA receptors agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. Life Sciences, 48(18), 1779-1786.

Hogan, M.V., El-Sherif, Y., & Wieraszko, A. (2001). The modulation of neuronal activity by melatonin: in vitro studies on mouse hippocampal slices. Journal of Pineal Research, 30(2), 87–96.

Holick, M.F. (1990). The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. The Journal of Nutrition, 11(11), 1464-1469.

Holick, M.F. (1994). McCollum Award Lecture, 1994: Vitamin D—new horizons for the 21st century. The American Journal of Clinical Nutrition, 60(4), 619-630.

Holick, M.F. (2003). Vitamin D. A millenium perspective. Journal of Cellular Biology, 88(2), 296-307.

Holick, M.F. (2004). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. The American Journal of Clinical Nutrition, 79(3), 362-371.

Holick, M.F. (2006). The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. Current Osteoporosis Report, 4(3), 96-102.

Holick, M.F., & Chen, T.C. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. The American Journal of Clinical Nutrition, 87(4), 1080-1086.

Holick, M.F., & Michael, F. (2002). Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. Current Opinion in Endocrinology & Diabetes 9(1), 87-98.

Holick, M.F., Tian, X.Q., & Allen, M. (1995). Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D3 in the skin of poikilothermic animals. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 92(8), 3124-3126.

Hollis, B.W., Wagner, C.L., Drezner, M.K., & Binkley, N.C. (2007). Circulating vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D in humans: An important tool to define adequate nutritional vitamin D status. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 103(3-5),631-634.

Hollmann, M., O'Shea-Greenfield, A., Rogers, S.W., & Heinemann, S. (1989). Cloning by functional expression of a member of the glutamate receptor family. Nature, 342, 643-648.

Horst, R.L., Napoli, J.L., & Littledike, E.T. (1982). Discrimination in the metabolism of orally dosed ergocalciferol and cholecalciferol by the pig, rat and chick. Biochemical Journal, 204(1), 185–189.

Houdouin, F., Cespuglio, R., Gharib, A., Sarda, N., & Jouvet, M. (1991). Detection of the release of 5-hydroxyindole compounds in the hypothalamus and n. raphe dorsalis throughout the sleepwaking cycle and during stressful situation in the rat: a polygraphic and voltammetric approach. Experimental Brain Research, 85, 153-162.

How, K.L., Hazewinkel, H.A.W., & Mol, J.A. (1994). Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. General and Comparative Endocrinology, 96(1), 12-18.

Howes, O., McCutcheon, R., & Stone, J. (2015). Glutamate and dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century. Journal of Psychopharmacology, 29(2), 97-115.

Hörlein, A.J., Naar, A.M., Heinzel, T., Torchia, J., Gloss, B., Kurokawa, R., … Glass, C.K. (1995). Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. Nature, 377(6548), 397-404.

Huang, W., Shah, S., Long, Q., Crankshaw, A.K., & Tangpricha, V. (2013). Improvement of pain, sleep, and quality of life in chronic pain patients with vitamin D supplementation. The Clinical Journal of Pain, 29(4), 341-347.

Huang, Y.C., & Christakos, S. Modulation of rat calbindin-D28 gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3 and dietary alteration. Molecular Endocrinology, 2(10), 928-935.

Huether, G., Kochen, W., Simat, T.J., Steinhart, H. (Eds). (1998). Tryptophan, Serotonin and Melatonin: Basic Aspect and Applications (pp. 380-381). Kluwer Academic / Plenum Publishers. DOI *10.1007/978-1-4615-4709-9*

Hufton, S.E., Jennings, I.G., & Cotton, R.G. (1995). Structure and function of the aromatic amino acid hydroxylases. The Biochemical Journal, 311(2), 353-366.

Huiberts, L.M., & Smolders, K.C.H.J. (2021). Effects of vitamin D on mood and sleep in the healthy population: Interpretations from the serotonergic pathway. Sleep Medicine Reviews, 55, 101379.

Hunt, A.E., Al-Ghoul, W.M., Gillette, M.U., & Dubocovich, M.L. (2001). Activation of MT2 melatonin receptors in rat suprachiasmatic nucleus phase advances the circadian clock. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 280(1), 110-118.

Hypponen, E., Laara, E., Jarvelin, M.R., & Virtanen, S.M. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. Lancet, 358(9292), 1500-1503.

Ibi, M., Sawada, H., Nakanishi, M., Kume, T., Katsuki, H., Kaneko, S., … Akaike, A. (2001). Protective effects of 1 alpha,25-(OH)(2)D(3) against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephalic culture. Neuropharmacology, 40(6), 761-771.

Iida, Y., Sawabe, K., Kojima, M., Oguro, K., Nakanishi, N., & Hasegawa, H. (2002). Proteasome-driven turnover of tryptophan hydroxylase is triggered by phosphorylation in RBL2H3 cells, a serotonin producing mast cell line. Europan Journal of Biochemistry, 269(19), 4780-4788.

Iuvone, P.M., Tosini, G., Pozdeyev, N., Haque, R., Klein, D.C., & Chaurasia, S.S. (2005). Circadian clocks, clock networks, arylalkylamine N-acetyltransferase, and melatonin in the retina. Progress in Retinal and Eye Research, 24(4), 433–456.

Jablonski, K.L., Chonchol, M., Pierce, G.L., Walker, A.E., & Seals, D.R. (2011). 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults. Hypertension, 57(1), 63-69.

Jackson, D.M., Anden, N.E., & Dahlström, A. (1975). A functional effect of dopamine in the nucleus accumbens and in some other dopamine-rich parts of the rat brain. Psychopharmacologia, 45(2), 139-149.

Jacobs, B.L., & Azmitia, E.A. (1992). Structure and function of the brain serotoninergic system. Physiological Reviews, 72(1), 165-229.

Jagota, A., de la Iglesia, H.O., & Schwartz, W.J. (2000). Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro. Nature Neuroscience, 3(4), 372–376.

Japha, J.L., Eder, T.J., & Golsmith, E.D. (1976). Calcified inclusions in the superficial pineal gland of the mongolian gerbil, Meriones unguiculatus. Acta Anatomica, 94(4), 533-544.

Nuszkiewicz, J., Wozniak, A., Szewczyk-Golec, K. (2020) Ionizing radiation as a source of oxidative stress-the protective role of melatonin and vitamin D. International Journal of Molecular Science, 21(16), 5804.

Jayawickreme, S.P., Green, W.N., & Claudio, T. (1994). Cyclic AMP-regulated AChR assembly is independent of AChR subunit phosphorylation by PKA. Journal of Cell Science, 107(6), 1641–1651.

Jia, N., Sun, Q., Su, Q., & Chen, G. (2016). SIRT1-mediated deacetylation of PGC1α attributes to the protection of curcumin against glutamate excitotoxicity in cortical neurons. Biochemical and Biophysical Research Communications, 478(3), 1376-1381.

Jiang, G.C., Yohrling, G.J., Schmitt, J.D., & Vrana, K.E. (2000). Identification of substrate orienting and phosphorylation sites within tryptophan hydroxylase using homology-based molecular modeling. Journal of Molecular Biology, 302(4), 1005-1017.

Johansen, P.A., Jennings, I., Cotton, R.G., & Kuhn, D.M. (1996). Phosphorylation and activation of tryptophan hydroxylase by exogenous protein kinase A. Journal of Neurochemistry, 66(2), 817-823.

Johnson, J.A., Grande, J.P., Windebank, A.J., & Kumar, R. (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) receptors in developing dorsal root ganglia of fetal rats. Brain Research Developmental Brain Research, 92(1), 120-124.

Jones, B.E. (2011). Neurobiology of waking and sleeping. Handbook of Clinical Neurology, 98, 131-149.

Joseph, B., Wallen-Mackenzie, A., Benoit, G., Murata, T., Joodmardi, E., Okret, S., & Perlmann, T. (2003). p57(Kip2) cooperates with Nurr1 in developing dopamine cells. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 100(26), 15619-15624.

Jung, D., & Vollrath, L. (1982). Structural dissimilarities in different regions of the pineal gland of Pirbright white guinea-pigs. Journal of Neural Transmission, 54, 117–128.

Kadkhodaei, B., Ito, T., Joodmardi, E., Mattsson, B., Rouillard, C., Carta, M., … Perlmann, T. (2009). Nurr1 is required for maintenance of maturing and adult midbrain dopamine neurons. The Journal of Neuroscience, 29(50), 15923-15932.

Kamei, Y., Xu, L., Heinzel, T., Torchia, J., Kurokawa, R., Gloss, B., … Rosenfeld, M.G. (1996). A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. Cell, 85(3), 403-414.

Kanamori, K. (2017). In vivo N-15 MRS study of glutamate metabolism in the rat brain. Analytical Biochemistry, 529, 179-192.

Kandalepas, P.C., Mitchell, J.W., & Gillette, M.U. (2016). Melatonin Signal Transduction Pathways Require E-Box-Mediated Transcription of Per1 and Per2 to Reset the SCN Clock at Dusk. PloS One, 11(6), e0157824.

Kaneko, I., Sabir, M.S., Dussik, C.M., Whitfield, G.K., Karrys, A., Hsieh, J.C., … Jurutka, P.W. (2015). 1,25-Dihydroxyvitamin D regulates expression of the tryptophan hydroxylase 2 and leptin genes: implication for behavioral influences of vitamin D. FASEB Journal, 29(9), 4023-4035.

Karbownik, M., Garcia, J.J., Lewinski, A., & Reiter, R.J. (2001). Carninogen-induced, free radical-mediated reduction in microsamal membran fluidity: reversal by Indole-3-propionic acid. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. 33, 73-78.

Karbownik, M., Reiter, R.J. (2000). Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1,9-22.

Kasahara, A.K., Singh, R.J., & Noymer, A. (2013). Vitamin D (25OHD) Serum Seasonality in the United States. PLOS One, 8(6), e65785.

Kathmann, N., von Recum, S., Haag, C., & Engel, R.R. (2000). Electrophysiological evidence for reduced latent inhibition in schizophrenic patients. Schizophrenia Research, 45(1-2), 103-114.

Kay, S.R., & Sandyk, R. (1991). Experimental Models of Schizophrenia. International Journal of Neuroscience, 58(1-2), 69-82.

Kay, S.R., & Sandyk, R. (1991). The relationship of pineal calcification and melatonin secretion to the pathophysiology of tardive dyskinesia and Tourette's syndrome. International Journal of Neuroscience, 58(3-4), 215-247.

Keilhoff, G., Grecksch, G., & Becker, A. (2010). Haloperidol normalized prenatal vitamin D depletion-induced reduction of hippocampal cell proliferation in adult rats. Neuroscience Letters, 476(2), 94-98.

Keinanen, K., Wisden, W., Sommer, B., Werner, P., Herb, A., Verdoorn, V.A. … Seeburg, P.H. (1990). A family of AMPA-selective glutamate receptors. Science, 249(4968), 556-560.

Kelly, R.W., Amato, F., & Seamark, R.F. (1984). N-acetyl-5-methoxy kynurenamine, a brain metabolite of melatonin, is a potent inhibitor of prostaglandin biosynthesis. Biochemical and Biophysical Research Communications, 121(1), 372-379.

Kesby, J.P., Burne, T.H., McGrath, J.J., & Eyles, D.W. (2006). Developmental vitamin D deficiency alters MK 801-induced hyperlocomotion in the adult rat: An animal model of schizophrenia. Biological Psychiatry, 60(6), 591-596.

Kesby, J.P., Cui, X., Ko, P., McGrath, J.J., Burne, T.H., & Eyles, D.W. (2009). Developmental vitamin D deficiency alters dopamine turnover in neonatal rat forebrain. Neuroscience Letters, 461(2),155-158.

Kesby, J.P., Cui, X., O'Loan, J., McGrath, J.J., Burne, T.H., & Eyles, D.W. (2010). Developmental vitamin D deficiency alters dopamine-mediated behaviors and dopamine transporter function in adult female rats. Psychopharmacology, 208(1),159-168.

Kessler, R.C., Berglund, P.A., Coulouvrat, C., Hajak, G., Roth, T., Shahly, V., … Walsh, J.K. (2011). Insomnia and the performance of US workers: results from the America insomnia survey. Sleep, 34(9), 1161–1171.

Khan, S.R., Pearle, M.S., Robertson,W.G., Gambaro, G., Canales, B.K., Doizi, S., Traxer, O., & Tiselius, H.G. (2016). Kidney Stones. Nature Reviews Disease Primers, 2, 16008.

Khavinson, V.Kh., Kopylov, A.T., Vaskovsky, B.V., Ryzhak, G.A. & Linkova, N.S. (2017). Identification of peptide AEDG in the polypeptide complex of the pineal gland. Medicine and Biology Experimental of Bulletin, 164(1), 41-43.

Kim, H.J., Kim, H.J., Bae, M.K., & Kim, Y.D. (2017). Suppression of osteoclastogenesis by melatonin: A melatonin receptor-independent action. International Journal of Molecular Sciences, 18(6), 1142.

Kim, J.S., Kim, Y.I., Song, C., Yoon, I., Park, J.W., Choi, Y.B., … Lee, K.S. (2005). Association of vitamin D receptor gene polymorphism and Parkinson's disease in Koreans. Journal of Korean Medical Science, 20(3), 495-498.

Kim, K.S., Wessel, T.C., Stone, D.M., Carver, C.H., Joh, T.H., & Park, D.H. (1991). Molecular cloning and characterization of cDNA encoding tryptophan hydroxylase from rat central serotonergic neurons. Brain Research Molecular Brain Research, 9(4), 277-283.

King, D.P., Zhao, Y., Sangoram, A.M., Wilsbacher, L.D., Tanaka, M., Antoch, M.P., … Takahashi, J.S. (1997). Positional cloning of the mouse circadian clock gene. Cell, 89(4), 641–653.

Kitkhuandee, A., Sawanyawisuth, K., Johns, N.P., Kanpittaya, J., & Johns, J. (2014). Pineal calcification is associated with symptomatic cerebral infarction. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, 23(2), 249–253.

Knekt, P., Kilkkinen, A., Rissanen, H., Marniemi, J., Saaksjarvi, K., & Heliövaara, M. (2010). Serum vitamin D and the risk of Parkinson disease. Archives of Neurology, 67(7), 808-811.

Knowles, H.J. (2015). Hypoxic regulation of osteoclast differentiation and bone resorption activity. Hypoxia, 3, 73–82.

Ko, P., Burkert, R., McGrath, J., & Eyles, D. (2004). Maternal vitamin D3 deprivation and the regulation of apoptosis and cell cycle during rat brain development. Brain Research Developmental Brain Research, 153(1), 61-68.

Konturek, S.J., Konturek, P.C., Brzozowska, I., Pawlik, M., Sliwowski, Z., Guzik, M.C., … Pawlik, W.W. (2007). Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). Journal of Physiology and Pharmacology: An official Journal of The Polish Physiological Society, 58(3), 381–405.

Kopani, M., Vranikova, B., Kosnac, D., Zeman, M., Sisovsky, V., Polakovicova, S., & Biro, C. (2019). Pineal gland calcification under hypoxic conditions. Physiological Research, 68(4), 405-413.

Korf, H.W., Von-Gall, C., & Stehle, J. (2003) The circadian system and melatonin: lessons from rats and mice. Chronobiol International, 20, 697–710.

Korsching, S., Auburger, G., Heumann, R., Scott, J., & Thoenen, H. (1985). Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. The EMBO Journal, 4(6), 1389-1393.

Kowlessur,D., & Kaufman, S. (1999). Cloning and expression of recombinant human pineal tryptophan hydroxylase in Escherichia coli: purification and characterization of the cloned enzyme. Biochimica et Biophysica Acta, 1434(2), 317-330.

Kozina, L.S., Arutjunyan A.V., & Khavinson, V.Kh. (2007). Antioxidant properties of geroprotective peptides of the pineal gland. Archives Gerontology and Geriatrics, 1, 213-216.

Kozyraki, R., & Gofflot, F. (2007). Multiligand endocytosis and congenital defects: roles of cubilin, megalin and amnionless. Current Pharmaceutical Design, 13(29), 3038-3046.

Kragballe, K., Beck, H.I., & Sogaard, H. (1988). Improvement of psoriasis by a topical vitamin D3 analogue (MC903) in a double-blind study. British Journal of Dermatology, 119(2), 223-230.

Krause, R., Buhring, M., Hopfenmuller, W., Holick, M.F., & Sharma, A.M. (1998). Ultraviolet B and blood pressure. Lancet, 352(9129), 709-710.

Krebs, H.A. (1935). Metabolism of amino-acids: IV. The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia, and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal tissues. Biochemical Journal, 29(8), 1951-1969.

Kreiter, S.R., Schwartz, R.P., Kirkman, H.N., Charlton, P.A., Calikoglu, A.S., & Davenport, M. (2000). Nutritional rickets in African American breast-fed infants. The Journal of Pediatrics, 137(2), 153-157.

Kremer, R., Sebag, M., Champigny, C., Meerovitch, K., Hendy, G.N., White, J., & Goltzman, D. (1996). Identification and characterization of 1,25-dihydroxyvitamin D3-responsive repressor sequences in the rat parathyroid hormone-related peptide gene. The Journal of Biological Chemistry, 271(27), 16310-16316.

Kröncke, K.D., Klotz, L.O., Suschek, C.V., & Sies, H. (2002). Comparing nitrosative versus oxidative stress toward zinc finger-dependent transcription. Unique role for NO. The Journal of Biological Chemitry, 277(15), 13294-13301.

Krstic, R. (1986). Pineal calcification: its mechanism and significance. Journal of neural transmission. Supplementum, 21, 415–432.

Krueger, J.M., Majde, J.A., & Rector, D.M. (2011). Cytokines in immune function and sleep regulation. Handbook of Clinical Neurology, 98, 229-240.

Kuhn, D.M., Arthur, R., & States, J.C. (1997). Phosphorylation and activation of brain tryptophan hydroxylase: identification of serine-58 as a substrate site for protein kinase A. Journal of Neurochemistry, 68(5), 2220-2223.

Kumar, P.T., Antony, S., Nandhu, M.S., Sadanandan, J., Naijil, G., & Paulose, C.S. (2011). Vitamin D3 restores altered cholinergic and insulin receptor expression in the cerebral cortex and muscarinic M3 receptor expression in

pancreatic islets of streptozotocin induced diabetic rats. The Journal of Nutritional Biochemistry, 22(5), 418-425.
Kume, K., Zylka, M.J., Sriram, S., Shearman, L.P., Weaver, D.R., Jin, X., … Reppert, S.M. (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. Cell, 98, 193–205.
Kumer, S.C., Mockus, S.M., Rucker, P.J., & Vrana, K.E. (1997). Amino-terminal analysis of tryptophan hydroxylase: protein kinase phosphorylation occurs at serine-58. Journal of Neurochemistry, 69(4), 1738-1745.
Kunz, D., Bes, F., Schlattmann, P., & Herrmann, W.M. (1998). On pineal calcification and its relation to subjective sleep perception: A hypothesis-driven pilot study. Psychiatry Research: Neuroimaging, 82(3), 187–191.
Kunz, D., Schmitz, S., Mahlberg, R., Mohr, A., Stöter, C., Wolf, K.J., & Herrmann, W.M. (1999). A new concept for melatonin deficit: on pineal calcification and melatonin excretion. Neuropsychopharmacology, 21, 765-772.
Lahiri, D.K. (1999). Melatonin affects the metabolism of the beta-amyloid precursor protein in different cell types. Journal of Pineal Research, 26(3), 137-146.
Lambert, G.W., Reid, C., Kaye, D.M., Jennings, G.L., & Esler, M.D. (2002). Effect of sunlight and season on serotonin turnover in the brain. Lancet, 360(9348), 1840-1842.
Langub, M.C., Herman, J.P., Malluche, H.H., & Koszewski, N.J. (2001). Evidence of functional vitamin D receptors in rat hippocampus. Neuroscience, 104(1), 49-56.
Laruelle, M., Frankle, W.G., Narendran, R., Kegeles, L.S., & Dargham, A.A. (2005). Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. Clinical Therapeutics, 27(1), 16-24.
Laudon, M., Nir, I., & Zisapel, N. (1988). Melatonin receptors in discrete brain areas of the male rat. Neuroendocrinology, 48(6), 577-583.
Launay, J.M., Lemaitre, B.J., Husson, H.P., Dreux, C., Hartmann, L., & Prada, M.D. (1982). Melatonin synthesis by rabbit platelets. Life Sciences, 31(14), 1487-1494.
Ledley, F.D., Grenett, H.E., Bartos, D.P., Tuinen, P., Ledbetter, D.H., & Woo, S.L. (1987). Assignment of human tryptophan hydroxylase locus to chromosome 11: gene duplication and translocation in evolution of aromatic amino acid hydroxylases. Somatic Cell and Molecular Genetics 13(5), 575-580.
Lee, B.H., Hille, B., & Koh, D.S. (2021). Serotonin modulates melatonin synthesis as an autocrine neurotransmitter in the pineal gland. Proceeding of The National Academy of Sciences of The United States of America, 118(43), e2113852118.
Lee, E.J., Lee, M.Y., Chen, H.Y., Hsu, Y.S., Wu, T.S., Chen, S.T., & Chang, G.L. (2005). Melatonin attenuates gray and white matter damage in a mouse model of transient focal cerebral ischemia. Journal of Pineal Research, 38(1), 42-52.
Lee, J., Yoon, Y., & Lee, S. (2017). Hypoxic preconditioning promotes the bioactivities of mesenchymal stem cells via the HIF-1-GRP78-Akt axis. International Journal of Molecular Sciences, 18(6), 1320.

Lee, S.J., Jung, Y.H., Oh, S.Y., Yun, S.P., & Han, H.J. (2014). Melatonin enhances the human mesenchymal stem cells motility via melatonin receptor 2 coupling with Gαq in skin wound healing. Journal of Pineal Research, 57(4), 393–407.

Leeboonngam, T., Pramong, R., Saeung, K., Govitrapong, P., & Pujito, P.P. (2017). Neuroprotective effects of melatonin on amphetamine-induced dopaminergic fiber degeneration in the hippocampus of postnatal rats. Journal of Pineal Research, 64(3), e12456.

Leon, J., Escames, G., Rodriguez, M.I., Lopez, L.C., Tapias, V., Entrena, A., … Acuna-Castroviejo, D. (2006). Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N1-acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin. Journal of Neurochemistry, 98, 2023-2033.

Leon, J., Vives, F., Gomez, I., Camacho, E., Gallo, M.A., Espinosa, A., … Acuna-Castroviejo, D. (1998). Modulation of rat striatal glutamatergic response in search for new neuroprotective agents: evaluation of melatonin and some kynurenine derivatives. Brain Research Bulletin, 45(5), 525-530.

Lerner, A. B. (1961). Hormones and skin color. Scientific American, 205, 98–108.

Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., & Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. Journal of the American Chemical Society, 80(10), 2587-2587.

Levine, E.S., & Jacobs, B.L. (1992). Neurochemical afferents controlling the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus: microiontophoretic studies in the awake cat. The Journal of Neuroscience, 12(10), 4037–4044.

Levine, R.L., Hanson, J.M., & Nickles, R.J. (1994). Cerebral vasocapacitance in human aging. Journal of Neuroimaging, 4(3), 130-136.

Levoye, A., Dam, J., Ayoub, M.A., Guillaume, J.C., Couturier, C., Delagrange, P., & Jockers, R. (2006). The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization. The EMBO Jorunal, 25, 3012-3023.

Levoye, A., Dam, J., Ayoub, M.A., Guillaume, J.L., Couturier, C., Delagrange, P., & Jockers, R. (2006). The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization. The EMBO Jorunal, 25(13), 3012-3023.

Lewy, A.J., & Newsome, D.A. (1983). Different types of melatonin circadian secretory rhythms in some blind subjects. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 56(6), 1103–1107.

Lewy, A.J., Ahmed, S., Jackson, J.M., & Sack, R.L. (1992). Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase-response curve. Chronobiol International, 9(5), 380–392.

Li, D.Y., Smith, D.G., Hardeland, R., Yang, M.Y., Xu, H.L., Zhang, L., … Zhu, Q. (2013). Melatonin receptor genes in vertebrates. International Journal of Molecular Sciences, 14(6), 11208-11223.

Li, J., Hand, L.E., Meng, Q.J., Loudon, A.S., & Bechtold, D.A. (2011). GPR50 interacts with TIP60 to modulate glucocorticoid receptor signalling. PLoS One, 6(8), e23725.

Li, J.H., Yu, J.P., Yu, H.G., Xu, X.M., Yu, L.L., Liu, J., & Luo, H.S. (2005). Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis. Mediators of Inflammation, 2005(4), 185-193.

Li, L., Jaiswal, P.K., Makhoul, G., Jurakhan, R., Selvasandran, K., Ridwan, K., & Cecere, R. (2017). Hypoxia modulates cell migration and proliferation in placenta-derived mesenchymal stem cells. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 154(2), 543–552.

Li, X.C., Wang, Z.F., Zhang, J.X., Wang, Q., & Wang, J.Z. (2005). Effect of melatonin on calyculin A-induced tau hyperphosphorylation. European Journal of Pharmacology, 510(1-2), 25-30.

Li, Y., Kong, J., Wei, M., Chen, Z.F., Liu, S., & Cao, L.P. (2002). 1, 25-dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. The Journal of Clinical Investigation, 110, 229-238.

Lieberherr, M. (1987). Effects of vitamin D3 metabolites on cytosolic free calcium in confluent mouse osteoblasts. The Journal of Biological Chemitry, 262(27), 13168–13173.

Lilja, B. (1948). The tentorial pressure cone, its significance and its diagnosis through dislocation of the calcified pineal body. Acta Radiologica, 30(1-2), 129-151.

Liljequist, S., Ossowska, K., Ande, M.G., & Ande, N.E. (1991). Effect of the NMDA receptor antagonist, MK-801, on locomotor activity and on the metabolism of dopamine in various brain areas of mice. European Journal of Pharmacology, 195(1), 55-61.

Lin, A.M., Fan, S.F., Yang, D.M., Hsu, L.L., & Yang, C.H. (2003). Zinc-induced apoptosis in substantia nigra of rat brain: neuroprotection by vitamin D3. Free Radical Biology & Medicine, 34(11), 1416-1425.

Liu, C., Weaver, D.R., Jin, X., Shearman, L.P., Pieschl, R.L., Gribkoff, V.K., & Reppert, S.M. (1997). Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock. Neuron, 19(1), 91–102.

Liu, H., He, Y., Beck, J., Teixeira, S.S., Harrison, K., Xu, Y., & Sisley, S. (2021). Defining vitamin D receptor expression in the brain using a novel VDRCre mouse. The Journal of Comparative Neurolology, 529(9), 2362-2375.

Liu, N., Sun, S., Wang, P., Sun, Y., Hu, Q., & Wang, X. (2021). The mechanism of secretion and metabolism of gut-derived 5-hydroxytryptamine. International Journal of Molecular Sciences, 22(15), 793.

Liu, R.Y., Zhou, J.N., Heerikhuize, J., Hofman, M.A., Swaab, D.F. (1999). Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4/4 genotype. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 84(1), 323–327.

Liu, Z., Gan, L., Xu, Y., Luo, D., Ren, Q., Wu, S., & Sun, C. (2017). Melatonin alleviates inflammasome-induced pyroptosis through inhibiting NF-kB/GSDMD signal in mice adipose tissue. Journal of Pineal Research, 63(1), e12414.

Lotfi, A., Nasser, A.M.A., Hamdy, A., Omran, A.A., & Rehany, M.A. (2007). Hypovitaminosis D in female patients with chronic low back pain. ClinİCAL Rheumatology, 26(11), 1895-1901.

Low-Zeddies, S.S., & Takahashi, J.S. (2001). Chimera analysis of the Clock mutation in mice shows that complex cellular integration determines circadian behavior. Cell, 105(1), 25–42.

Lucas, D.A., Sabir, S.B., Mallick, S., Whitfiel, G.K., Haussler, M.R., & Jurutka, P.W. (2018). Vitamin D sitimulates serotonin production via induction of the

tryptophan hydroxylase 2 isoform in B14 rat medullary neurons. FASEB Journal, 32(1), 155.
Lukaszyk, A., & Reiter, R.J. (1975). Morphological basis for polypeptide hormone secretion by the pineal body of macacus rhesus. Endokrynologia Polska, 26(6), 603–611.
Lück, G., Hoch, W., Hopf, C., & Blottner, D. (2000). Nitric oxide synthase (NOS-1) coclustered with agrin-induced AChR-specializations on cultured skeletal myotubes. Molecular and Cellular Neurosciences, 16(3), 269–281.
Macchi, M.M., & Bruce, J.N. (2004). Human pineal physiology and functional significance of melatonin. Frontiers in neuroendocrinology, 25(3-4), 177–195.
MacDermott, A.B., Mayer, M.L., Westbrook, G.L., Smith, S.J., & Barker, J.L. (1986). NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. Nature, 321, 519-522.
Macpherson, P., & Matheson, M.S. (1979). Comparison of calcification of pineal, habenular commissure and choroidplexus on plain films and computed tomography. Neuroradiology, 18, 67–72.
Magnusson, A., & Boivin, D. (2003). Seasonal affective disorder: an overview. Chronobiology International, 20(2), 189–207.
Mahlberg, R., Walther, S., Kalus, P., Bohner, G., Haedel, S., Reischies, F.M., … Kunz, D. (2008). Pineal calcification in Alzheimer's disease: an in vivo study using computed tomography. Neurobiology of Aging, 29(2), 203-209.
Mahmous, S., Gharagozloo, M., Simard, C., & Gris, D. (2019). Astrocytes maintain glutamate homeostasis in the CNS by controlling the balance between glutamate uptake and release. Cells, 8(2), 184.
Mailliet, F., Ferry, G., Vella, F., Berger, S., Coge, F., Chomarat, P., … Boutin, J.A. (2005). Characterization of melatoninergic MT3 binding site on the NRH: quinone oxidoreductase 2 enzyme. Biochemical Pharmacology, 71(1-2), 74-88.
Malabanan, A., Veronikis, I.E., & Holick, M.F. (1998). Redefining vitamin D insufficiency. Lancet, 351(9105), 805-806.
Malek, Z.S., Dardente, H., Pevet, P., & Raison, S. (2005). Tissue-specific expression of tryptophan hydroxylase mRNAs in the rat midbrain: anatomical evidence and daily profiles. The Europan Journal of Neuroscience, 22(4), 895-901.
Malone, R.W., & Kessenich, C. (2008). Vitamin D deficiency: implications across the lifespan, the journal for nurse practitioners. The Journal of Nurse Practitioners, 4(6), 448-454.
Mann, J.J., McBride, P.A., Anderson, G.M., & Mieczkowski, T.A. (1992). Platelet and whole blood serotonin content in depressed inpatients: correlations with acute and life-time psychopathology. Biological Psychiatry, 32(3), 243-257.
Manolagas, S.C., Provvedini, D.M., & Tsoukas, C.D. (1985). Interactions of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and the immune system. Molecular and Cellular Endocrinology, 43(2-3), 113-122.
Maria, S., & Witt-Enderby, P.A. (2014). Melatonin effects on bone: Potential use for the prevention and treatment for osteopenia, osteoporosis, and periodontal disease and for use in bone-grafting procedures. Journal of Pineal Research, 56(2), 115–125.

Maria, S., Samsonraj, R.M., Munmun, F., Glas, J., Silvestros, M., Kotlarczyk, M.P., … Witt-Enderby, P.A. (2017). Biological effects of melatonin on osteoblast/osteoclast cocultures, bone, and quality of life: Implications of a role for MT2 melatonin receptors, MEK1/2, and MEK5 in melatonin-mediated osteoblastogenesis. Journal of Pineal Research, 64(3), e12465.

Maria, S., Swanson, M.H., Enderby, L.T., D'Amico, F., Enderby, B., Samsonraj, R.M., … Witt-Enderby, P.A. (2017). Melatonin-micronutrients Osteopenia Treatment Study (MOTS): A translational study assessing melatonin, strontium (citrate), vitamin D3 and vitamin K2 (MK7) on bone density, bone marker turnover and health related quality of life in postmenopausal osteopenic women following a one-year double-blind RCT and on osteoblast-osteoclast co-cultures. Aging, 9(1), 256–285.

Marini, F., Bartoccini, E., Cascianelli, G., Voccoli, V., Baviglia, M.G., Magni, M.V., … Albi, E. (2010.) Effect of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in embryonic hippocampal cells. Hippocampus, 20(6), 696–705.

Martin, V., Herrera, F., Carrera-Gonzalez, P., Garcia-Santos, G., Antolin, I., Rodriguez-Blanco, J., & Rodriguez, C. (2006). Intracellular signaling pathways involved in the cell growth inhibition of glioma cells by melatonin. Cancer Research, 66(2), 1081-1088.

Martínez, A., Knappskog, P.M., & Haavik, J. (2001). A structural approach into human tryptophan hydroxylase and its implications for the regulation of serotonin biosynthesis. Current Medicinal Chemistry, 8(9), 1077-1091.

Martinez, G.R., Almeida, E.A., Klitzke, C.F., Onuki, J., Prado, F.M., Medeiros, M.H., & Mascio, P. (2005). Measurement of melatonin and its metabolites: importance for the evaluation of their biological roles. Endocrine, 27(2), 111-118.

Martinez-Cruz, F., Osuna, C., & Guerrero, J.M. (2006). Mitochondrial damage induced by fetal hyperphenylalaninemia in the rat brain and liver: its prevention by melatonin, Vitamin E, and Vitamin C. Neuroscience Letters, 392(1-2). 1-4.

Masana, M.I., & Dubocovich, M.L. (2001). Melatonin receptor signaling: Finding the Path through the Dark. Science's STKE: signal transduction knowledge environment, 2001(107), pe39.

Maslinska, D., Laure-Kamionowska, M., Deręgowski, K., & Maslinski, S. (2010). Association of mast cells with calcification in the human pineal gland. Folia Neuropathologica, 48(4), 276–282.

Maslinska, D., Laure-Kamionowska, M., Deręgowski, K., & Maslinski, S. (2010). Association of mast cells with calcification in the human pineal gland. Folia Neuropathologica, 48(4), 276–282.

Massa, J., Stone, K.L., Wei, E.K., Harrison, S.L., Connor, E.B., Lane, N.E., … Schernhammer, E. (2015). Vitamin D and actigraphic sleep outcomes in older community-dwelling men: the MrOS sleep study. Sleep, 38(2), 251-257.

Mathieu, C., & Adorini, L. (2002). The coming of age of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 analogs as immunomodulatory agents. Trends in Molecular Medicine, 8(4), 174-179.

Mathieu, C., Waer, M., Laureys, J., Rutgeerts, O., & Bouillon, R. (1994). Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1, 25 dihydroxyvitamin D3. Diabetologia, 37, 552–558.

Matkovits, T., & Christakos, S. (1995). Ligand occupancy is not required for vitamin D receptor and retinoid receptor-mediated transcriptional activation. Molecular Endocrinology, 9(2), 232-242.

Mayer, M.L., Westbrook, G.L., & Guthrie, P.B. (1984). Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. Nature, 309, 261-263.

Mazzucchelli, C., Pannacci, M., Nonno, R., Lucini, V., Fraschini, F., & Stankov, B.M. (1996). The melatonin receptor in the human brain: cloning experiments and distribution studies. Brain research. Molecular Brain Research, 39(1-2), 117–126.

McArthur, A.J., Gillette, M.U., & Prosser, R.A. (1991). Melatonin directly resets the rat suprachiasmatic circadian clock in vitro. Brain Research, 565(1), 158–161.

McGrath, J., Feron, F., Eyles, D., & Mackay-Sim, A. (2001). Vitamin D: the neglected neurosteroid? Trends in Neuroscience, 24(10), 570-572.

McGrath, J., Iwazaki, T., Eyles, D., Burne, T., Cui, X., Ko, P., & Matsumoto, I. (2008). Protein expression in the nucleus accumbens of rats exposed to developmental vitamin D deficiency. Plos One, 3(6), e2383.

McGrath, J.J., Burne, T.H., Feron, F., Mackay-Sim, A., & Eyles, D.W. (2010). Developmental vitamin D deficiency and risk of schizophrenia: a 10-year update. Schizophrenia Bulletin, 36(6), 1073-1078.

McGrath, J.J., Eyles, D.W., Pedersen, C.B., Anderson, C., Ko, P., Burne, T.H., … Mortensen, P.B. (2010). Neonatal vitamin D status and risk of schizophrenia: a population-based case-control study. Archives of General Psychiatry, 67(9), 889-894.

McKinney, J., Teigen, K., Froystein, N.A., Salaün, C., Knappskog, P.M., Haavik, J., & Martínez, A. (2001). Conformation of the substrate and pterin cofactor bound to human tryptophan hydroxylase. Important role of Phe313 in substrate specificity. Biochemistry, 40(51), 15591-15601.

McMahon, D.G., Iuvone, P.M., & Tosini, G. (2014). Circadian organization of the mammalian retina: from gene regulation to physiology and diseases. Progress in Retinal and Eye Research, 39, 58–76.

Meek, J.L., & Neff, N.H. (1972). Tryptophan 5-hydroxylase: approximation of half-life and rate of axonal transport. Journal of Neurochemistry, 19(6), 1519-1525.

Mehta, A., Prabhakar, M., Kumar, P., Deshmukh, R., & Sharma, P.L. (2012). Excitotoxicity: Bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. Europan Journal of Pharnacology, 698(1-3), 6-18.

Mehta, R.G., & Mehta, R.R. (2002). Vitamin D and cancer. The Journal of Nutritional Biochemistry, 13(5), 252-264.

Melcangi, R.C., & Panzica, G. (2009). Neuroactive steroids: an update of their roles in central and peripheral nervous system. Psychoneuroendocrinology, 34(1), 1-8.

Menegaz, D., Mizwicki, M.T., Barrientos-Duran, A., Chen, N., Henry, H.L., & Norman, A.W. (2011). Vitamin D receptor (VDR) regulation of voltage-gated chloride channels by ligands preferring a VDR-alternative pocket (VDR-AP). Molecular Endocrinology, 25(8), 1289-1300.

Messner, M., Hardeland, R., Rodenbeck, R., & Huether, G. (1998). Tissue retention and subcellular distribution of continuously infused melatonin in

rats under near physiological conditions. Journal of Pineal Research, 25, 251-259.

Meyer, P., Pache, M., Loeffler, K.U., Brydon, L., Jockers, R., Flammer, J., … Savaskan, E. (2002). Melatonin MT-1-receptor immunoreactivity in the human eye. British Journal of Ophthalmology, 86(9), 1053-1057.

Miguez, J.M., Martin, F.J., & Aldegunde, M. (1994). Effects of single and daily melatonin treatments on serotonin metabolism in rat brain regions. Jornal of Pineal Research, 17(4), 170-176.

Miguez, J.M., Martin, F.J., & Aldegunde, M. (1995). Effects of pinealectomy and melatonin treatments on serotonin uptake and release from synaptosomes of rat hypothalamic regions. Neurochemical Research, 20, 1127-1132.

Miguez, J.M., Martin, F.J., & Aldegunde, M. (1997). Melatonin effects on serotonin synthesis and metabolism in the striatum, nucleus accumbens, and dorsal and median raphe nuclei of rats. Neurochemical Research, 22(1), 87-92.

Miguez, J.M., Martin, F.J., Lema, M., and Aldegunde, M. (1996), Changes in serotonin level and turnover in discrete hypothalamic nuclei after pinealectomy and melatonin administration to rats. Neurochemistry International, 29(6), 651-658.

Moffitt, T.E., Brammer, G.L., Caspi, A., Fawcett, J.P., Raleigh, M., Yuwiler, A., & Silva, P. (1998). Whole blood serotonin relates to violence in an epidemiological study. Biological Psychiatry, 43(6), 446-457.

Moghadamnia, A.A., Hakiminia, S., Baradaran, M., Kazemi, S., & Ashrafpour, M. (2015). Vitamin D Improves Learning and Memory Impairment in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. Archives of Iranian Medicine, 18(6), 362-366.

Mollaoğlu, H., & Özgüner, M.F. (2005). Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 12, 52-56.

Moore, T.B., Koeffler, H.P., Yamashiro, J.M., & Wada, R.K. (1996). Vitamin D3 analogs inhibit growth and induce differentiation in LA-N-5 human neuroblastoma cells. Clinical & Experimental Metastasis, 14(3), 239-245.

Morgan, P.J. (2000). The pars tuberalis: the missing link in the photoperiodic regulation of prolactin secretion? Journal of Neuroendocrinology, 12(4), 287–295.

Moriyoshi, K., Masu, M., Ishii, T., Shigemeto, R., Mizuno, N., & Nakanishi, S. (1991). Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. Nature, 354, 31-37.

Moriyoshi, K., Masu, M., Takahiro, I., Shigemoto, R., Mizuno, N., & Nakanishi, S. (1991). Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. Nature, 354, 31-37.

Motta-Teixeira, L.C., Machado-Nils, A.V., Battagello, D.S., Diniz, G.B., Andrade-Silva, J., Jr, S.S., … Cipolla-Neto, J. (2018). The absence of maternal pineal melatonin rhythm during pregnancy and lactation impairs offspring physical growth, neurodevelopment, and behavior. Hormones and Behavior, 105, 146-156.

Mrvelj, A., & Womble, M.D. (2020). Fluoride-free diet stimulates pineal growth in aged male rats. Biological Trace Element Research, 197(1), 175-183.

Mure, L.S., Le, H.D., Benegiamo, G., Chang, M.W., Rios, L., Jillani, N., … Panda, S. (2018). Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues. Science (New York, N.Y.), 359(6381), eaao0318.

Muscogiuri, G., Barrea, L., Scannapieco, M., Somma, C.D., Scacchi, M., Aimaretti, G., … Marzullo, P. (2019). The lullaby of the sun: the role of vitamin D in sleep disturbance. Sleep Medicine, 54, 262-265.

Muscogiuri, G., Barrea, L., Scannapieco, M., Somma, C., Scacchi, M., Aimaretti, G., … Marzullo, P. (2018). The lullaby of the sun: the role of vitamin D in sleep disturbance. Sleep Medicine, 54, 262-265.

Musiol, I.M., Stumpf, W.E., Bidmon, H.J., Heiss, C., Mayerhofer, A., & Bartke, A. (1992). Vitamin D nuclear binding to neurons of the septal, substriatal and amygdaloid area in the Siberian hamster (Phodopus sungorus) brain. Neuroscience, 48(4), 841-848.

Musshoff, U., Riewenherm, D., Berger, E., Fauteck, J.D., & Speckmann, E.J. (2002). Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations. Hippocampus, 12(2), 165–173.

N.J. Prado, et al., Antiarrhythmic effect linked to melatonin cardiorenal protection involves AT1 reduction and Hsp70-VDR increase, J. Pineal Res. 65 (2018) e12513.

Nagy, L., Kao, H.Y., Chakravarti, D., Lin, R.J., Hassig, C.A., Ayer, D.E., … Evans, R.M. (1997). Nuclear receptor repression mediated by a complex containing SMRT, mSin3A, and histone deacetylase. Cell, 89(3), 373-380.

Nakagawa, H., Isaki, K., Sack, R.L., & Lewy, A.J. (1992). Free-running melatonin, sleep propensity, cortisol and temperature rhythms in a totally blind person. The Japanese Journal of Psychiatry and Neurology, 46(1), 210–212.

Nam, Y., Shin, E.J., Shin, S.W., Lim, Y.K., Jung, J.H., Lee, J.H., … Kim, H.C. (2014). YY162 prevents ADHD-like behavioral side effects and cytotoxicity induced by Aroclor1254 via interactive signaling between antioxidant potential, BDNF/TrkB, DAT and NET. Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for The British Industrial Biological Research Association, 65, 280–292.

Nan Fang, Chunyi Hu, Wenqi Sun, Ying Xu, Yeqi Gu, Le Wu, Qing Peng, Russel J. Reiter, Lifeng Liu. Identification of a novel melatonin-binding nuclear receptor: Vitamin D receptor. J Pineal Res. 2020;68:e12618.

Naveilhan, P., Neveu, I., Baudet, C., Ohyama, K.Y., Brachet, P., & Wion, D. (1993). Expression of 25(OH) vitamin D3 24-hydroxylase gene in glial cells. Neuroreport, 5(3), 255-257.

Nemere, I., & Hintze, K. (2008). Novel hormone "receptors". Journal of Cellular Biochemistry, 103(2), 401-407.

Neumeyer, A.M., Gates, A., Ferrone, C., Lee, H., & Misra, M. (2013). Bone density in peripubertal boys with autism spectrum disorders. Journal of Autism Developmental Disorders, 43(7), 1623-1629.

Neveu, I., Naveilhan, P., Baudet, C., Brachet, P., & Metsis, M. (1994). 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulates NT-3, NT-4 but not BDNF mRNA in astrocytes. Neuroreport, 6(1), 124-126.

Neveu, I., Naveilhan, P., Menaa, C., Wion, D., Brachet, P., & Garabédian, M. (1994). Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 by rat brain macrophages in vitro. Journal of Neuroscience Research, 38(2), 214-220.

New, D.C., Tsim, S.T., & Wong, Y.H. (2003). G protein-linked effector and second messenger systems involved in melatonin signal transduction. Neuro-Signals, 12(2), 59–70.

Newmark, H.L., & Newmark, J. (2007). Vitamin D and Parkinson's disease--a hypothesis. Movement Disorder: Offical Journal of The Movement Disorder Society, 22(4), 461-468.

Nexon, L., Poirel, V.J., Clesse, D., Pevet, P., & Raison, S. (2009). Complex regional influence of photoperiod on the nycthemeral functioning of the dorsal and median raphé serotoninergic system in the Syrian hamster. The Europan Journal of Neuroscience, 30(9), 1790-1801.

Nichols, C.D. (2006). Drosophila melanogaster neurobiology, neuropharmacology, and how the fly can inform central nervous system drug discovery. Pharmacology & Therapeutics, 112(3), 677-700.

Nichols, D.E. (2017). N,N-dimethyltryptamine and the pineal gland: separating fact from myth. Journal of Psychopharmacology, 32(1), 30-36.

Nichols, D.E., & Nichols, C.D. (2008). Serotonin Receptors. Chemical Reviews, 108(5), 1614-1641.

Nielsen, D.A., Dean, M., & Goldman, D. (1992). Genetic mapping of the human tryptophan hydroxylase gene on chromosome 11, using an intronic conformational polymorphism. American Journal of Human Genetics, 51(6), 1366-1371.

Nir, I., Behroozi, K., Assael, M., Ivriani, L., & Sulman, F.G. (1969). Changes in electrical activity of the brain following pinealectomy. Neuroendocrinology, 4, 122-127.

Norman, A.W., Olivera, C.J., Silva, F.R.M.B., & Bishop, J.E. (2002). A specific binding protein/receptor for 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) is present in an intestinal caveolae membrane fraction. Biochemical and Biophysical Research Communications, 298(3), 414-419.

Nosjean, O., Ferro, M., Coge, F., Beauverger, P., Henlin, J.M., Lefoulon, F., … Boutin, J.A. (2000). Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. The Journal of Biological Chemistry, 275(40), 31311–31317.

Nowak, J.Z., & Zawilska, J.B. (1998). Melatonin and its physiological and therapeutic properties. Pharmacy World & Science, 20(1), 18–27.

Obayashi, K., Saeki, K., & Kurumatani, N. (2014). Association between urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion and arterial stiffness in the general elderly population: The HEIJO-KYO cohort. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 99, 3233-3239.

Oishi, K., Fukui, H., & Ishida, N. (2000). Rhythmic expression of BMAL1 mRNA is altered in Clock mutant mice: differential regulation in the suprachiasmatic nucleus and peripheral tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications, 268(1), 164–171.

Okamura, H., Miyake, S., Sumi, Y., Yamaguchi, S., Yasui, A., Muijtjens, M., … van der Horst, G.T. (1999). Photic induction of mPer1 and mPer2 in cry-deficient mice lacking a biological clock. Science (New York, N.Y.), 286(5449), 2531–2534.

Okura, K., Lavigne, G.J., Huynh, N., Manzini, C., Fillipini, D., & Montplaisir, J.Y. (2008). Comparison of sleep variables between chronic widespread

musculoskeletal pain, insomnia, periodic leg movements syndrome and control subjects in a clinical sleep medicine practice. Sleep Medicine, 9(4), 352-361.

Oliveira, D.L., Hirotsu, C., Tufik, S., & Andersen, M.L. (2017). The interfaces between vitamin D, sleep and pain. The Journal of Endocrinology, 234(1), 23-36.

O'Loan, J., Eyles, D.W., Kesby, J., Ko, P., McGrath, J.J., & Burne, T.H. (2007). Vitamin D deficiency during various stages of pregnancy in the rat; its impact on development and behaviour in adult offspring. Psychoneuroendocrinology, 32(3), 227-234.

O'Loan, J., Eyles, D.W., Kesby, J., Ko, P., McGrath, J.J., & Burne, T.H. (2007). Vitamin D deficiency during various stages of pregnancy in the rat; its impact on development and behaviour in adult offspring. Psychoneuroendocrinology, 32(3), 227-234.

Olsen, G.M., & Sonnewald, U. (2014). Glutamate: Where does it come from and where does it go?. Neurochemistry İnternational, 88,47-52.

Ostrowska, Z., Kudla, B.K., Swietochowska, E., Marek, B., Kajdaniuk, D., & Kopacz, N.C. (2001). Influence of pinealectomy and long-term melatonin administration on GH-IGF-I axis function in male rats. Neuro Endocrinology Letters, 22(4), 255-262.

Özçelik, F., Erdem, M., Bolu, A., & Gülsün, M. (2013). Melatonin: genel özellikleri ve psikiyatrik bozukluklardaki rolü. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, 5(2), 179-203.

Özgüner, F., Özcankaya, R., Delibaş, N., Koyu, A., & Çalışkan S. (1995). Melatonin ve klinik önemi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2(4), 1-6.

Palaoğlu, S., & Beşkonaklı, E. (1998). Pineal bez ve yaşlanma. Turkish Journal of Geriatrics, 1(1), 13-18.

Palm, L., Blennow, G., & Wetterberg, L. (1991). Correction of non-24-hour sleep/wake cycle by melatonin in a blind retarded boy. Annals of Neurology, 29(3), 336–339.

Paltsev, M.A., Polyakova, V.O., Kvetnoy, I.M., Anderson, G., Kvetnaia, T.V., Linkova, N.S., … Mazzoccoli, G. (2016). Morphofunctional and signaling molecules overlap of the pineal gland and thymus: role and significance in aging. Oncotarget, 7, 11972–11983.

Pandi-Perumal, S.R., Trakht, I., Srinivasan, V., Spence, D.W., Maestroni, G.J.M., Zisapel, N., & Cardinali, D.P. (2008). Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. Progress in Neurobiology, 85(3), 335-353.

Pando, M.P., Morse, D., Cermakian, N., & Sassone-Corsi, P. (2002). Phenotypic rescue of a peripheral clock genetic defect via SCN hierarchical dominance. Cell, 110(1), 107–117.

Pappolla, M., Bozner, P., Soto, C., Shao, H., Robakis, N.K., Zagorski, M., … Ghiso, J. (1998). Inhibition of Alzheimer beta-fibrillogenesis by melatonin. Journal of Biological Chemistry, 273(13), 7185-7188.

Parfitt, A.G., & Klein, D.C. (1976). Sympathetic nerve endings in the pineal gland protect against acute stress-induced increase in N-acetyltransferase (EC 2.3.1.5.) activity. Endocrinology, 99(3), 840–851.

Patel, P.D., Pontrello, C., & Burke, S. (2004). Robust and tissue-specific expression of TPH2 versus TPH1 in rat raphe and pineal gland. Biological Psychiatry, 55(4), 428-433.

Patel, S., Rahmani, B., Gandhi, J., Seyam, O., Joshi, G., Reid, I., … Khan, S.A. (2020). Revisiting the pineal gland: a review of calcification, masses, precocious puberty, and melatonin functions. The International Journal of Neuroscience, 130(5), 464-475.

Patrick, R.P., & Ames, B.N. (2014). Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. FASEB Journal: Offical Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology, 28(6), 2398-2413.

Paula, L.D.A., Lotufo, L.V.C., Ferreira, Z.S., Monteiro, A.E., Isoldi, M.C., Godinho, R.O., & Markus, R.P. (2005). Melatonin modulates rat myotube-acetylcholine receptors by inhibiting calmodulin. European Journal of Pharmacology, 525(1-3), 24–31.

Paula, P., Airaksinen, M.S., Pirvola, U., & Kotilainen, E. (1990). A histamine-containing neuronal system in human brain. Neuroscience, 34(1), 127–132.

Pavel, S., & Petrescu, S. (1966). Inhibition of gonadotrophin by a highly purified pineal peptide and by synthetic arginine vasotocin. Nature, 212, 1054.

Pazos, A., & Palacios, J.M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. 1. Serotonin-1 receptors. Brain Research, 346(2), 205-230.

Pecci-Saavedra, J., Brusco, A,, Peressine, S., & Oliva, D. (1986). A new case for a presynaptic role of dendrites: an immunocytoachemical study of the N. raphe dorsalis. Neurochemical Research, 11, 997-1009.

Peeyush, K.T., Paul, J., Antony, S., & Paulose, C.S. (2011). Expression of cholinergic, insulin, vitamin D receptors and GLUT 3 in the brainstem of streptozotocin induced diabetic rats: effect of treatment with vitamin D_3. Neurochemical Research, 36(11), 2116-2126.

Peeyush, K.T., Savitha, B., Sherin, A., Anju, T.R., Jes, P., & Paulose, C.S. (2010). Cholinergic, dopaminergic and insulin receptors gene expression in the cerebellum of streptozotocin-induced diabetic rats: functional regulation with Vitamin D3 supplementation. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 95(2), 216-222.

Peroutka, S.J., & Howell, T.A. (1994). The molecular evolution of G protein-coupled receptors: focus on 5-hydroxytryptamine receptors. Neuropharmacology, 33(3-4), 319-324.

Pierpaoli, W., & Regelson, W. (1994). Pineal control of aging: effect of melatonin and pineal grafting on aging mice. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(2), 787–791.

Pijnenburg, A.J., & van Rossum, J.M. (1973). Letter: Stimulation of locomotor activity following injection of dopamine into the nucleus accumbens. The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 25(12),1003-1005.

Ping, Z., Wang, Z., Shi, J., Wang, L., Guo, X., Zhou,W., … Geng, D. (2017). Inhibitory effects of melatonin on titanium particle-induced inflammatory bone resorption and osteoclastogenesis via suppression of NF-kB signaling. Acta Biomaterialia, 62, 362–371.

Pintor, J., Pelaez, T., Hoyle, C.H., & Peral, A. (2009). Ocular hypotensive effects of melatonin receptor agonists in the rabbit: further evidence for an MT3 receptor. Biritish Journal of Pharmacology, 138(5), 831-836.

Pitcher, T., Pettifor, J.M., & Buffenstein, R. (1994). The effect of dietary calcium content and oral vitamin D3 supplementation on mineral homeostasis in a subterranean mole-rat Cryptomys damarensis. Bone and Mineral, 27(2), 145-157.

Plotnikoff, G.A., & Quigley, J.M. (2003). Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. Mayo Clinic Proceedings, 78(12), 1463-1470.

Pludowski, P., Holick, M.F., Pilz, S., Wagner, C.L., Hollis, B.W., Grant, W.B., … Soni, M. (2013). Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. Autoimmun Reviews, 12(10), 976-989.

Poeggeler, B., Reiter, R.J., Tan, D.X., Chen, L.D., & Manchester, L.C. (1993). Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis. Journal of Pineal Research, 14, 151-168.

Poeggeler, B., Saarela, S., Reiter, R.J., Tan, D.X., Chen, L.D., Manchester, & L.C., Barlow-Walden, L.R. (1994). Melatonin--a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro. Annals of the Newyork Academy of Sciences, 738,419-20.

Poirel, V.J., Masson-Pevet, M., Pevet, P. & Gauer, F. (2002). MT1 melatonin receptor mRNA expression exhibits a circadian variation in the rat suprachiasmatic nuclei. Brain Research, 946, 64-71.

Poole, K. (2009). Comment on: Hypovitaminosis D among rheumatology outpatients in clinical practice: reply. Rheumatology, 48(2), 1348-1351. .

Potter, G.D., Skene, D.J., Arendt, J., Cade, J.E., Grant, P.J., & Hardie, L.J. (2016). Circadian Rhythm and Sleep Disruption: Causes, Metabolic Consequences, and Countermeasures. Endocrine Reviews, 37(6), 584–608.

Poza, J.J., Pujol, M., Albas, J.J.O., & Romero, O. (2022). Melatonin in sleep disorders. Neurologia, 37(7), 575-585.

Preitner, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERBalpha controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. Cell, 110(2), 251–260.

Prüfer, K., & Jirikowski, G.F. (1997). 1.25-Dihydroxyvitamin D3 receptor is partly colocalized with oxytocin immunoreactivity in neurons of the male rat hypothalamus. Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand), 43(4), 543-548.

Prüfer, K., Veenstra, T.D., Jirikowski, G.F., & Kumar, R. (1999). Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. Journal of Chemical Neuroanatomy, 16(2), 135-145.

Przybylska-Gornowicz, B., Lewczuk, B., Prusik, M., & Bulc, M. (2009). Pineal concretions in turkey (Meleagris gallopavo) as a result of collagen-mediated calcification. Histology and histopathology, 24(4), 407–415.

Pyter, L.M., & Nelson, R.J. (2006). Enduring effects of photoperiod on affective behaviors in Siberian hamsters (Phodopus sungorus). Behavioral Neuroscience, 120(1), 125–134.

Qi, W., Reiter, R.J., Tan, D.X., Garcia,J.J., Manchester, L.C., Karbownik, M., & Calvo J.R. (2000). Chromium(iII)-induced 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA and Its reduction by antioxidants: comparative effects of melatonin, ascorbate, and Vitamin E. Environmental Health Perspectives, 108(5), 399-402.

Qi, W., Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., Siu, A.W., & Garcia,J.J. (2000). Increased level of oxidatively damaged DNA induced by chromium (III) and H2O2: protection by melatonin and related molecules. Journal of Pineal Research, 29, 54-61.

Quay, W.B. (1989). Changes with darkness in regional brain 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindole acetic acid: local differences with pinealectomy, sham surgery, and melatonin. Neurochemical Research, 14, 957-961.

Rachez, C., Lemon, B.D., Suldan, Z., Bromleigh, V., Gamble, M., Naar, A.M., … Freedman, L.P. (1999). Ligand-dependent transcription activation by nuclear receptors requires the DRIP complex. Nature, 398(6730), 824-828.

Rada, J.A.S., & Wiechmann, A.F. (2006). Melatonin receptors in chick ocular tissues: implications for a role of melatonin in ocular growth regulation. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 47(1), 25-33.

Radio, N.M., Doctor, J.S., & Witt-Enderby, P.A. (2006). Melatonin enhances alkaline phosphatase activity in differentiating human adult mesenchymal stem cells grown in osteogenic medium via MT2 melatonin receptors and the MEK/ERK (1/2) signaling cascade. Journal of Pineal Research, 40(4), 332–342.

Rahman, M.K., Nagatsu, T., Sakurai, T., Hori, S., Abe, M., & Matsuda, M. (1982). Effect of pyridoxal phosphate deficiency on aromatic L-amino acid decarboxylase activity with L-DOPA and L-5-hydroxytryptophan as substrates in rats. Japanese journal of pharmacology, 32(5), 803–811.

Ralph, C.L. (1975). The pineal gland and geographical distribution of animals. İnternational Journal of Biometeorology, 19(4), 289-303.

Ramagopalan, S.V., Heger, A., Berlanga, A.J., Maugeri, N.J., Lincoln, M.R., Burrell, A., … Knight, J.C. (2010). A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. Genome Research, 20(10), 1352-1360.

Ramar, K., Malhotra, R.K., Carden, K.A., Martin, J.L., Feinberg, F.A., Aurora, R.N., … Trotti, L.M. (2021). Sleep is essential to health: an American Academy of Sleep Medicine position statement. Journal of Clinical Sleep Medicine, 17(10), 2115-2119.

Razzaque, M.S. (2011). The dualistic role of vitamin D in vascular calcifications. Kidney International, 79(7), 708-714.

Rebelos, E., Tentolouris, N., & Jude, E. (2023). The role of vitamin D in health and disease: A narrative review on the mechanisms linking vitamin D with disease and the effects of supplementation. Drugs, 83(8), 665-685.

Reite, O.B. (1972). Comparative physiology of histamine. Physiological Reviews, 52(3), 778-819.

Reiter, R.J. (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocrine Reviews, 12(1), 151-180.

Reiter, R.J., Acuna-Castroveijo, D., Tan, D.X., & Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. Annals of the Newyork Academy of Sciences, 939, 200-215.

Reiter, R.J., Mayo, J.C., Tan, D.X., Sainz, R.M., Jimenez, M.A., & Qin, L. (2016). Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. Journal of Pineal Research, 61(3), 253-278.

Reiter, R.J., Tan, D.X., & Burkhardt, S. (2002). Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. Mechanisms of Ageing and Development, 123, 1007-1019.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Gitto, E., Sainz, R.M., Mayo, J.C., Leon, J., … Kilic, Ü. (2004). Pharmacologıcal utility of melatonin ın reducing oxidative cellular and molecular damage. Sciences Polish Journal of Pharmacology, 56, 159-170.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Kim, S.J., & Cruz, M.H.C. (2014). Delivery of pineal melatonin to the brain and SCN: role of canaliculi, cerebrospinal fluid, tanycytes and Virchow-Robin perivascular spaces. Brain Structure and Function, 219, 1873–1887.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Kim, S.J., Manchester, L.C., Qi, W., Garcia, J.J., … Garay, V.R. (1999). Augmentation of indices of oxidative damage in life-long melatonin-deficient rats. Mechanisms of Ageing and Development, 110(3), 157–173.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., & Qi, W. (2001). Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence. Cell Biochemistry and Biophysics. 34(2), 237-256.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Leon, J., & Czarnocki, Z. (2003). Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. Acta Biochimica Polonica, 50(4), 1129-1146.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Osuna, C., & Gitto, E. (2000). Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. Journal of Biomedical Science, 7(6), 444-458.

Reiter, R.J., Welsh, M.G., & Vaughan, M.K. (1976). Age-related changes in the intact and sympathetically denervated gerbil pineal gland. American Journal of Anatomy, 146(4), 427-432.

Reppert, S.M. & Weaver, D.R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. Nature, 418, 935-941.

Reppert, S.M., & Weaver, D.R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. Annual Review of Physiology, 63, 647–676.

Reppert, S.M., Godson, C., Mahle, C.D., Weaver, D.R., Slaugenhaupt, S.A., & Gusella, J.F. (1995). Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. Proceedings of The National Academy of Sciences, 92(19), 8734–8738.

Reppert, S.M., Weaver, D.R., & Ebisawa, T. (1994). Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. Neuron, 13(5), 1177–1185.

Reppert, S.M., Weaver, D.R., Ebisawa, T., Mahle, C.D., & Kolakowski Jr, L.F. (1996). Cloning of a melatonin-related receptor from human pituitary. FEBS Letters, 386(2-3), 219–224.

Reynolds, B.A., & Rietze, R.L. (2005). Neural stem cells and neurospheres--re-evaluating the relationship. Nature Methods, 2(5), 333-336.

Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., & Reiter, R.J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. Journal of Pineal Research, 36(1), 1-9.

Rodriguez, M.P.I., Noctor, S.C., & Munoz, E.M. (2016). Cellular basis of pineal gland development: emerging role of microglia as phenotype regulator. Plos One, 11, 12-36.

Roh, J.H., Huang, Y., Bero, A.W., Kasten, T., Stewart, F.R., Bateman, R.J., & Holtzman, D.M. (2012). Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of β-amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology. Science Translational Medicine, 4(150), 150ra122.

Roka, F., Brydon, L., Waldhoer, M., Strosberg, A.D., Freissmuth, M., Jockers, R., & Nanoff, C. (1999). Tight association of the human Mel(1a)-melatonin receptor and G(i): precoupling and constitutive activity. Molecular Pharmacology, 56(5), 1014–1024.

Romano, F., Muscogiuri, G., Benedetto, E., Zhukouskaya, V.V., Barrea, L., Savastano, S., … Somma, C. (2020). Vitamin D and Sleep Regulation: Is there a Role for Vitamin D? Current Pharmaceutical Design, 26(21), 2492-2496.

Roseboom, P.H., Coon, S.L., Baler, R., McCune, S.K., Weller, J.L., & Klein, D.C. (1996). Melatonin synthesis: analysis of the more than 150-fold nocturnal increase in serotonin N-acetyltransferase messenger ribonucleic acid in the rat pineal gland. Endocrinology. 137(7), 3033-3045.

Rosengarten, H., Meller, E., & Friedhoff, A.J. (1972). In vitro enzymatic formation of melatonin by human erythrocytes. Research Communucation in Chemical Pathology and Pharmacology, 4(2), 457-65.

Roy, D., Angelini, N.L., Fujieda, H., Brown, G.M., & Belsham, D.D. (2001). Cyclical regulation of GnRH gene expression in GT1-7 GnRH-secreting neurons by melatonin. Endocrinology, 142(11), 4711–4720.

Römpler, H., Staubert, C., Thor, D., Schulz, A., Hofreiter, M., & Schoneberg, T. (2007). G protein-coupled time travel: Evolutionary aspects of GPCR research. Molecular Interventions, 7(1), 17-25.

Rueda, C.B., Llorente-Folch, I., Traba, J., Amigo, I., Gonzalez-Sanchez, P., Contreras, L., … Satrustegui, J. (2016). Glutamate excitotoxicity and Ca2+ -regulation of respiration: Role of the Ca2+ activated mitochondrial transporters (CaMCs). Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, 1857(8), 1158-1166.

S.M. Hill, et al., Melatonin and associated signaling pathways that control normal breast epithelium and breast cancer, J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 16 (2011) 235–245.

Sabir, M.S., Haussler, M.R., Mallick, S., Kaneko, I., Lucas, D.A., Haussler, C.A., … Jurutka, P.W. (2018). Optimal vitamin D spurs serotonin: 1,25-dihydroxyvitamin D represses serotonin reuptake transport (SERT) and

degradation (MAO-A) gene expression in cultured rat serotonergic neuronal cell lines. Genes & Nutrition,13, 19.

Salami, M., Talaei, S.A., Davari, S., & Taghizadeh, M. (2012). Hippocampal long term potentiation in rats under different regimens of vitamin D: an in vivo study. Neuroscience Letters, 509(1), 56-59.

Sampaio, L.F., Britto, D.E.H., & Markus, R.P. (2005). Influence of melatonin on the development of functional nicotinic acetylcholine receptors in cultured chick retinal cells. Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas, 38(4), 603–613.

Sanchez, B., Relova, J.L., Gallego, R., Ben-Batalla, I., & Perez-Fernandez, R. (2009). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 administration to 6-hydroxydopamine-lesioned rats increases glial cell line-derived neurotrophic factor and partially restores tyrosine hydroxylase expression in substantia nigra and striatum. Jorunal of Neuroscience Research, 87(3), 723-732.

Sandyk, R. (1990). Pineal calcification and subtypes of tardive dyskinesia. International Journal of Neuroscience, 53(2-4), 223-229.

Sandyk, R. (1990). The association of pineal calcification with drug-induced dystonic movements. International Journal of Neuroscience, 53(2-4), 217-222.

Sandyk, R. (1992). Pineal calcification in relation to menopause in schizophrenia. International Journal of Neuroscience, 67, 1-8.

Sandyk, R. (1993). The relationship of thought disorder to third ventricle width and calcification of the pineal gland in chronic schizophrenia. International Journal of Neuroscience, 68, 53-59.

Sandyk, R., & Kay, S.R. (1991). Pineal calcification in schizophrenia: Relationship to age of onset and tardive dyskinesia. Schizophrenia Research, 5(1), 85-86.

Sandyk, R., & Kay, S.R. (1992). Abnormal EEG and calcification of the pineal gland in schizophrenia. International Journal of Neuroscience, 62(1-2), 107-111.

Sandyk, R., & Pardeshi, R. (1990). The relationship between ECT nonresponsiveness and calcification of the pineal gland in bipolar patients. International Journal of Neuroscience, 54(3-4), 301–306.

Saporito, M.S., Wilcox, H.M., Hartpence, K.C., Lewis, M.E., Vaught, J.L., & Carswell, S. (1993). Pharmacological induction of nerve growth factor mRNA in adult rat brain. Experimental Neurolohy, 123(2), 295-302.

Savaskan E., Wirz-Justice, A., Olivieri G., Pache, M., Krauchi, K., Brydon, L., … Meyer, P. (2002). Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 50, 519-526.

Savaskan, E., Ayoub, M.A., Ravid, R., Angeloni, D., Fraschini, F., Meier, F., … Jockers, R. (2005). Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer's disease. Journal of Pineal Research, 38(1), 10–16.

Savaskan, E., Olivieri, G., Meier, F., Brydon, L., Jockers, R., Ravid, R., … Müller-Spahn, F. (2002). Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. Journal of Pineal Research, 32(1), 59–62.

Scher, J., Wankiewicz, E., Brown, G.M., & Fujieda, H. (2002). MT(1) melatonin receptor in the human retina: expression and localization. Investigate Ophthalmology Visual Science, 43(3), 889–897.

Scher, J.E., Wankiewicz, G.M., Brown, G.M., & Fujieda, H. (2002). MT(1) melatonin receptor in the human retina: expression and localization. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 43(3), 889-897.

Schmid, H.A., & Raykhtsaum, G. (1995). Age-related differences in the structure of human pineal calcium deposits: results of transmission electron microscopy and mineralographic microanalysis. Journal of Pineal Research, 18, 12–20.

Schousboe, A., Scafidi, S., Bak, L.K., Waagepetersen, H.S., & McKenna MC. (2014). Glutamate metabolism in the brain focusing on astrocytes. Advences in Neurobiology, 11, 13-30.

Schulz, J.B., Henshaw, D.R., Siwek, D., Jenkins, B.G., Ferrante, R.J., Cipolloni, P.B., … Beal, M.F. (1995). Involvement of free radicals in excitotoxicity in vivo. Journal of Neurochemistry, 64(5), 2239-2247.

Schuster, I. (2011). Cytochromes P450 are essential players in the vitamin D signaling system. Biochimica et Biophysica Acta, 1814(1),186-199.

Sharan, K., Lewis, K., Furukawa, T., & Yadav, V.K. (2017). Regulation of bone mass through pineal-derived melatonin-MT2 receptor pathway. Journal of Pineal Research, 63(2), e12423.

Sharma, M., Palacios-Bois, J., Schwartz, G., Iskandar, H., Thakur, M., Quirion, R., & Nair, N.P. (1989). Circadian rhythms of melatonin and cortisol in aging. Biological Psychiatry, 25(3), 305-319.

Shearman, L.P., Jin, X., Lee, C., Reppert, S.M., & Weaver, D.R. (2000). Targeted disruption of the mPer3 gene: subtle effects on circadian clock function. Molecular and Cellular Biology, 20(17), 6269–6275.

Shearman, L.P., Sriram, S., Weaver, D.R., Maywood, E.S., Chaves, I., Zheng, B., … Reppert, S.M. (2000). Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. Science (New York, N.Y.), 288(5468), 1013–1019.

Shibuya, H., Toru, M., & Watanabe, S. (1977). A circadian rhythm of tryptophan hydroxylase in rat pineals. Brain Research, 138(2), 364-368.

Shimauchi, Y., Yahata, T., Matsubara, S., & Araki, M. (2002). Role of tissue interaction between pineal primordium and neighboring tissues in avian pineal morphogenesis studied by intraocular transplantation. Development Genes and Evolution, 212, 319–329.

Shitubai, S., Takeshita, M., & Grollman A.P. (1990). Insertion of specific base during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. Nature, 349, 431-434.

Silva, S.O., Ximenes, V.F., Catalani, L.H., & Campa, A. (2000). Myeloperoxidase-catalyzed oxidation of melatonin by activated neutrophils. Biochemical and Biophysical Research Communications, 279, 657-662.

Silvia, G., Nadia, G., Simona, S., Milan, U., & Luciano, A. (2001). A 1α,25-dihydroxyvitamin D3 analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. Diabetes, 51(5), 1367-1374.

Sircar, R. (2000). Effect of melatonin on cocaine-induced behavioral sensitization. Brain Research, 857(1-2), 295–299.

Sitaram, B.R., & Lees, G.J. (1978). Diurnal rhythm and turnover of tryptophan hydroxylase in the pineal gland of the rat. Journal of Neurochemistry, 31(4), 1021-1026.

Skaper, S.D., Floreani, M., Ceccon, M., Facci, L., & Giusti, P. (2006). Excitotoxicity, oxidative stress, and the neuroprotective potential of melatonin. Annals New York Academy of Sciences, 890(1), 107-118.

Smidt, M.P., & Burbach, J.P. (2007). How to make a mesodiencephalic dopaminergic neuron. Nature Reviews Neuroscience, 8(1), 21-32.

Smirnov, A.N. (2001). Nuclear melatonin receptors. Biochemistry (Mosc), 66(1), 19-26.

Smith, M.P., Fletcher-Turner, A., Yurek, D.M., & Cass, W.A. (2006). Calcitriol protection against dopamine loss induced by intracerebroventricular administration of 6-hydroxydopamine. Neurochemical Research, 31(4), 533-539.

Snyder, S.H., Axelrod, J., & Zweig, M. (1967). Circadian rhythm in the serotonin content of the rat pineal gland: regulating factors. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 158(2), 206-13.

Son, J.H., Cho, Y.C., Sung, I.Y., Kim, I.R., Park, B.S., & Kim, Y.D. (2014). Melatonin promotes osteoblast differentiation and mineralization of MC3T3-E1 cells under hypoxic conditions through activation of PKD/p38 pathways. Journal of Pineal Research, 57(4), 385–392.

Song, J.H., Kang, K.S., & Choi, Y.K. (2017). Protective effect of casuarinin against glutamate-induced apoptosis in HT22 cells through inhibition of oxidative stress-mediated MAPK phosphorylation. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 27(23), 5109-5113.

Sonnenberg, J., Luine, V.N., Krey, L.C., & Christakos, S. (1986). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 treatment results in increased choline acetyltransferase activity in specific brain nuclei. Endocrinology, 118(4), 1433-1439.

Specker, B.L., Tsang, R.C., & Hollis, B.W. (1985). Effect of race and diet on human-milk vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. The American Journal of Diseases of Children, 81(3), 374-393.

Srinivasan, V., Pandi-Perumal, S.R., Maestroni, G.J., Esquitino, A.I., Hardeland, R., & Cardinali, D.P. (2005). Role of melatonin in neurodegenerative diseases. Neurotoxicity Research, 7, 293-318.

Steinhilber, D., Brungs, M., Werz, O., Wiesenberg, I., Danielsson, C., Kahlen, J.P., … Carlberg, C. (1995). The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. The Journal of Biological Chemistry, 270(13), 7037–7040.

Stenfors, C., & Ross, S.B. (2002). Evidence for involvement of protein kinases in the regulation of serotonin synthesis and turnover in the mouse brain in vivo. Journal of Neural Transmission (Vienna), 109(11), 1353-1363.

Stoll, J., & Goldman, D. (1991). Isolation and structural characterization of the murine tryptophan hydroxylase gene. Journal of Neurosciences Research, 28(4), 457-465.

Stoll, J., Kozak, C.A., & Goldman, D. (1990). Characterization and chromosomal mapping of a cDNA encoding tryptophan hydroxylase from a mouse mastocytoma cell line. Genomics, 7(1), 88-96.

Stone, T.W., & Burton, N.R. (1988). NMDA receptors and ligands in the vertebrate CNS. Progress in Neurobiology, 30(4), 333-368.

Stoschitzky, K., Sakotnik, A., Lercher, P., Zweiker, R., Maier, R., Liebmann, P., & Lindner, W. (1999). Influence of beta-blockers on melatonin release. European journal of clinical pharmacology, 55(2), 111–115.

Stumpf, W.E., Sar, M., Clark, S.A., & DeLuca, H.F. (1982). Brain target sites for 1,25-dihydroxyvitamin D3. Science, 215(4538), 1403-1405.

Stumpf, W.E., Sar, M., Reid, F.A., Tanaka, Y., & Deluca, H.F. (1979). Target cells for 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. Science, 206(4423), 1188-1190.

Sugden, D. (2003). Comparison of circadian expression of tryptophan hydroxylase isoform mRNAs in the rat pineal gland using real-time PCR. Journal of Neurochemistry, 86(5), 1308-1311.

Sugden, D., Grady, R., & Mefford I.N. (1989). Measurement of tryptophan hydroxylase activity in rat pineal glands and pinealocytes using an HPLC assay with electrochemical detection. Journal of Pineal Research, 6(3), 285-292.

Sukumaran, S., Almon, R.R., DuBois, D.C., & Jusko, W.J. (2010). Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. Advanced Drug Delivery Reviews, 62(9-10), 904–917.

Sulzer, D., Maidment, N.T., & Rayport, S. (1993). Amphetamine and other weak bases act to promote reverse transport of dopamine in ventral midbrain neurons. Journal of Neurochemistry, 60(2), 527-535.

Sun, X., Deng, J., Liu, T., & Borjigin, J. (2002). Circadian 5-HT production regulated by adrenergic signaling. Proceeding of The National Academy of Sciences of The United States of America, 99(7), 4686-4691.

Suofu, Y., Li, W., Jean-Alphonse, F.G., Jia, J., Khattar, K., Li, J., … Friedlander, R.M. (2017). Dual role of mitochondria in producing melatonin and driving GPCR signaling to block cytochrome c release. Pnas, 114(38), 7997-8006.

Sutherland, M.K., Somerville, M.J., Yoong, L.K., Bergeron, C., Haussler, M.R., & McLachlan D.R. (1992). Reduction of vitamin D hormone receptor mRNA levels in Alzheimer as compared to Huntington hippocampus: correlation with calbindin-28k mRNA levels. Brain Research. Molecular Brain Research, 13(3), 239-250.

Suzen, S, Bozkaya, P, Coban, T, Nebiogu, D. (2006). Investigation of the in vitro antioxidant behaviour of some 2-phenylindole derivatives: discussion on possible antioxidant mechanisms and comparison with melatonin. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 21,405–411.

Tan, D.X., Manchester, L.C., & Reiter, R.J. (2016). CSF generation by pineal gland results in a robust melatonin circadian rhythm in the third ventricle as an unique light/dark signal. Medical Hypotheses, 86, 3–9.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Burkhardt, S., Sainz, R.M., Mayo, J.C., Kohen, R., … Reiter, R.J. (2001). *N*1-acetyl-*N*2-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. Faseb Journal, 15(12), 2294-2296.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Liu, X., Rosales-Corral, S.A., Acuna-Castroviejo, D., & Reiter, R.J. (2013). Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. Journal of Pineal Research, 54, 127-138.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Qin, L., & Reiter, R.J. (2016). Melatonin: A mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics. International Journal of Molecular Sciences, 17(12), 2124.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Reiter, R.J., Plummer, B.F., Hardies, L.J., Weintraub, S.T., … Shepherd, A.M.M. (1998). A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 253, 614-620.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Reiter, R.J., Plummer, B.F., Limson, J., Weintraub, S.T., & Qi, W. (2000). Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation. Free Radical Biology & Medicine, 29(11), 1177-1185.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Reiter, R.J., Qi, W.B., Karbownik, M., & Calvo, J.R. (2000). Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. Biological Signals and Receptors, 9, 137-159.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Sainz, R.M., Mayo,J.C., Leon, J., & Reiter, R.J. (2005). Physiological ischemia/reperfusion phenomena and their relation to endogenous melatonin production. Endocrine, 27, 149-157.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Zubero, E.E., Zhou, Z., & Reiter, R.J. (2015). Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: Synthesis and metabolism. Molecules, 20(10), 18886-18906.

Tan, D.X., Reiter, R.J., Manchester, L.C., Yan, M., El-Sawi, M., Sainz, R.M., … Hardeland, R. (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2, 181-197.

Tan, D.X., Xu, B., Zhou, X., & Reiter, R.J. (2018). Pineal calcification, melatonin production, aging, associated health consequences and rejuvenation of the pineal gland. Molecules, 23(2), 301.

Tan, D.X.., Li-Dun, C., Poeggeler, B., Manchester, L.C., Reiter, R.J. (1993). Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. Endocrine journal, 1, 57-60

Tan, D-X., Manchester, L.C., Fuentes-Broto, L., Paredes, S.D., & Reiter, R.J. (2011). Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. Obesity Reviews, 12(3), 167-88.

Tangpricha, V., Koutkia, P., Rieke, S.M., Chen, T.C., Perez, A.A., & Holick, M.F. (2003). Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. The American Journal of Clinical Nutrition, 77(6), 1478-1483.

Tekes, K., Gyenge, M., Folyovich, A., & Csaba, G. (2009). Influence of neonatal vitamin A or vitamin D treatment on the concentration of biogenic amines and their metabolites in the adult rat brain. Hormone and Metabolic Research, 41(4), 277-280.

Tenenhouse, A., Warner, M., & Commissiong, J.W. (1991). Neurotransmitters in the CNS of the vitamin D deficient, hypocalcemic rat. Neurochemistry International, 18(2), 249-255.

Thomas, B., & Mohanakumar, K.P. (2004). Melatonin protects against oxidative stress caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the mouse nigrostriatum. Journal of Pineal Research, 36(1), 25-32.

Thomas, L., Purvis, C.C., Drew, J.E., Abramovich, D.R., & Williams, L.M. (2002). Melatonin receptors in human fetal brain: 2-[(125)I] iodomelatonin binding and MT1 gene expression. Journal of Pineal Research, 33(4), 218–224.

Thomson, P.A., Wray, N.R., Thomson, A.M., Dunbar, D.R., Grassie, M.A., Condie, A., … Porteous, D.J. (2005). Sex-specific association between bipolar affective disorder in women and GPR50, an X-linked orphan G protein-coupled receptor. Molecular Psychiatry, 10, 470-478.

Tidemand, K.D., Peters, G.H., Harris, P., Stensgaard, E., & Christensen, H.E.M. (2017). Isoform-Specific Substrate Inhibition Mechanism of Human Tryptophan Hydroxylase. Biochemistry, 56(46), 6155-6164.

Tomas-Zapico, C., Coto-Montes, A. (2005). A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. Journal of Pineal Reserach, 39,99–104.

Touitou, Y. (2001). Human aging and melatonin: clinical relevance. Experimental Gerontology, 36(7), 1083-1100.

Tricklebank, M.D., Singh, L., Oles, R.J., Preston, C., & Iversen, S.D. (1989). The behavioural effects of MK-801: a comparison with antagonists acting non-competitively and competitively at the NMDA receptor. European Journal of Pharmacology, 167(1), 127-135.

Tricoire, H., Locatelli, A., Chemineau, P., & Malpaux, B. (2002). Melatonin Enters the Cerebrospinal Fluid through the Pineal Recess. Endocrinology, 143(1), 84-90.

Tsutsui, K., Haraguchi, S., & Vaudry, H. (2018). 7α-Hydroxypregnenolone regulating locomotor behavior identified in the brain and pineal gland across vertebrates. General and Comparative Endocrinology, 265, 97-105.

Tuntapakul, S., Kitkhuandee, A., Kanpittaya, J., Johns, J., & Johns, N.P. (2016). Pineal calcification is associated with pediatric primary brain tumor. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology, 12(4), 405-410.

Turgut, A.T., Karakaş, H.M., Özsunar, Y., Altın, L., Çeken, K., Alıcıoğlu, B., … Koşar, U. (2008). Age-related changes in the incidence of pineal gland calcification in turkey: a prospective multicenter CT study. Pathophysiology, 15(1), 41-48.

Turunen, M.M., Dunlop, T.W., Carlberg, C., & Vaisanen, S. (2007). Selective use of multiple vitamin D response elements underlies the 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3-mediated negative regulation of the human CYP27B1 gene. Nucleic Acids Research, 35(8), 2734-2747.

Ueda, H. R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., … Hashimoto, S. (2002). A transcription factor response element for gene expression during circadian night. Nature, 418(6897), 534–539.

Urry, R.L., & Ellis, L.C. (1975). Monoamine oxidase activity of the hypothalamus and pituitary, alterations after pinealectomy, changes in photoperiod, or additions of melatonin in vitro. Experientia, 31, 891-892.

Uz, T., Arslan, A.D., Kurtuncu, M., Imbesi, M., Akhisaroglu, M., Dwivedi, Y., … Maney, H., (2005). The regional and cellular expression profile of the

melatonin receptor MT1 in the central dopaminergic system. Molecular Brain Research, 136(1-2), 45-53.
van der Horst, G.T., Muijtjens, M., Kobayashi, K., Takano, R., Kanno, S., Takao, M., … Yasui, A. (1999). Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. Nature, 398(6728), 627–630.
VanderWeele J.V., Anderson, G.M., & Cook, E.H. (2000). Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. Europan Journal of Pharmacology, 410(2-3), 165-181.
VanderWeele, J.V., & Cook, E.H. (2003). Knockout mouse points to second form of tryptophan hydroxylase. Molecular Interventions, 3(2), 72-75.
Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. Physiological Reviews, 78(3), 687–721.
Vanecek, J., Pavlík, A., & Illnerova, H. (1987). Hypothalamic melatonin receptor sites revealed by autoradiography. Brain Research, 435(1-2), 359–362.
Veenstra, T.D., Prüfer, K., Koenigsberger, C., Brimijoin, S.W., Grande, J.P., & Kumar, R. (1998). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptors in the central nervous system of the rat embryo. Brain Research, 804(2), 193-205.
Veldurthy, V., Wei, R., Oz, L., Dhawan, P., Jeon, Y.H., & Christakos, S. (2016). Vitamin D, calcium homeostasis and aging. Bone Research, 18(4), 16041.
Vicini, S., Wang, J.F., Li, J.H., Zhu, W.J., Wang, Y.H., Luo, J.H., … Grayson, D. (1998). Functional and pharmacological differences between recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. Journal of Neurophysiology, 79(2), 555-566.
Vieth, R. (2004). Why "Vitamin D" is not a hormone, and not a synonym for 1,25-dihydroxy-vitamin D, its analogs or deltanoids. The Jounal of Steroid Biochemistry Molecular Biology, 89-90(1-5), 571-573.
Vígh, B., Szél, A., Debreceni, K., Fejér, Z., Manzano e Silva, M.J., & Vígh-Teichmann, I. (1998). Comparative histology of pineal calcification. Histology and histopathology, 13(3), 851–870.
Vitaterna, M.H., Selby, C.P., Todo, T., Niwa, H., Thompson, C., Fruechte, E.M., … Sancar, A. (1999). Differential regulation of mammalian period genes and circadian rhythmicity by cryptochromes 1 and 2. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(21), 12114-12119.
Vitaterna, M.H., Takahashi, J.S., & Turek, F.W. (2001). Overview of circadian rhythms. Alcohol Research & Health: The Journal of The National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, 25(2), 85-93.
Von-Gall, C., Garabette, M.L., Kell, C.A., Frenzel, S., Dehghani, F., Schumm-Draeger, P.M., … Stehle, J.H. (2002). Rhythmic gene expression in pituitary depends on heterologous sensitization by the neurohormone melatonin. Nature Neuroscience, 5, 234-238.
Walbert, T., Jirikowski, G.F., & Prüfer, K. (2001). Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the limbic system of the rat. Hormone and Metabolic Research, 33(9), 525-531.
Walker, R.F., & Aloyo, V.J. (1987). Molecular mechanisms controlling norepinephrine-mediated release of serotonin from rat pineal glands. Advences in Experimental Medicine and Biology, 221, 223-236.
Wallen, A.A, Castro, D.S., Zetterström, R.H., Karlen, M., Olson, L., Ericson, J., & Perlmann T. Orphan nuclear receptor Nurr1 is essential for Ret expression in

midbrain dopamine neurons and in the brain stem. Molecular and Cellular Neurosciene, 18(6),649-663.
Walter E. Stumpf. The Endocrinology of Sunlight and Darkness Complementary Roles of Vitamin D and Pineal Hormones. Naturwissenschaften 75,247-251 (1988).
Walther, D.J., & Bader, M. (2003). A unique central tryptophan hydroxylase isoform. Biochemial Pharmacology, 66(9), 1673-1680.
Walther, D.J., Peter, J.U., Bashammakh, S., Hörtnagl, H., Voits, M., Fink, H., & Bader, M. (2003). Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. Science, 299(5603), 76.
Waly, N.E., & Hallworth, R. (2015). Circadian Pattern of Melatonin MT1 and MT2 Receptor Localization in the Rat Suprachiasmatic Nucleus. Journal of Circadian Rhythms, 13(1), 1-7.
Wang, C., Ahmed, M.M., Jiang, Q., Lu, N., Tan, C., Gao, Y., … Han, F. (2017). Melatonin ameliorates hypoglycemic stress-induced brain endothelial tight junction injury by inhibiting protein nitration of TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator. Journal of Pineal Research, 63(4), e12440.
Wang, J.Y., Wu, J.N., Cherng, T.L., Hoffer, B.J., Chen, H.H., Borlongan, C.V., & Wang, Y. (2001). Vitamin D(3) attenuates 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in rats. Brain Research, 904(1), 67-75.
Wang, L., Deng, Y., Gao, J., Wang, B., Han, H., Li, Z., … Xu, J. (2024). Biosynthesis of melatonin from L-tryptophan by an engineered microbial cell factory. Biotechnology for Biofuels and Bioproduct, 17(1), 27.
Wang, L., Erlandsen, H., Haavik, J., Knappskog, P.M., & Stevens, R.C. (2002). Three-dimensional structure of human tryptophan hydroxylase and its implications for the biosynthesis of the neurotransmitters serotonin and melatonin. Biochemistry, 41(42), 12569-12574.
Wang, L., Feng, C., Zheng, X., Guo, Y., Zhou, F., Shan, D., … Kong, J. (2017). Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. Journal of Pineal Research, 63(3).
Wang, X.C., Zhang, J., Yu, X., Han, L., Zhou, Z.T., Zhang, Y., & Wang, J.Z. (2005). Prevention of isoproterenol-induced tau hyperphosphorylation by melatonin in the rat. Acta Pharmacologica Sinica, 57, 7-12.
Wassif, G.A., Alrehely, M.S., Alharbi, D.M., & Aljohani, A.A. (2023). The impact of vitamin D on neuropsychiatric disorders. Cureus, 15(10), e47716.
Watkins, J.C., & Evans, R.H. (1981). Excitatory amino acid transmitters. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 21(1), 165-204.
Weaver, D.R., & Reppert, S.M. (1996). The Mel1a melatonin receptor gene is expressed in human suprachiasmatic nuclei. Neuroreport, 8, 109–112.
Webb, A.R., Kline, L., & Holick, M.F. (1988). Influence of Season and Latitude on the Cutaneous Synthesis of Vitamin D3: Exposure to Winter Sunlight in Boston and Edmonton Will Not Promote Vitamin D3 Synthesis in Human Skin. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 67(2), 373-378.
Webb, S.M., & Domingo, M.P. (1995). Role of melatonin in health and disease. Clinical Endocrinology, 42(3), 221-234.
Weil, Z.M., Hotchkiss, A.K., Gatien, M.L., Pieke-Dahl, S., & Nelson, R.J. (2006). Melatonin receptor (MT1) knockout mice display depression-like behaviors and deficits in sensorimotor gating. Brain Research Bulletin, 68(6), 425-429.

Wen, S.Y., Li, A.M., Kq, M., Wang, R.Z., Li. H., Liu, H.X., & Xing, Y. (2017). İn vitro neuroprotective effect of ciliary neurotrophic factor on dorsal root ganglion neurons with glutamate-induced neurotoxicity. Neural Regeneration Research, 12(10), 1716-1723.

Werner, P., Voigt, M., Keinanen, K., Wisden, W., & Seeburg, P.H. (1991). Cloning of a putative high-affinity kainate receptor expressed predominantly in hippocampal CA3 cells. Nature, 351, 742-744.

Wicher, G., & Aldskogius, H. (2008). Megalin deficiency induces critical changes in mouse spinal cord development. Neuroreport, 19(5), 559-563.

Wicht, H., Korf, H.W., & Schaad, N.C. (1993). Morphological and immunocytochemical heterogeneity of cultured pinealocytes from one-week- and two-month-old rats: planimetric and densitometric investigations. Journal of Pineal Research, 14(3), 128-137.

Willetts, J., Balster, R.L., & Leander, J.D. (1990). The behavioral pharmacology of NMDA receptor antagonists. Trends in Pharmacological Sciences, 11(10), 423-428.

Winkler, P., & Heimke, K. (1987). Age-related incidence of pineal gland calcification in children: a roentgenological study of 1,044 skull films and a review of the literature. Journal of Pineal Research, 4(3), 247-252.

Wion, D., MacGrogan, D., Neveu, I., Jehan, F., Houlgatte, R., & Brachet, P. (1991). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a potent inducer of nerve growth factor synthesis. Joırnal of Neuroscience Research, 28(1), 110-114.

Witt-Enderby, P.A., MacKenzie, R.S., McKeon, R.M., Carroll, E.A., Bordt, S.L., & Melan, M.A. (2000). Melatonin induction of filamentous structures in non-neuronal cells that is dependent on expression of the human mt1 melatonin receptor. Cell Motility and The Cytoskeleton, 46(1), 28–42.

Wolpowitz, D., & Gilchrest, B.A. (2006). The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it? Journal of The American Academy of Dermatology, 54(2), 301-317.

Wortsman, J., Matsuoka, L.Y., Chen, T.C., Lu, Z., & Holick, M.F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. The American Journal of Clinical Nutrition, 72(3), 690-693.

Wostyn, P., Audenaert, K., & De Deyn, P.P. (2008). Alzheimer's disease-related changes in diseases characterized by elevation of intracranial or intraocular pressure. Clinical Neurology and Neurosurgery, 110(2), 101–109.

Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M.J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., … Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. Science, 342(6156), 373-377.

Yadav, V.K., Balaji, S., Suresh, P.S., Liu, X.S., Lu, X., Li, Z., … Ducy, P. (2010). Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. Nature Medicine, 16(3), 308-312.

Yagita, K., Tamanini, F., van Der Horst, G.T., & Okamura, H. (2001). Molecular mechanisms of the biological clock in cultured fibroblasts. Science (New York, N.Y.), 292(5515), 278–281.

Yamauchi, T., Nakata, H., & Fujisawa, H. (1981). A new activator protein that activates tryptophan 5-monooxygenase and tyrosine 3-monooxygenase in the presence of Ca2+-, calmodulin-dependent protein kinase. Purification and characterization. The Journal of Biological Chemistry, 256(11), 5404-5409.

Yamazaki, S., Numano, R., Abe, M., Hida, A., Takahashi, R., Ueda, M., … Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. Science (New York, N.Y.), 288(5466), 682–685.

Yohrling, G.J., Jiang, G.C., Mockus, S.M., & Vrana, K.E. (2000). Intersubunit binding domains within tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase. Journal of Neuroscience Research, 61(3), 313-320.

Yokoe, T., Minoguchi, K., Matsuo, H., Oda, N., Minoguchi, H., Yoshino, G., … Adachi, M. (2003). Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. Circulation, 107(8), 1129-1134.

Yu, W., Nomura, M., & Ikeda, M. (2002). Interactivating feedback loops within the mammalian clock: BMAL1 is negatively autoregulated and upregulated by CRY1, CRY2, and PER2. Biochemical and Biophysical Research Communications, 290(3), 933–941.

Yuan, C.X., Ito, M., Fondell, J.D., Fu, Z.Y., & Roeder, R.G. (1998). The TRAP220 component of a thyroid hormone receptor- associated protein (TRAP) coactivator complex interacts directly with nuclear receptors in a ligand-dependent fashion. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 95(14), 7939-7944.

Zehnder, D., Bland, R., Williams, M.C., McNinch, R.W., Howie, A.J., Stewart, P.M., & Hewison, M. (2001). Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 86(2), 888-894.

Zhang, L., Su, P., Xu, C., Chen, C., Liang, A., Du, K., … Huang, D. (2010). Melatonin inhibits adipogenesis and enhances osteogenesis of human mesenchymal stem cells by suppressing PPAR expression and enhancing Runx2 expression. Journal of Pineal Research, 49(4), 364–372.

Zhang, L., Zhang, J., Ling, Y., Chen, C., Liang, A., Peng, Y., … Huang, D. (2012). Sustained release of melatonin from poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres to induce osteogenesis of human mesenchymal stem cells in vitro. Journal of Pineal Research, 54(1), 24-32.

Zhang, P., Ha, N., Dai, Q., Zhou, S., Yu, C., & Jiang, L. (2017). Hypoxia suppresses osteogenesis of bone mesenchymal stem cells via the extracellular signal-regulated 1/2 and p38-mitogen activated protein kinase signaling pathways. Molecular Medicine Report, 16, 5515–5522.

Zhang, R., Lahens, N.F., Ballance, H.I., Hughes, M.E., & Hogenesch, J.B. (2014). A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 111(45), 16219–16224.

Zhao, H., Ji, Z.H., Liu, C., & Yu, X.Y. (2015). Neuroprotective mechanisms of 9-hydroxy epinootkatol against glutamate-induced neuronal apoptosis in primary neuron culture. Journal of Molecular Neuroscience, 56, 808-814.

Zhao, J., Verwer, R.W.H., vanVamelen, D.J., Qi, X.R., Gao, S.F., Lucassen, P.J., & Swaab, D.F. (2016). Prefrontal changes in the glutamate-glutamine cycle and neuronal/glial glutamate transporters in depression with and without suicide. Journal of Psychiatric Research, 82, 8-15.

Zheng, B., Albrecht, U., Kaasik, K., Sage, M., Lu, W., Vaishnav, S., … Lee, C.C. (2001). Nonredundant roles of the mPer1 and mPer2 genes in the mammalian circadian clock. Cell, 105(5), 683–694.

Zheng, B., Larkin, D.W., Albrecht, U., Sun, Z.S., Sage, M., Eichele, G., … Bradley, A. (1999). The mPer2 gene encodes a functional component of the mammalian circadian clock. Nature, 400(6740), 169–173.

Zhou, J.N., Liu, R.Y., Kamphorst, W., Hofman, M.A., & Swaab, D.F. (2003). Early neuropathological Alzheimer's changes in aged individuals are accompanied by decreased cerebrospinal fluid melatonin levels. Journal of Pineal Research, 35(2), 125-130.

Zhou, L., Chen, X., Yan, J., Li, M., Liu, T., Zhu, C., … He, F. (2017). Melatonin at pharmacological concentrations suppresses osteoclastogenesis via the attenuation of intracellular ROS. Osteoporosis International, 28, 3325–3337.

Zittermann, A. (2003). Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? The British Journal of Nutrition, 89(5), 552-572.

Zittermann, A., Schleithoff, S.S., Tenderich, G., Berthold, H.K., Körfer, R., & Stehle, P. (2003). Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? Journal of The American College of Cardiology, 41(1), 105-112.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

% : Yüzde

(HIF)-1α : Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1α

°C : Santigrat derece

1α, 25-(OH)2D : 1α, 25-dihydroxyvitamin D

25OHD3 : 25 hidroksi-vitamin D3

2-OG : 2-oksoglutarat

3-OHM : 3-hidroksimelatonin

5-HIAA : 5-Hidroksi İndol Asetik Asit

5-HT : 5-hidroksitriptamin/Serotonin

5-htp : 5-hidroksitriptofan

5α-DHT : 5α-dihidrotestosteron

5β-DHT : 5β-dihidrotestosteron

6-OHDA : 6-hidroksidopamin

7α-OH PREG : 7α-hidroksipregnenolon

AAAH : Aromatik aminoasit hidroksilazlar

AADC : Aromatik amino asit dekarboksilaz

AANAT : Arilalkilamin N-asetiltransferaz

AAT : Aspartat aminotransferaz

AC : Adenilat siklaz

ACh : Asetilkolin

ACTH : Adrenokortikotropik hormon

ACTH : Adrenokortikotropin hormon

AD : Alzheimer hastalığı

ADA : Adenozin deaminaz

ADA : Adenozin deaminaz

Adra1b : Alfa1b-adrenerjik reseptör

Adrb1 : Beta1-adrenerjik reseptör

AFMK : N-asetil-N-formil-5-metoksiykynuramine

AIMS : Anormal İstemsiz Hareketler Ölçeği

ALAT : Alanin aminotransferaz

ALP : Alkalen fosfataz

AMK : N-asetil-5-metoksikynuramine

AMP : Adenozin 5'-monofosfat

AMPA : α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol-propiyonik

ASMT : Asetilserotonin O-metiltransferaz

Asp : Aspartat

ATP : Adenozin trifosfat

BCAA : Dallanmış zincirli amino asit

BCATc : Dallanmış zincirli aminotransferaz

BCATm : Mitokondriyal dallanmış zincirli aminotransferz

BCKA : Dallanmış zincirli α-keto asitler

BDNF : Beyin kökenli nörotrofik faktör

BF : Bazal önbeyin

BH4 : Tetrahidrobiopterin

BKCa : Kalsiyum aktivasyonlu potasyum kanalı

BMP-2 : Kemik morfojenetik protein 2

BOS : Beyin omurilik sıvısı

C. Put : Kaudat-putamen çekirdek

Ca : Kalsiyum

Ca10(PO4)6(OH)2 : Hidroksiapatittir

Ca2+-ATPaz : Kalsiyum ATPaz

CaMKII : Kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz II

cAMP : siklik adenozin monofosfat

CAT : Katalaz

CBP : CREB Bağlayan Protein

CDKN1C : Siklin-Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1C

cDNA : Tamamlayıcı Deoksiriboz nükleik asit

Cl : Klor

COMT : Katekol-O-metil transferaz

CREB	: cAMP duyarlı element bağlayıcı protein
CRH	: Kortikotropin salıcı hormon
CRISPR/Cas9	: Kümelendirilmiş düzenleyici aralıklı kısa palindromik tekrar/CRISPR'a bağlı protein-9 nükleaz
DAG	: Diaçilgliserol
DAT	: Dopamin taşıyıcı
DAT	: Dopamin taşıyıcısı
DBD	: DNA bağlanma bölgesi
DBP	: D vitamini bağlayan protein
DHβE	: Dihidro-β-eritroidin
dl	: Desiliter
DMT	: Dimetiltriptamin
DOPA	: 3,4-dihidroksifenilalanin
DOPAC	: 3,4-dihidroksifenilasetik asit
DRIP	: D Vitamini Reseptörü ile Etkileşen Protein
DRN	: Dorsal rafe çekirdeği
E	: Embriyonik gün
E2	: Estradiol-17β
EAAT	: Uyarıcı amino asit taşıyıcısı
EEG	: Elektroensofalografi
EMSA	: Elektroforetik mobilite değişimi
ER	: Endoplazmik retikulum
FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi
Fe	: Demir
FSH	: Folikül uyarıcı hormonun
FST	: Zorunlu yüzme testi
G. Pal	: Globus pallidus
GABA-A	: Gama aminobütirik asit tip A
GABA-T	: GABA transaminazı
GAD	: Glutamik asit dekarboksilazı

GAD : Glutamik asit dekarboksilaz

GAT : GABA taşıyıcısı

GDH : Glutamat dehidrogenazı;

GFAP : Glial fibriler asidik protein

GHB : Gama hidroksibütirik asit

GHBDH : γ-OH-bütirik asit dehidrojenaz

Gln : Glutamin

Gln'ase : Glutaminaz

GMP : Guanozin monofosfat

GnRH : Gonadotropin-salgılatıcı hormonun

GPCR : G protein eşleşimli reseptör

GPR50 : G proteinine bağlı reseptör 50

GPX : Glutatyon peroksidaz

GS : Glutamin sentetaz

GSH : Glutatyon

GSSG : Glutatyon disülfit

GTP : Guanozin trifosfat

H : Habenula

H2O2 : Hidrojen peroksit

HAT : Histon asetilazlar

HD : Huntington hastalığı

HDC : L-histidin dekarboksilaz

HIOMT : Hidroksiindol-O-metiltransferaz

HMC : İnsan mast hücre

HR : Histamin reseptörü

HVA : Homovanilik asit

IBMX : İzobutilmetilksantin

IC : İnferior kollikulus

ICN : İnternal koroid sinir

IDO : İndolamin 2,3-dioksijenaz

IGL : İntergenikül lezyon

IL-2 : İnterlökin-2

IL-6 : İnterlökin-6

IMLN : İntermediolateral nükleus

IR : Kızılötesi

IU : Uluslararası Birim

i.p. : İntraperitoneal

KA : Kainat

Kg : Kilogram

KO : Nakavt

LBD : Ligand bağlanma bölgesi

LC : Lokus seruleus

LDT : Laterodorsal tegmental çekirdek

LDT/PPT : Laterodorsal ve pedunkulopontin tegmental çekirdek

LH : Lateral hipotalamus

LH : Luteinize edici hormon

LL :Uzun

LSD : Liserjik asit dietilamid

LTP : Uzun süreli potansiyasyon

MAO : Monoamin oksidaz

MAOI : Monoamin oksidaz inhibitörü

MAPK : Mitojenle aktive olan protein kinazlar

MARRS : Hızlı Yanıt Steroidi Membran İlişkili Reseptör

MC : Mast Hücresi

MDMA : 3,4-metilendiyoksimetamfetamin

MDMA : Ekstazi

MECA : Mekamilamin

mg : Miligram

mGluR : Metabotropik glutamat reseptörleri

MKH : Mezenkimal kök hücre

ml : Medial lemniskus

MLT : Melatonin

mm : Milimetre

MnR : Medyan rafe

MÖ : Milattan önce

MPO : Medial preoptik alan

MPPC :1-metil-4-fenilpiridin

MRGC : Melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri

MRN : Medyan rafe çekirdek

mRNA : Mesajcı Ribonükleik asid

MS : Multiple skleroz

MSO : l-metiyonin sulfoksimindir

MSS : Merkezi sinir sisteminde

MT1/Mel 1a/ ML1a/ ML1 : Melatonin reseptör tip 1a

MT2 : Melatonin resptörü 2/ Melatonin reseptör tip 1b

MT2, Mel 1b, ML1b : Melatonin reseptör tip 1b

N,N-DMT : N,N-dimetiltriptamin

NA : Sodyum

NAc : Nükleus akumbens

nAChR : Nikotinik asetilkolin reseptörleri

NAT : N-asetil transferaz

NCoR : Nükleer Reseptör Korepresörü

NE : Norepinefrin

NECA : 5′-N-etilkarboksamido-adenozin

NET : Noradrenalin taşıyıcısı

NF-κB : Nükleer Faktör Kappa B

NGF : Sinir büyüme faktörü

Nm : Nanometre

NMDA : N-metil-D-aspartat

nNOS : Nitrik oksit sentaz

NO : Nitrik oksit

NOGO : Nörit büyüme inhibitörü

NREM : Hızlı göz hareketi olmayan

NREMS : Hızlı Göz Hareketi Olmayan Uyku

N-tipi Ca++ CP α1B : N tipi kalsiyum kanalı protein

NTRKB : Nörotrofin tirozin kinaz reseptörü B

Nurr 1 : Nükleer reseptör ilişkili 1 protein

O2 : Oksijen

OCN : Osteokalsin

OCT : Organik katyon taşıyıcısı

OFT : Açık alan testi

OH : Hidroksil radikali

OKB : Obsesif-kompulsif bozukluk

ONOO : Peroksinitrit

OPG : Osteoprotegerin

OSA : Obstrüktif uyku apnesi

OSAS : Obstrüktif uyku apnesi sendromu

OSP : Osteopontin

OT : Olfaktör tüberkülü

P : Fosfor

p300 : E1A Bağlayan Protein p300

PACAP : Hipofiziyer adenilat siklazı aktive eden polipeptit

PAG : Fosfat aktivatörlü glutaminaz

PAG : Periakuaduktal gri cevher

PAH : Fenilalanin hidroksilaz

PCA : Parakloroamfetamin

PCBs : Poliklorlu bifeniller

PCPA : Paraklorofenilalanindir

PD : Parkinson hastalığı

PE : Fenilefrin

Per1 : Periyot 1

Per2 : Periyot2

PFC : Prefrontal korteks

PFH : Perifornikal lateral hipotalamusta

pg : Pikogram

PGC : Epifiz bezi kalsifikasyonu

PGF2α : Prostaglandin F2α

PHA : Posterior hipotalamik alan

PI : Fosfoinositid

PIP2 : Fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat

PIP2 : Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfatın

PKA : Protein kinaz A

PLC : Fosfolipaz C

PMAT : Plazma membran monoamin taşıyıcısı

PnC : Pontin retiküler formasyon, kaudal kısım

PnO : Pontin retiküler formasyon, oral kısım

PPT : Pedunkulopontin tegmental çekirdek

PRF : Pontin retiküler formasyon

PRKD1 : Protein kinaz D1

PTH : Paratiroid hormonu

PVN : Paraventriküler nükleus

Pyr : Pirüvat

QR2 : Kinon redüktaz 2 enzimi

RANKL : NFκB ligandının reseptör aktivatörü

RAR : All-trans retinoik asit reseptörü

RBL : Sıçan bazofilik lösemi

REM : Hızlı göz hareketi

REM-SD : Hızlı göz hareketleri uyku yoksunluğu

RHT : Retina hipotalamik trakt

RLS : Hareketli Bacak Sendromu

ROS : Reaktif oksijen türleri

RT-PCR : Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

Runx2 : Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2

RXR	: Retinoid X reseptörü
RZR/ROR	: Retinoid ilişkili orphan nükleer hormon reseptör ailesi
SBP	: Serotonin bağlayıcı protein
SC	: Omurilik
SCG	: Sempatik servikal gangliyonlar
SCG	: Süperior servikal ganglia
SCN	: Suprakiazmatik nükleus
Sep	: Septum
SERT	: Serotonin taşıyıcısı
SMRT	: Retinoik Asit ve Tiroid Hormonu Reseptörlerinin Susturucu Aracısı
SN	: Substantia nigra
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SOD	: Süperoksit dismutaz
SRC-1	: Steroid Reseptör Koaktivator-1
SS	: Kısa
SSA	: Suksinik semialdehit;
SSADH	: SSA dehidrojenaz
SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri
STAT1	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 1
TALEN	: Transkripsiyon aktivatörü benzeri etki nükleazlar
TCA	: Trikarboksilik asit döngüsü
TCA	: Trisiklik antidepresanın
TD	: Tardif diskinezi
TGF-β	: Dönüşen büyüme faktörü beta
Th	: Talamus
TH	: Tirozin hidroksilaz
TIF2	: Transkripsiyon Ara Faktörü 2
TIP60	: Glukokortikoid reseptör sinyal koaktivatör ve histon asetiltransferaz

TMD : Transmembran alan

TMN : Tuberomammiller çekirdek

TNF-α : Tümör nekroz faktör alfa

TPH : Triptofan hidroksilaz

TR : Troid reseptörü

TRAP : Tartarat dirençli asit fosfataz

TRAP : Tiroid Hormonu Reseptörü ile İlişkili Protein

TRP : Triptopfan

TST : Kuyruk süspansiyon testi

UVB : Ultraviyole B

VDD : D vitamini eksikliği

VDR : D vitamini reseptörü

VDRE : D vitamini yanıt elementi

Vgat : Veziküler GABA taşıyıcısı

VGCC : Voltaj kapılı kalsiyum kanalları

vGlut : Veziküler glutamat taşıyıcısı

VLPAG : Ventrolateral periaqueductal gri

VLPO : Ventrolateral preoptik alan

VSCC : Voltaj bağımlı potasyum kanalı

VTA : Ventral tegmental alan

W : Watt

α : Alfa

α-BTX : α-Bungarotoxin

αKG : α-ketoglutarat

β : Beta

γ : Gama

μ : Mu

μm : Mikrometre

8. EKLER

EK 1

Şekiller Dizini

Şekil 1. Farklı yaşlardaki lamine pineal bez kireçlenmesi ve yoğun kemik osteonlarına benzerliği.

Şekil 2. Melatonin'in kemik oluşumu üzerindeki etkilerinin önerilen mekanizmaları.

Şekil 3. Hindi pineal bezi kireçlenmesinde bulunan hücrelerin histolojisi ve ultra yapısı.

Şekil 4. Melatonin sentezi, ara basamakları ve görev alan enzimler.

Şekil 5. Memelilerde melatonin üretim yolağı.

Şekil 6. Gözlerden epifiz bezine doğru olan sinirsel yol.

Şekil 7. MT1 ve MT2 melatonin reseptörleri tarafından aktive edilen muhtemel sinyal yolakları.

Şekil 8. SCN-melatonin döngüsünün görselleştirmesi.

Şekil 9. Moleküler oksijen (O2) birçok serbest radikale ve ilişkili reaktif türlere indirgenir.

Şekil 10. Melatoninin kimyasal yapısı.

Şekil 11. Melatoninin hidroksil radikali ile etkileşim yolağı.

Şekil 12. Melatoninden AMFK oluşum yolakları

Şekil 13. Bu görsel sıçan beyninin sagittal (yan görünüş) şematik bir tasvirini içeriyor ve uykuya bağlı beyin bölgelerini gösteriyor.

Şekil 14. Çizimler, uyku ve uyanıklığa bağlı olarak beyin korteksi ve pontin retiküler formasyondaki monoaminerjik, kolinerjik ve GABAerjik nörotransmisyonlardaki duruma bağlı değişiklikleri şematize eder.

Şekil 15. 5-hydroxytryptamine (5-HT; serotonin) ve ilgili indolalkilaminlerin kimyasal yapısı.

Şekil 16. Rat santral sinir sisteminin sagittal kesitini gösteren şematik çizimde, serotonerjik hücre gruplarının konumları ve ana projeksiyonları tasvir edilmektedir.

Şekil 17. Ön beyini innerve eden çift serotonerjik sistemin ana özelliklerini gösteren basitleştirilmiş diyagram

Şekil 18. Serotonin'in biyosentezi ve katabolizması.

Şekil 19. Amfetaminler, 5-HT'nin taşınmasını hem (A) veziküler taşıyıcı hem de (B) serotonin taşıyıcısı (SERT) sistemini bloke ederek engeller.

Şekil 20. Serotonin nöronları ve reseptörleri, çeşitli terapotik ilaçların hedefi olarak kullanılmaktadır.

Şekil 21. 5-HT'nin sinaptik etkileri taşıyıcı proteinler tarafından sonlandırılır.

Şekil 22. D Vitamini metabolitlerinin kaynakları, bölgeleri ve işlenmesi.

Şekil 23. D Vitamininin VDR aracılığıyla moleküler mekanizması üzerine olan şema, gen ekspresyonu aracılığıyla işleyişi gösterir.

Şekil 24. Ligand bağlı VDR, gen ekspresyonunu etkinleştirmek için bir transkripsiyon başlatma kompleksi oluşturur.

Şekil 25. 1,25D/VDR'nin serotonin dinamikleri üzerindeki etkileri, serotonin sinapsında serotoninin seviyelerinin ince ayarlanmasını tasvir eder.

Şekil 26. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ratlara yapılan i.p. enjeksiyon.

Şekil 27. Ratlardan elde edilen epifiz bezine ait histolojik kesitin ışık mikroskobu altındaki görüntüsü.

Şekil 28. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak VDR varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 29. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak VDR varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 30. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak VDR varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 31. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak VDR varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 32. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH1 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 33. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH1 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 34. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH1 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 35. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH1 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 36. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH2 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 37. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH2 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 38. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH2 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 39. Işık mikroskobunda ratların epifiz bezinde immunuhistokimyasal olarak TPH2 varlığını gösteren kesit görüntüleri.

Şekil 40. Kontrol ve deney gruplarında TPH1, TPH2 ve VDR'nin ekspresyon şiddetleri.

Şekil 41. Gruplara göre plazma D Vitamini seviyeleri.

Şekil 42. Gruplara göre plazma Melatonin seviyeleri.

Şekil 43. Gruplara göre plazma Serotonin seviyeleri.

Şekil 44. Gruplara göre plazma Hormon konsantrasyonları.

EK 2

Tablolar Dizini

Tablo 1. İnsan Merkezi Sinir Sisteminde Melatonin Reseptörleri.

Tablo 2. Melatonin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerine direkt etkisi bunun yanı sıra antioksidatif ve pro-oksidatif enzimler üzerine etkileri.

Tablo 3. Merkezi Sinir Sisteminde Serotonin Reseptörleri.

Tablo 4. Beyinde VDR ve 1α-OHase dağılımı.

Tablo 5. D vitamini fakir rat yemi içeriği.

Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarında TPH1, TPH2 ve VDR'nin ekspresyon şiddetleri.

Tablo 7. Biyokimyasal verilerin grup ortalaması.

EK 3

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

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00/103 06.10.2020

Konu: Araştırma Projeniz

Sayın Dr. Öğretim Üyesi Duygu UDUM

Yürütücüsü olduğunuz "*Farelerde Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlğının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*" isimli çalışmanız Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 06.10.2020 tarihli toplantısında görüşülmüş olup kurul kararı ekte sunulmuştur. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
HADYEK Başkanı

EK 4

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

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	*Farelerde Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Dr. Öğretim Üyesi Duygu UDUM BUÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Doktora Öğrencisi Deniz Ekin YILDIRIM
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Deniz Ekin YILDIRIM'ın Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	Haziran 2021 – Haziran 2022
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	60 Adet Erkek Fare

	Belge Adı	Tarihi
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	15.09.2020

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2020 - 10 / 02	Tarih : 06.10.2020
	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 araştırıcıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırıcılarda değişiklik 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. Murat YALÇIN Üye	Veteriner-Fizyoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Aydın IPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	☐ E ■ H			
Asiye İşıl SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	☐ E ■ H			
Filiz KUNLAR Üye	Sivil Üye	Emekli	☐ E ■ H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	☐ E ■ H			

EK 5

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

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00 / 83 01.06.2021
Konu: Dilekçeniz

Doç. Dr. Duygu UDUM

İLGİ: 27.05.2021 Tarihli Dilekçeniz

Dilekçeniz Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 01.06.2021 tarihli toplantısında görüşülmüştür. "*Farelerde Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*" başlıklı araştırma projesinin başlığının "*Ratlarda Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*" olarak değiştirilmesi talebinizin uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
HADYEK Başkanı

EK 6

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

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00 / 14.12.2021
Konu: Dilekçeniz

Doç. Dr. Duygu UDUM

İLGİ: 09.12.2021 Tarihli Dilekçeniz

Dilekçeniz Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14.12.2021 tarihli toplantısında görüşülmüştür. "*Ratlarda Epifiz Bezinde D Vitamini Reseptörü Varlığının Araştırılması, Epifiz Bezi Hormonları olan Serotonin ve Melatonin ile D Vitamini İlişkisinin Biyokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*" başlıklı araştırma projenize Prof. Dr. Murat YALÇIN ve Doktora Öğrencisi Ender Deniz ASMAZ'ın yardımcı araştırıcı olarak eklenmesi talebinizin uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
HADYEK Başkanı

9. TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca verdikleri desteklerden dolayı aileme çok teşekkür ederim.

Hayatımı borçlu olduğum Tuğçe Mangırcı'ya çok teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi lisans yıllarında tanıştığım, kendimi tanımak için bana en güzel yolları gösteren, benim ben olmamda en büyük katkısı olan, bana çok fazla vizyon katan Dr. Veteriner Hekim Murat Uludağ hocamıza çok teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi lisans yıllarında tanıştığım Farmakoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Ayhan Filazi hocama insanlık, hekimlik ve akademiye bakış konularında bana olan katkıları için çok teşekkür ederim. Hocamızın bir sözünü hiç unutmuyorum '' Ben profesör oldum ve şu anda kendimi hem mesleki bilgi anlamında hem de edindiğim tecrübeler sayesinde en üst seviyede hissediyorum ve benim asıl şimdi hiç olmadığı kadar çalışmam gerekir, asıl şimdi üretmem gerekir'' ve bu söz akademik hayatta geçirdiğim her anda bana kılavuz olmuştur.

Hiç tanışmamış olsak dahi kitapları ve yazılarıyla bana yol gösteren sayın Prof.Dr. Niyazi Kahveci hocama çok teşekkür ederim.

Verdiği tüm desteklerden dolayı Dr. Aydan Mutlu arkadaşıma çok teşekkür ederim.

Öz abilerim dostlarım Tabip Subay Dr. Mustafa Kemal Arslanoğlu ve Astsubay Erdoğan Yılmaz'a çok teşekkür ederim.

Dostum Veteriner Hekim Oğuz Vanaz'a verdiği desteklerden dolayı çok teşekkür ederim.

Doktora sürecinde verdiği maddi ve manevi desteklerden dolayı Ali Rıza Özkan abime çok teşekkür ederim.

Her konuda elinden gelen desteği veren çok değerli Göğüs Cerrahisi Uzmanı Doç.Dr. Serhat Yalçınkaya abime çok teşekkür ederim.

Danışman hocam Doç.Dr. Duygu Udum'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Prof.Dr. Nazmiye Güneş ve Prof.Dr. Ümit Polat hocalarıma katkılarından dolayı teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Deniz Ekin Yıldırım
Doğum Yeri ve Tarihi :
Yabancı Dil : İngilizce
Eğitim Durumu
Lise : Bursa Erkek Lisesi
Lisans : Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Barlas Veteriner Kliniği, Koza Veteriner Kliniği, Sebze Hali (İşçi), Komagene (Satış elemanı)
İletişim (e-posta) :