

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

APELİN'İN İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI
MİDE MUKOZASINI KORUYUCU ETKİSİNDE
KAPSAİSİN'E DUYARLI DUYSAL LİFLERİN VE
N. VAGUS'UN ROLÜ

İlknur BİRSEN

DOKTORA TEZİ

2018-ANTALYA

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

APELİN'İN İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI
MİDE MUKOZASINI KORUYUCU ETKİSİNDE
KAPSAİSİN'E DUYARLI DUYSAL LİFLERİN VE
N. VAGUS'UN ROLÜ

İlknur BİRSEN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. V. Nimet UYSAL

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2015-593 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼đ¼ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 08 Haziran 2018

Tez Danışmanı : Prof. Dr. V. Nimet UYSAL
Akdeniz Üniversitesi

İmza

ye : Prof. Dr. Aysel AđAR
Akdeniz niversitesi

ye : Prof. Dr. Narin DERİN
Akdeniz niversitesi

ye : Prof. Dr. Vural KKATAY
Pamukkale niversitesi

ye : Doç. Dr. Burcu GEMİCİ BAřOL
Yeditepe Üniversitesi

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

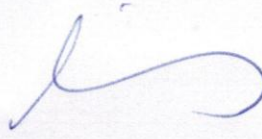
Enstit¼ M¼d¼r¼

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

İlknur BİRSEN

İmza



Prof. Dr. V. Nimet UYSAL

İmza



TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca manevi desteğini, bilgi birikimlerini ve tecrübelerini benimle paylaşan saygıdeğer danışman hocam sayın Prof. Dr. V. Nimet UYSAL'a, tüm katkılarından dolayı anabilim dalımızın saygıdeğer hocalarıma ve değerli arkadaşlarıma, vermiş oldukları desteklerden dolayı Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm çalışanlarına, tüm desteği için sevgili eşim Safa BİRSEN'e ve oğlum Toprak BİRSEN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.



ÖZET

Amaç: Apelin, pek çok dokuda üretilen ve anjiyogenez, apoptozis ve proliferasyon gibi fizyolojik olaylarda rolü olduğu tespit edilen bir peptittir. Bu çalışmanın amacı, apelinin iskemi/reperfüzyona (I/R)'a bağlı mide hasarına karşı koruyucu etkisinde vagus sinirinin ve kapsaisine duyarlı duysal liflerin rolünü araştırmaktır.

Yöntem: 108 adet Wistar erkek sıçan ile gerçekleştirilen çalışma; 1) Kontrol; 2) I/R; 3) Vagotomi+I/R; 4) Kapsaisin+I/R; 5) Lorglumide+I/R; 6) Apelin+I/R; 7) Vagotomi+Apelin+I/R; 8) Kapsaisin+Apelin+I/R ve 9) Lorglumide+Apelin+I/R gruplarından oluşmaktadır. I/R hasarı, çölyak arterin 30 dk kapatılması ve 3 saat reperfüzyonun sağlanmasıyla oluşturulmuştur. Apelin gruplarında, apelin-13 (2 mg/kg, i.v.) I/R'nin hemen öncesinde uygulanırken; vagotomi gruplarında, vagotomi I/R'den 1 hafta önce; kapsaisin gruplarında, kapsaisin (125 mg/kg, s.c.) I/R'den 2 hafta önce ve lorglumide gruplarında lorglumide (5 mg/kg, i.p.) I/R'den 30 dk önce uygulanmıştır. I/R'den sonra midede mukozal kan akımı ve lezyon alanları belirlenmiştir. Mide örnekleri mukus, MPO aktivitesi, LPO, TNF- α , PGE₂, NO ve CGRP ölçümü için kullanılırken; beyin sapı örnekleri DMN ve NTS'de cfos ekspresyonu için kullanılmıştır.

Bulgular: I/R grubunda lezyon indeksi, MPO aktivitesi, LPO ve TNF- α artmış, mukozal kan akımı, PGE₂, NO, CGRP ve mukus azalmıştır. Apelin, I/R hasarının etkilerini önlemiş, DMN ve NTS'de cfos ekspresyonunu artırmıştır. Vagotomi, kapsaisin ve lorglumide apelinin I/R'ye karşı koruyucu etkilerini büyük oranda ortadan kaldırmış ve apelinin duysal nöronlar üzerinden olan etkisinde CCK'nın rolü olduğu gösterilmiştir.

Sonuç: Apelin, I/R hasarına karşı mide mukozasını koruyucu etkisini lezyon indeksini, MPO aktivitesini, LPO ve TNF- α miktarını azaltarak; mukozal kan akımını, CGRP, NO ve PGE₂ miktarını arttırarak göstermektedir. Apelinin mide koruyucu etkisinde, kapsaisine duyarlı duysal nöronlar ve n.vagus rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: apelin, n.vagus, kapsaisine duyarlı duysal lifler, mide, I/R

ABSTRACT

Objective: Apelin is a peptide produced in many tissues and found to play a role in physiological events such as angiogenesis, apoptosis and proliferation. The aim of this study is to investigate the role of capsaicin sensitive afferent nerves and n. vagus in the protective effect of apelin against ischemia/reperfusion (I/R) mediated gastric injury.

Method: The study with 108 Wistar male rats consisted of, 1) Control; 2) I/R; 3) Vagotomy+I/R; 4) Capsaicin+I/R; 5) Lorglumide+I/R; 6) Apelin+I/R; 7) Vagotomy+Apelin+I/R; 8) Capsaicin+Apelin+I/R and 9) Lorglumide+Apelin+I/R groups. I/R injury in the gastric mucosa was induced by clamping celiac artery for 30 min and followed by to obtain reperfusion for 3 hours. While in the apelin-treated groups, apelin-13 (2 mg/kg, i.v.) was administered immediately before I/R, in the vagotomy-treated groups, vagotomy was performed 1 week before I/R; in the capsaicin-treated groups, capsaicin (125 mg/kg, s.c.) was administrated 2 weeks before and in the lorglumide-treated group, lorglumide (5 mg/kg, i.p.) was administered 30 min before I/R. After the I/R, GMBF was measured and area of mucosal lesions were determined. Gastric specimens were used to measure for mucus, MPO activity, LPO, TNF- α , PGE₂, NO and CGRP; brainstem samples were used for cfos expression in DMN and NTS.

Results: In the I/R group, lesion index, MPO activity, LPO, NO, TNF- α and mucus increased; mucosal blood flow, PGE₂ and CGRP were significantly decreased. Pretreatment with apelin prevented the effects of I/R injury and increased cfos expression in DMN and NTS. Vagotomy, capsaicin and lorglumide have largely eliminated the protective effect of apelin against I/R injury and has been shown to have a role of CCK in the effect of apelin through sensory neurons.

Conclusion: Apelin demonstrates the gastroprotective effects in I/R injury by decreasing lesion index, MPO activity, LPO and TNF- α ; increasing blood flow, CGRP, NO, and PGE₂. The capsaicin sensitive sensory nerves and n. vagus play roles in the protective effect of apelin.

Key words: apelin, n.vagus, capsaicin-sensitive afferent nerves, gastric, I/R

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Mide Mukoza Bariyeri	3
2.1.1. Mukus Tabakası	4
2.1.2. Yüzey Epitel Hücreleri	6
2.1.3. Endotel Bariyeri	7
2.1.4. Mukozal Kan Akımı	8
2.1.5. Gaz Mediyatörler	9
2.1.6. Prostaglandinler	11
2.1.7. Mukozal Hasar Sonucu Tetiklenen Stres Proteinleri	12
2.1.8. Duysal Sinirler	13
2.1.9. Nörohormonal Faktörler	23
2.2. İskemi/Reperfüzyon Hasarı	25
2.3. Apelinerjik Sistem	28
2.3.1. Apelinerjik Sistemin Bulunduğu Yerler	29
2.3.2. Apelinin Aktive Ettiği Sinyal Yolakları	29
2.3.3. Apelinin Başlıca Biyolojik Etkileri	30
2.3.4. Apelin/APJ Sistemi ve Gastrointestinal Sistem	35
2.3.5. Apelin/APJ Sistemi ve İskemi/Reperfüzyon Hasarı	36
Amaç ve Hipotez	38

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.	Apelinin Etkin Dozunun Belirlenmesi	39
3.2.	Gruplandırma ve Deney Protokolü	39
3.2.1.	Deney grupları	40
3.3.	Parametrelerin Tayini	41
3.3.1.	Mukozal Kan Akımının Ölçümü	41
3.3.2.	Lezyon İndeksinin Tayini	42
3.3.3.	Mukus Miktarının Tayini	42
3.3.4.	Miyeloperoksidaz Aktivitesinin Tayini	43
3.3.5.	Tümör Nekrozis Faktör- α Miktarının Tayini	43
3.3.6.	Lipid Peroksidasyon Miktarının Tayini	44
3.3.7.	NTS ve DMN'de cfos ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak belirlenmesi	45
3.3.8.	Kalsitonin Gen İlişkili Peptit Miktarının Tayini	47
3.3.9.	Prostaglandin E ₂ Miktarının Tayini	47
3.3.10.	Nitrik Oksit Miktarının Tayini	48
3.3.11.	Plazma Kolesistokinin Seviyelerinin Tayini	49
3.4.	İstatistiksel Analiz	50

4. BULGULAR

4.1.	Apelinin Etkin Dozunun Belirlenmesi	51
4.2.	Midede Lezyon İndeksi	51
4.3.	Midede Mukozal Kan Akımı	53
4.4.	Midede Mukus Miktarı	54
4.5.	Midede Miyeloperoksidaz Aktivitesi	54
4.6.	Midede TNF- α Miktarı	55
4.7.	Midede Lipid Peroksidasyonu	56
4.8.	NTS ve DMN'de cfos Protein Ekspresyonları	57
4.9.	Midede CGRP Miktarı	60
4.10.	Midede PGE ₂ Miktarı	60
4.11.	Midede NO Miktarı	61
4.12.	Plazma CCK Seviyesi	62

5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	110



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Gastrointestinal sistemi innerve eden ekstrinsik duysal nöronların farklı fonksiyonları düzenlemesi	14
Şekil 2.2.	Beyin sapındaki vago-vagal refleks mekanizması	19
Şekil 2.3.	İskemi/reperfüzyon hasarının patofizyolojisi	26
Şekil 4.1.	Apelinin doza bağlı olarak, A. Mukozal kan akımına etkisi B. Lezyon indeksine etkisi	50
Şekil 4.2.	A. Mide mukozalarının makroskopik görüntüleri B. Mukozalardaki % lezyon alanları	52
Şekil 4.3.	Apelinin mide mukozal kan akımına etkisi	53
Şekil 4.4.	Apelinin mide dokusunda mukus miktarına etkisi	54
Şekil 4.5.	Apelinin mide dokusunda miyeloperoksidaz aktivitesine etkisi	55
Şekil 4.6.	Apelinin mide dokusunda TNF- α miktarına etkisi	56
Şekil 4.7.	Apelinin mide dokusunda lipid peroksidasyonuna etkisi	57
Şekil 4.8.	NTS ve DMN’de cfos ekspresyonu	58
Şekil 4.9.	A. Apelinin NTS’de % cfos immünoreaktivite yoğunluğuna etkisi B. Apelinin DMN’de % cfos immünoreaktivite yoğunluğuna etkisi	59
Şekil 4.10.	Apelinin mide dokusunda CGRP miktarına etkisi	60
Şekil 4.11.	Apelinin mide dokusunda PGE ₂ miktarına etkisi	61
Şekil 4.12.	Apelinin mide dokusunda NO miktarına etkisi	62
Şekil 4.13.	Apelinin CCK salgısı üzerine etkisi	63

SİMGELER ve KISALTMALAR

4-HNE	: 4-hidroksinonenal
5-HT	: 5-hidroksitriptamin
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ADH	: Antidiüretik hormon
ACh	: Asetilkolin
AMPK	: AMP-ile aktive olan protein kinaz
Ang II	: Anjiyotensin II
AP	: Area postrema
APJ	: Anjiyotensin reseptör-benzeri 1
BPU	: Kan perfüzyon ünitesi
CCK	: Kolesistokinin
CCKAR	: Kolesistokinin A reseptörü
CGRP	: Kalsitonin gen ilişkili peptit
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
ChAT	: Kolin asetiltransferaz
CO	: Karbon monoksit
CO ₂	: Karbondioksit
CORT	: Kortikosteron
COX	: Siklooksijenaz
CRF	: Kortikotropin salgılatıcı hormon
DAG	: Diaçilgliserol
DMN	: Dorsal motor nükleus
DRG	: Dorsal kök gangliyonu
DVC	: Dorsal vagal kompleks
ECL	: Enterokromafin-benzeri hücre
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EIA	: Enzim immünoassay
EPAN	: Ekstrinsik primer afferent sinir

ERK	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
ESS	: Enterik sinir sistemi
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GIS	: Gastrointestinal sistem
GLP-1	: Glukagon-benzeri peptit-1
GRP	: Gastrin salgılatıcı peptit
GSH	: Glutasyon
HIF	: Hipoksi ile indüklenen faktör
HCl	: Hidroklorik asit
HCO ₃	: Hidrojen bikarbonat
HSP	: Isı şok proteini
HPA	: Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
IP ₃	: İnositol trifosfat
IPAN	: İntresik primer afferent sinir
IL-1 β	: İnterlökin-1 β
ICAM-1	: Hücre içi adezyon molekülü-1
HO	: Hemoksijenaz
HPLC	: Yüksek-performanslı sıvı kromatografisi
LH	: Lüteinize edici hormon
L-NAME	: NG-nitro L-arjinin metil ester
LPO	: Lipid peroksidasyonu
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojen ile aktive olan protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
NaCl	: Sodyum klorür
NANC	: Non-adrenerjik, non-kolinerjik
NF- κ B	: Nükleer faktör kappa B

NKA	: Nörokinin A
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NSAID	: Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaç
NTS	: Nükleus traktus solitarius
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
PAR	: Proteazla aktive olan reseptör
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PG	: Prostaglandin
PGI ₂	: Prostaglandin
PKB	: Protein kinaz B
PKC	: Protein kinaz C
PVN	: Paraventriküler nükleus
RIA	: Radioimmunoassay
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
RVLM	: Rostral ventrolateral medulla
PLA ₂	: Fosfolipaz A ₂
sGC	: Soluble guanilat siklaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
SON	: Supraoptik nükleus
SP	: Substans P
SSS	: Santral sinir sistemi
TFF	: Trefoil faktör ailesi
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör- α
TRH	: Tirotropin-salgılatıcı hormon
TRPV1	: Geçici reseptör potansiyeli vaniloid tip-1
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ZO-1	: Zonula okludens-1
XOD	: Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Mide mukozası, fizyolojik işlevlerin sürdürülebilmesi için vücuda gerekli olan besinlerin yanı sıra, çeşitli zararlı maddelere maruz kalan bir bölgedir. Etanol, nikotin, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID), Helikobakter pilori infeksiyonu, hiperozmolar çözeltiler, safra tuzları, stres ve iskemi/reperfüzyon (I/R)'a maruziyet gibi etkenler akut mukozal hasara ve mide ülseri gelişimine neden olmaktadır. Mide mukozası bu hasar yapan faktörlere karşı bütünlüğünü koruyabilmek için çeşitli fizyolojik mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalarda mukus ve bikarbonat (HCO_3^-) salgısı, mukozal kan akımı, endojen prostaglandinler (PG), nitrik oksit (NO) ve hidrojen sülfür (H_2S) gibi gaz mediyatörler önemli yer tutmaktadır. Son yıllarda, iştahın düzenlenmesinde görevli olan oreksin A, leptin, kolesistokinin (CCK), grelin ve apelin gibi peptitlerin bu mekanizmaları düzenleyerek mide mukozasında koruyucu rol oynadıkları gösterilmiştir (Tache, 2012; Izgut-Uysal ve ark., 2014; Birsen ve ark., 2017).

I/R hasarı, beyin, kalp, böbrek ve bağırsak gibi organlarda yaygın gözlenen bir klinik problemdir. Organ transplantasyonu, hemorajik şok, vasküler rüptür, kanama ve cerrahi işlemler I/R hasarına neden olmaktadır. I/R'nin neden olduğu akut mide hasarı, doku kan akımındaki azalma, mikrodamarlardaki değişiklikler ve inflamatuvar reaksiyon sonucunda gözlenmektedir. Bu süreçte, mide mukozasındaki hasarlayıcı faktörler, enterik sinir sistemi (ESS) içindeki duysal nöronlar aracılığıyla algılanabilmektedir. Asitin geri difüzyonu ve inflamatuvar sinyaller, vagal afferent duysal nöronların uyarılmasını sağlayarak otonomik mekanizmaların aktivasyonuna neden olmaktadır (Schuligoi ve ark., 1998; Michl ve ark., 2001; Danzer ve ark., 2004). Vagal afferent lifler tarafından alınan uyarılar, nükleus traktus solitarius (NTS) ve dorsal motor nükleus (DMN)'ta düzenlenen vago-vagal refleksler ile mide mukozasının korunmasını sağlayan değişikliklerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Browning ve Travagli, 2010).

Apelin, pek çok dokuda üretilen ve son yıllarda anjiyogenez, apoptozis ve proliferasyon gibi fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda rolü olduğu tespit edilen bir peptittir (Shin ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda, apelinin özellikle kan basıncının düzenlenmesi, stres cevabı, enerji metabolizması ve sıvı alımı gibi işlevlerdeki düzenleyici etkileri üzerinde

durulmuştur. Apelinin, gastrointestinal sistem (GIS)'de ekzokrin ve endokrin hücrelerde üretildiği (Susaki ve ark., 2005; Wang ve ark., 2009), apelinin reseptörü olan Anjiyotensin reseptör-benzeri 1'in (APJ) ekspresyonunun ise epitel, goblet, enterokromafin-benzeri hücreler (ECL) ve düz kas hücrelerinde, miyenterik ve submukozal pleksustaki nöronlarda bulunduğu (Fournel ve ark., 2017) gösterilmiş olmasına karşın, apelin/APJ kompleksinin GIS'deki fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Hipoksinin ve sitokinlerin GIS'de apelin ekspresyonunu artırdığı ve apelinin de proliferasyonu uyarıp; apoptozisi ve DNA hasarını baskıladığı bilinmektedir (Antushevich ve ark., 2013). Bunun dışında ekzojen apelinin midede asit salgısını (Ohno ve ark., 2012), duodenumda HCO₃⁻ salgısını (Flemstrom ve ark., 2011) ve pankreasta enzim salgısını uyardığı gösterilmiştir (Antushevich ve ark., 2016).

Apelinin bazı etkilerini vagal efferent cevapları düzenleyerek gerçekleştirdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Noduz gangliyonda reseptörü olan apelinin (O'Donnell ve ark., 2012), mide ve kolon transitini baskılayıcı ve pankreas salgısını arttırıcı etkilerinde APJ reseptörünün ve vagal efferentlerin görev aldığı bilinmektedir (Antushevich ve ark., 2016). Aynı zamanda periferik uygulanan apelinin, GIS'deki motor etkilerini CCK aracılığıyla vagal afferent nöronlar üzerinden gösterdiği saptanmıştır (Bulbul ve ark., 2017). Mide mukozasının korunma mekanizmaları ile ilgili yapmış olduğumuz çalışmalarda, apelinin strese karşı mukozal kan akımını, PGE₂ ve NO üretimini, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'nin ekspresyonunu arttırdığı ve lipid peroksidasyonunu (LPO) baskıladığı gösterilmiştir (Izgut-Uysal ve ark., 2014; Birsen ve ark., 2017). Apelinin GIS'deki bu koruyucu etkilerinin nasıl ortaya çıktığı tam olarak bilinmemekle birlikte, mevcut bilgiler, apelinin duysal nöronlar (CCK salgısı ile afferent nöronlar üzerindeki CCKA reseptörünün aktivasyonu) ya da APJ reseptörü bulunan subfornikal organlar (Dai ve ark., 2013) aracılığıyla vagal efferent nöronlar üzerinden bu etkileri gösterebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız, apelinin I/R hasarına karşı mide mukozasını koruyucu etkisinde vagus sinirinin ve kapsaisine duyarlı duysal liflerin rollerini belirlemek ve ayrıca apelinin etki mekanizmasında CCK'nın yerini göstermek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide Mukoza Bariyeri

Üst sindirim sistemi, özellikle mide ve anatomik komşuları olan duodenum ve özofagus, çeşitli zararlı etkilere maruz kalmalarına rağmen, hasar verici etkenlere karşı geliştirdikleri koruyucu mekanizmalar nedeniyle benzersizdir.

Mide mukozasının bütünlüğü, endojen ve ekzojen hasar yapıcı faktörler ile koruyucu faktörler arasındaki denge sayesinde sürdürülmektedir (Boltin ve Niv, 2014). Özel koruma mekanizmaları, lümen içeriğindeki pepsin ile beraber endojen hidroklorik asit (HCl)'in yanı sıra alkol, sigara veya ilaçlar gibi çeşitli ekzojen faktörlere karşı da savunmayı sağlamaktadır.

Asit, pepsin ve safra asitleri endojen hasarlayıcı faktörlerdir. Pepsinojen olarak isimlendirilen pepsin öncülü, esas hücreler ve mide mukozasının müköz boyun hücreleri tarafından üretilir. Pepsinojenler elektroforetik olarak 7 adet izoenzime ayrılmaktadır. Pepsinojen 1-5, grup I; pepsinojen 6 ve 7, grup II olarak bilinmektedir. Asetilkolin (ACh), gastrin ve CCK en etkili uyarıcılarıdır. Pepsinojenler, mide lümenindeki 1,6-3,5 pH aralığındaki asit tarafından ya da aktif pepsinler tarafından pepsine dönüştürülmektedir. Pepsinler pH 5'te geriye dönüşümlü olarak, pH 7'de ise dönüşümsüz olarak inaktif hale gelmektedir. Eğer yüksek miktarda asit ve pepsinojen salgılanırsa, mukus tabakası kademeli bir şekilde parçalanmakta ve H⁺ iyonlarının varlığı hücrelerin yüzeyinde düşük bir pH yaratarak hücrel hasara yol açmaktadır (Richardson, 1985). Hidrofobik deoksikolik asit gibi safra asitleri de sitotoksik ve epitel doku hasarına katkı sağlamaktadır (Chen ve ark., 2012; Jurgens ve ark., 2012). Mukoza hasarına katkı sağlayan ekzojen faktörler arasında NSAID'ler, sigara, alkol kullanımı ve emosyonel stres vardır.

Zararlı etkenlere karşı mideyi koruyucu faktörler, mukus tabakası, yüzey epiteli ya da mukozal damarlanma gibi farklı seviyelerde etkili olabilmektedir. Normal koşullarda asit ya da pepsine maruziyet olmasına karşın, bu koruyucu faktörler sayesinde gastrointestinal mukozanın yapısal bütünlüğü sağlanmaktadır. Koruyucu faktörler

preepitelyal, epitelyal ve postepitelyal olmak üzere üç düzeyde incelenmektedir. Preepitelyal düzey mukus-bikarbonat-fosfolipit bariyer olarak bilinmektedir (Laine ve ark., 2008; Tarnawski ve ark., 2012). Epitelyal faktörler ikinci koruma mekanizmasını oluşturur ki, büyüme faktörleri, PG'ler ve survivin aracılığı ile düzenlenen progenitör hücrelerin proliferasyonu bu düzeyde incelenmektedir (Tarnawski ve ark., 2012; Tarnawski ve ark., 2013). Mukozal damarlar ile sağlanan kesintisiz kan akımı ve duysal sinirler ise üçüncü savunma hattını oluşturur (Laine ve ark., 2008; Tarnawski ve ark., 2012; Tarnawski ve ark., 2013).

2.1.1. Mukus Tabakası

Mukus-tampon-fosfolipit tabakası, epitelin yüzeyinde ilk koruma basamağını oluşturur. Yüzey mukusu, yüzey epitel ve kript hücrelerinin salgı granülleri içerisinde önceden oluşturulmuş hücre içi mukus ile dinamik bir denge içindedir ve 'mukus bariyer'ini oluşturur. Bu tabakanın en önemli bileşenleri, müsin olarak bilinen mukus glikoproteinleri, sürfaktan fosfolipitleri, trefoil faktör (TFF) ailesi peptitleri ve bikarbonat tamponudur (Boltin ve Niv, 2014).

Mukus Jel

Mukus, tüm GIS boyunca salgılanarak sıkı ve yapışkan bir fiziksel bariyer oluşturmaktadır. Midede yüzey epitel hücreleri ile lümende bulunan asit, pepsin, mikroorganizma, toksin gibi zararlı etkenleri birbirinden ayırmaktadır. Mukus tabakası, yüzey epitel hücrelerinin apikal kısmından salgılanan mukus granülleri aracılığı ile oluşturulur ve %5'i müsin gen ürünleri iken, %95'i sudur. Müsin üniteleri, jelleşme için gerekli olan büyük müsin multimerlerini oluşturmak üzere polimerize olur (Jordan ve ark., 1998; Atuma ve ark., 2001). Mukusun etkinliği, jel yapısına ve kalınlığına bağlıdır (Allen ve Flemstrom, 2005). İnsan genomunda en az 21 müsin geni kodlanmıştır. Müsinlerin bir kısmı membrana bağlı olarak bulunurken, bir kısmı lümene sekrete edilmektedir. Midede bulunan müsinler; MUC 1 (membrana bağlı), MUC5A ve MUC6 (salgılanan)'dır. MUC5AC ve MUC6, mukus tabakasının katmanlarındaki gastrik müsin gen ürünleridir ve bu müsinler ile oluşturulan jel tabakası stabildir ve asitin yüzey nötralizasyonunu sağlayan tamponları içerir (Ho ve ark., 2004). Böylece lümendeki pepsin moleküllerinin epitelin alt kısımlarına ulaşmasını engeller. Ayrıca gastrik müsin

molekülleri yapısal olarak yağ asitlerine bağlıdır ki bu durum, onların daha hidrofobik olmalarını sağlayarak H⁺ iyonlarının geri difüzyonunu yavaşlatır. Lümendeki zararlı ajanlara karşı mukus tabakasının kalınlığının arttırılması normal bir koruma mekanizmasıdır. Bu durum, mikroorganizmaların epitel altındaki bölgeye geçişini engellediği gibi bikarbonat iyonları ile birlikte yüzey epitelinde neredeyse nötral pH'a sahip bir çevre oluşturulmasına katkı sağlamaktadır.

Fosfolipitler

Lipitler mide mukusunun kuru ağırlığının %25'ini oluşturur ve nötral lipitleri, glikolipitleri ve fosfolipitleri içerir (Slomiany ve ark., 1985). Lüminal yüzey üzerinde hidrofobik bir özellik sağlayan sürfaktan fosfolipitler, hidrojen iyonunun geri difüzyonunu yavaşlatır (Lichtenberger, 1999). Fosfolipitler, mukus tabakasının viskozitesini ve geçirgenliğini önemli ölçüde arttırır. Aspirin ve safra tuzları gibi ülserojenik maddeler mukus jelini ve fosfolipit tabakasını bozarak mukoza hasarına yol açmaktadır. Helikobakter pilori, mün-lipit ağını proteoliz ve lipoliz ile bozarak gastrit, gastrik ülser ve duodenal ülser gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir (Sarosiek ve ark., 1991a; Sarosiek ve ark., 1991b).

Bikarbonat Tamponu

Mide lümenine salgılanan her bir H⁺ iyonuna karşılık paryetal hücreler, HCl asit ile beraber eş zamanlı olarak intertisyel aralığa ve kan damarlarına HCO₃⁻ salgılayarak 'alkali akış'ını sağlamakta (Allen ve Flemstrom, 2005; Tarnawski ve ark., 2013) ve plazmanın tamponlanmasına katkıda bulunmaktadır (Niv ve Fraser, 2002). Ayrıca, apikal kısımda bulunan Cl/HCO₃⁻ değiştirici protein aracılığıyla lümeneye de HCO₃⁻ salgısı gerçekleşmektedir. Bikarbonatın mukus jel tabakasında bulunmasının nedeni, asit ve pepsinin nötralizasyonudur (Allen ve Flemstrom, 2005; Nassini ve ark., 2010). HCO₃⁻, oldukça asidik olan lüminal yüzeyden nötral epitel yüzeyine doğru bir pH gradiyenti sağlayarak, mukus-tampon bariyerini oluşturmaktadır (Allen ve Flemstrom, 2005). Hidrofobik fosfolipitler ile beraber, ilk savunma hattı olarak görev yapmaktadır (Allen ve Flemstrom, 2005). Özellikle PGE₂, hücre içi kalsiyum (Ca⁺²) ve siklik adenozin monofosfat (AMP) miktarını arttırarak bikarbonat sekresyonunu uyarmaktadır (Palileo ve Kaunitz, 2011; Takeuchi ve ark., 2011). Ayrıca, kortikotropin-salęılatıcı

faktör (CRF), melatonin, uroguanilin ve oreksin-A da bikarbonat sekresyonunu arttırmaktadır (Niv ve ark., 2002; Boltin ve Niv, 2014).

Trefoil Faktör Ailesi (TFF) Peptitleri

TFF peptitleri, midede münin molekülleeri ile birlikte salgılanan ve mukus tabakasında bulunabilen proteazlara karşı dirençli küçük (7-12 kDa) peptitlerdir. TFF1, mide epitel hücrelerinden MUC5AC münini ile; TFF2, mide ve duodenum bezlerinden MUC6 münini ile ve TFF3, goblet hücrelerinden MUC2 münini ile birlikte salgılanır (Allen ve Flemstrom, 2005). Özellikle münin salgı veziküllerinde bulunan bu peptitler, müninlerin hücre içinde oluşumunun ve paketlenmesinin düzenlenmesinde görev almaktadır (Newton ve ark., 2000; Thim ve ark., 2002). Mukozal hasar sonrası hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz/mitojen ile aktive olan protein kinaz (ERK/MAPK) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi hücre içi sinyal yolaklarının aktivasyonunu sağlayarak epitelin tamirinde oldukça önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Palileo ve Kaunitz, 2011). Ayrıca, tümör baskılayıcı, anti-apoptotik ve antiinflamatuvar özellikleri de gösterilmiştir (Boltin ve Niv, 2014). TFF2, mukus tabakası vizkozitesini ve jel ağının stabilitesini arttırmaktadır (Thim ve ark., 2002).

2.1.2. Yüzey Epitel Hücreleri

Mukozal korunmanın ikinci basamağını yüzey epitel hücreleri oluşturmaktadır. Epitel hücrelerinin yüzeyi hidrofobiktir; asiti ve suda çözünen zararlı ajanları yüzeylerinde bulundurdukları fosfolipitler sayesinde iterler (Lichtenberger, 1999). Birbirlerine sıkı bağlantı proteinleri ile bağlıdır ve seçici olarak geçirgen olmakla birlikte asitin ve pepsinin geri difüzyonuna izin vermemektedir (Allen ve Flemstrom, 2005).

Epitel hücreleri fiziksel bir bariyer oluşturmalarının yanı sıra mukusu, bikarbonatı, PG'leri, ısı şok proteinlerini (HSP), TFF peptitlerini, antimikrobiyal katelisidinleri ve β -defensinleri sentezleyerek mukozal homeostazisin sağlanmasına katkıda bulunmaktadırlar (Laine ve ark., 2008; Tarnawski ve ark., 2013).

Sıcaklık, stres veya sitotoksik ajanlar mide epitel hücrelerinde HSP salgısını uyarmaktadır (Tsukimi ve Okabe, 2001). HSP'ler protein denatürasyonunu engellemekte ve sıcaklık artışı sırasında permeabilityyi arttırarak hücrelerin hasardan korunmasını

sağlamaktadır (Suemasu ve ark., 2009). TFF peptitleri ise, hasar sonrası mukozal yenilenmeyi düzenlerken (Aihara ve ark., 2017); katelisinler ve β -defensinler katyonik peptitlerdir ve bakteri kolonizasyonunu engelleyerek mukoza yüzeyinin korunmasında rol oynamaktadırlar (Bauer ve ark., 2013). Ayrıca, bu peptitlerin mide ülseri iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2006).

Hücreler arasındaki sıkı bağlantıların yapılanması ve yüzey epitel hücrelerinin rejenerasyonu (proliferasyon) hasar sonrası mukozal bütünlüğün yeniden sağlanması için kritik öneme sahiptir (Saenz ve Mills, 2018). Hasar sonucunda açıkta kalan bazal laminanın kapatılmasına yönelik olarak gastrik pit hücrelerinin göçünün birkaç dakika içinde gerçekleştiği etanol ile oluşturulan akut hasar modelinde deney hayvanlarında gösterilmiştir (Lacy ve Ito, 1984). Progenitör hücreler, mide pitleri ile mide bezlerinin arasında bulunmaktadır ve migrasyona ek olarak proliferasyon özellikleri vardır. Progenitör hücreler epitel yüzeyine göç ederken, farklılaşmaya da uğramaktadırlar. Epitelin tamamen yenilenmesi 3-7 gün arasında sürmektedir (Radi ve ark., 2013).

Yüzey epitel hücrelerinin proliferasyon ve rejenerasyonları, epitel hücreleri tarafından salgılanan faktörler ile düzenlenmektedir. PG'ler bölgesel olarak oluşturdukları koruyucu etkileri dışında proliferatif etki de göstermektedir. PG uygulanan sıçanlarda mide epitelinde rejenerasyonun çok daha hızlı olduğu gösterilmiştir (Reinhart ve ark., 1983). Mide epitelindeki progenitör hücrelerde bulunan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) (Tarnawski ve ark., 1992) aracılığı ile PGE_2 ve gastrin, hücre yenilenmesini ve mukozal tamiri uyaran MAPK yolağını aktive etmektedir (Pai ve ark., 2002; Radi ve ark., 2013).

2.1.3. Endotel Bariyeri

Kapillerler ve toplayıcı venüller, bazal membranın üzerine tek sıra halinde yerleşmiş endotel hücre tabakasından oluşmaktadır. Endotel hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantı proteinleri sadece oksijen, karbondioksit (CO_2) ve besin maddelerinin geçişine izin veren bir bariyer niteliğindedir. Aynı zamanda endotel hücreleri metabolik olarak aktif bir organ gibi davranarak koagülasyonda ve prostanoidler, hormonlar ve büyüme faktörlerinin üretiminde de rol oynamaktadır (Tarnawski ve ark., 2012). Midede endotel hücrelerinin karakteristik özelliği fenestralara ve bariyerden maddelerin taşınmasında rol

oynayan pinositotik veziküllere sahip olmasıdır. Ayrıca, endotel hücrelerinde von Willebrand faktörü, P-selektin, kimokinler, interlökin-8, endotelin-8 ve anjiopietin-2 içeren Weibel-Palade cisimcikleri olarak isimlendirilen veziküller vardır (Bonfanti ve ark., 1989; Tarnawski ve ark., 2012).

Endotel hücreleri, mide mukozasını lökotrien C₄, tromboksan A₂ ve endotelin gibi mukozada hasar yapıcı aktiviteye sahip vazokonstriktör maddelere karşı koruyan NO ve prostasiklin (PGI₂) gibi vazodilatör maddeleri salgılamaktadır (Tarnawski ve ark., 2005; Tarnawski ve ark., 2012). Ayrıca PGE₂, karbon monoksit (CO), doku plazminojen aktivatörü (t-PA), VEGF ve bFGF endotel hücrelerinin koruyucu etkilerine katkıda bulunmaktadır. Bu mediyatörlerin koruyucu etkileri trombositlerin ve lökositlerin adezyonunu azaltmak, trombolizi uyarmak, doku perfüzyonunun sürekliliğini sağlamaktır (Tarnawski ve ark., 2012).

Midede ülseratif hasarlanma sırasında, mikrodamarlar da dahil olmak üzere tüm mukozal bileşenler tahribata uğramaktadır. Derin mukozal lezyonların iyileşebilmesi için; yüzey epitelin, salgı bezlerinin ve lamina proprianın ve mukozal mikrovasküler yapılanmanın yeniden oluşturulması gerekmektedir (Tarnawski, 2005). Son aşamada ise anjiyogenez ile yara bölgesinde bulunan mikrovasküler endotel hücreleri, göç ederek proliferasyon olmaktadır ve yeni damar ağının oluşturmaktadır (Ahluwalia ve ark., 2016).

2.1.4. Mukozal Kan Akımı

Mikrodamarlar ile sağlanan kesintisiz kan akımı, diğer dokularda da olduğu gibi GIS'in yapısal bütünlüğünün ve fonksiyonunun devamlılığı için oldukça kritik öneme sahiptir (Tarnawski ve ark., 2012). Mikrodolaşım, oksijen ve besinlerin tüm doku ve hücrelere ulaştırılmasını sağlarken, toksik metabolitlerin ise uzaklaştırılmasına aracılık eder. Mide mukozası boyunca lamina propriyada çok yoğun bir kapiller ağ bulunmaktadır. Submukozal arterlerden köken alan kapiller mikrodamarlar mide bezlerine yakın olarak yukarı doğru uzanır ve en uç noktadaki yüzey mukus hücrelerinin altında bulunan toplayıcı venüller ile birleşmektedirler. Toplayıcı venüller ise kanı submukozal venlere taşımaktadır. Mide mukozasının çeşitli etkenler ile hasara uğratılması sonrasında tetiklenen en önemli savunma mekanizması, hızlı bir şekilde mukozal kan akımının artırılmasıdır. Ortamdaki zararlı ajanın uzaklaştırılmasını sağlayan bu cevap,

mukozanın daha fazla zarar görmesinin engellenmesi için oldukça önemlidir. Bu hiperemik yanıtta, kapsaisine-duyarlı ekstrinsik duysal sinir liflerinin (EPAN) uyarılması sonucunda salgılanan kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) ve substans P (SP) aracılık etmektedir (Abdel-Salam ve ark., 1999). CGRP, endotelde NO üretimini uyararak submukozal damarların vazodilatasyonuna ve sonuçta da kanlanmanın artışına sebep olmaktadır. Yüksek doz kapsaisin uygulaması ile duysal nöronların denervasyonunun ya da NO üretiminin baskılanmasının, hiperemik cevabı azalttığı ve mide mukozasındaki hasarı arttırdığı bilinmektedir (Magierowski ve ark., 2014). Bunların dışında siklooksijenaz-1 ve 2 (COX-1 ve COX-2) enzimleri tarafından üretilen PG'lerin ve gaz mediyatörlerinin de kan akımını güçlendirici etkileri ortaya konulmuştur (Takeuchi ve ark., 2010; Wallace ve ark., 2017).

2.1.5. Gaz Mediyatörler

Mide mukozasının korunmasında görevli tüm mekanizmalarda rol oynayan gaz mediyatörlerinden en fazla çalışılanı NO'dur. NO, endotel aracılı gevşetici bir faktör olarak bilinmektedir (Moncada ve ark., 1991). GI sistemde NO üretimi pek çok hücre tipinde vardır ve NO üretiminden sorumlu enzimler: Nitrik oksit sentaz (NOS)-1 (nöronal-nNOS), NOS-2 (indüklenen-iNOS) ve NOS-3 (endotelyal-eNOS)'tür. NOS-1 ve 3 ekspresyonları hücrelerde normal koşullarda gerçekleşir, ancak NOS-2 inflamasyon durumunda tetiklenmektedir (Moncada ve ark., 1991). Düşük miktarda NO üretiminden nNOS ve eNOS, yüksek miktarda NO üretiminden iNOS sorumludur. Sitokinler, büyüme faktörleri ve inflamasyon iNOS'un aktivitesini ve ekspresyonunu düzenlemektedir. Dolayısıyla başlıca makrofajlarda yüksek miktarda üretilen ve oksidatif strese neden olan NO'nun sepsis gibi inflamatuvar süreçlerdeki negatif etkilerinden iNOS sorumludur (Czekaj ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2017).

H₂S, geçmişte toksik bir gaz olarak bilinirken, özellikle sinir sistemi ve dolaşım sisteminde fizyolojik rollerinin olduğu gösterilmiştir (Kimura, 2011). Diğer bir gaz mediyatör olan CO, hemoksijenaz-1 (HO-1; indüklenebilir), HO-2 (temel enzim) ve HO-3 enzimleri aracılığı ile hem molekülünden oluşmaktadır. HSP-32 proteini olarak da bilinen HO-1, bazal düzeyde GI sistemde epitel hücreleri, mononükleer hücreler, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi çeşitli hücrelerde bulunmaktadır ve oksidatif stres,

ultraviyole A radyasyonu, bakteriyal lipopolisakkaritler (LPS), ağır metaller, NO ve proinflatuar sitokinler gibi çeşitli stres koşulları ile miktarı artabilmektedir (Chang ve ark., 2015; Magierowska ve ark., 2018). Hücre homeostazisinin sağlanmasında HO-1'in uyarılması, adaptif bir mekanizma olarak düşünülmektedir. En yüksek ekspresyonu beyin ve testiste olan HO-2 ise GI sistemde başlıca düz kas membran potansiyelinin düzenlenmesinde ve nöromodülasyonda görevlidir (Gibbons ve ark., 2013).

Yapılan çalışmalarda NO, H₂S ya da CO salgılayan kimyasalların veya farmakolojik donörlerinin kullanımının NSAID, etanol, soğuk stresi ya da I/R ile oluşturulan akut hasara karşı mideyi hem koruduğu hem de hasar sonrası iyileşme sürecini hızlandırdığı gösterilmiştir (Magierowski ve ark., 2016a; Magierowski ve ark., 2017; Magierowski ve ark., 2018a; Magierowski ve ark., 2018b).

Gastrointestinal sistemde zararlı etkilerin varlığında kan akımının sürekliliği ve düzenlenmesi, mukozal korunmanın sağlanmasında kritik bir basamaktır. Midede asit geri difüzyonuna karşı mukozayı korumaya yönelik gelişen hiperemik cevapta, gaz mediyatörler önemli yer tutmaktadır. Hiperemik cevaptan sorumlu mekanizma, duysal sinirlerin asit ile uyarılması, bu nöronların ortama CGRP salgılaması ve CGRP'nin de NO üretimini tetiklemesidir (Lippe ve Holzer, 1992). CGRP'nin kan akımını artırıcı etkisinin NO aracılı olduğu, NOS inhibitörünün kullanılması sonucunda bu etkinin ortadan kalkmasıyla gösterilmiştir. Aynı şekilde CO ve H₂S'in de NSAID veya etanol gibi zararlı ajanlara karşı korunmada doku perfüzyonunu NO gibi soluble guanilat siklaz/siklik guanozin monofosfat (sGC/cGMP) yolağı üzerinden arttırdıkları gözlenmiştir (Fiorucci ve ark., 2005; Magierowska ve ark., 2015; Magierowski ve ark., 2016b). Son yıllarda yapılan bir çalışmada H₂S'in vazodilatör etkisinde duysal liflerin ve CGRP'nin rol oynadığı gösterilmiştir (Magierowski ve ark., 2018a).

NO, CO ve H₂S'in, mukozal kan akımını artırıcı etkileri dışında, damar sisteminin devamlılığının sağlanmasında önemli bir yeri olan lökosit adezyonunun engellenmesinde de düzenleyici rolleri vardır. NO sentezinin inhibisyonu, lökosit kemotaksisini anlamlı şekilde arttırmaktadır. NO'nun bu etkisini, nötrofiller üzerindeki β -2 adezyon moleküllerinin ve endotel üzerindeki P-selektin proteinlerinin ekspresyonlarını inhibe ederek gösterdiği ortaya konulmuştur (Thom ve ark., 1994). NO,

akut inflamasyon durumunda nötrofillerin kemotaksisini ve adezyonlarını inhibe eder, kronik inflamasyon durumunda da iNOS aracılı NO, vasküler permeabiliteyi ve anjiyogenezi düzenlemektedir (Sieber ve ark., 2001; Kumar ve ark., 2017). Aynı şekilde CO ve H₂S'in de lökositlerin endotele adezyonunu engellediği bilinmektedir (Zanardo ve ark., 2006; Urquhart ve ark., 2007).

Gaz mediyatörler, mukus ve bikarbonat sekresyonu üzerinde de uyarıcı etkiler göstererek mukozal bariyere katkı sağlarlar (Takeuchi ve ark., 2011; Costa ve ark., 2013; Motta ve ark., 2015).

2.1.6. Prostaglandinler

PG'ler, mide ve duodenumda COX enzimleri tarafından araşidonik asit metabolizması sırasında üretilen ve toksik ajan, stres ve NSAID gibi çeşitli faktörlere karşı mukozal bütünlüğün devamlılığının sağlanmasında görevli mediyatörlerden biridir (Takeuchi, 2014). COX enziminin COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu vardır. Temel izoform olan COX-1, mide mukozasının bütünlüğünün devamlılığının sağlanmasında, zararlı ajanlara karşı midenin adaptasyon mekanizmalarında ve kronik ülserlerin iyileşme süreçlerinde görevliyken; indüklenen izoform olan COX-2, inflamatuvar koşullarda rol oynar (Brzozowski ve ark., 1999b; Brzozowski ve ark., 2005). COX-1 tarafından üretilen PG'lerin aksine, COX-2 tarafından üretilen fazla miktarda PG'lerin mide mukozasında inflamatuvar reaksiyonları arttırdığına inanılmaktadır (Czekaj ve ark., 2016). Her ne kadar COX-2 aracılı PG'lerin inflamatuvar hücrelerin çağırılması, vasküler permeabilitenin arttırılması ve dolayısıyla ödeme ve ağrıya neden olmaları gibi zararlı etkileri gösterilmiş olsa da, hem COX-1 hem de COX-2 inhibitörlerinin gastrik hasarı arttırdığı ve mukozal kan akımını azalttığı gözlenmiştir (Brzozowski ve ark., 2001a; Czekaj ve ark., 2016).

Dört tip reseptörü olan PG'ler, midede asit ve mukus-bikarbonat salgısını, mukozal kan akımını ve motiliteyi düzenlemektedir. PGE₂, iki yoldan asit salgısını inhibe etmektedir. Hem paryetal hücrelerden asit salgısını hem de enterokromaffin-benzeri hücrelerden (ECL) histamin salgısını EP3 reseptörü aracılığı ile baskılamaktadır (Kato ve ark., 2005). PGE₂, mukus ve bikarbonat salgısını EP4 ve EP1 reseptörleri aracılığı ile arttırmaktadır (Takeuchi ve ark., 1999). İndometazin gibi COX enzim inhibitörü olan

NSAID'lerin kullanımının midede hipermotiliteye ve mikrodolaşımda bozulmalara neden olduğu bilinmektedir. EP2, EP3 ve EP4 reseptör agonistlerinin bu bozulmaları düzelterek kan akımını arttırdığı gösterilmiştir (Ohno ve ark., 1999).

PG'ler, yüzey aktif fosfolipitlerin miktarını arttırmakta, epitelin tamirini ve mukozal iyileşmeyi uyarmaktadır. Bunların yanı sıra, mast hücrelerinin ve lökositlerin aktivasyonunu, endotele lökosit ve trombosit adezyonunu, serbest radikal oluşumunu ve mikrovasküler iskemiyi engellerler (Hogaboam ve ark., 1993; Armstrong, 1995; Suzuki ve ark., 2001). PG'ler ayrıca duysal liflerin duyarlılığını arttırarak CGRP salgısına katkı sağlamaktadırlar (Luo ve ark., 2013).

Gastrin, tirotropin salgılatıcı hormon (TRH), CCK, östrojen, CGRP, gastrin salgılatıcı peptit (GRP), leptin ve grelin gibi nöropeptit ve hormonların, hasara karşı PG'lerin salgılanmasını, duysal sinirlerin aktivasyonunu ve mukozal tamir ve iyileşme mekanizmalarını tetikleyerek koruyucu etki gösterdikleri ortaya konulmuştur (Brzozowski ve ark., 2006; Tache, 2012). PG'ler, özellikle nöronal koruma mekanizmalarının bozulduğu durumlarda, gastrik mukozal bütünlüğün sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Dajani ve ark., 2003).

2.1.7. Mukozal Hasar Sonucu Tetiklenen Stres Proteinleri

Isı şok proteinleri, pek çok dokuda bulunan, ısı gibi çeşitli stres faktörlerine karşı hücreleri koruyan, fizyolojik fonksiyonları, proteinlerin katlanmalarını ve trafiklerini düzenlemek amacıyla şaperonlar olarak görev yapan büyük bir protein ailesidir. Mukoza için zararlı etkilere bağlı olarak yapımı artan matriks metalloproteinazlar (MMP), survivin, leptin, anneksin ve HO gibi stres proteinleri mukozal hasarı tamir ederler ki, bu proteinlerin miktarı ile mukozanın korunması paraleldir (Palileo ve Kaunitz, 2011).

Peptik ülserlerin hem patogeneğinde hem de iyileşmesinde rol oynayan MMP'ler, hücre dışı matriksin bozunmasını sağlayan çinko-bağımlı endopeptitazlardır ve matriksin yeniden düzenlenmesinde, yara iyileşmesinde rol oynayan başlıca etkenlerden biridir (Visse ve Nagase, 2003). Midede fibroblast, epitel ve inflamatuvar hücreler gibi çeşitli hücre tiplerinden ortama salgılanmaktadırlar (Shahin ve ark., 2001; Li ve ark., 2013).

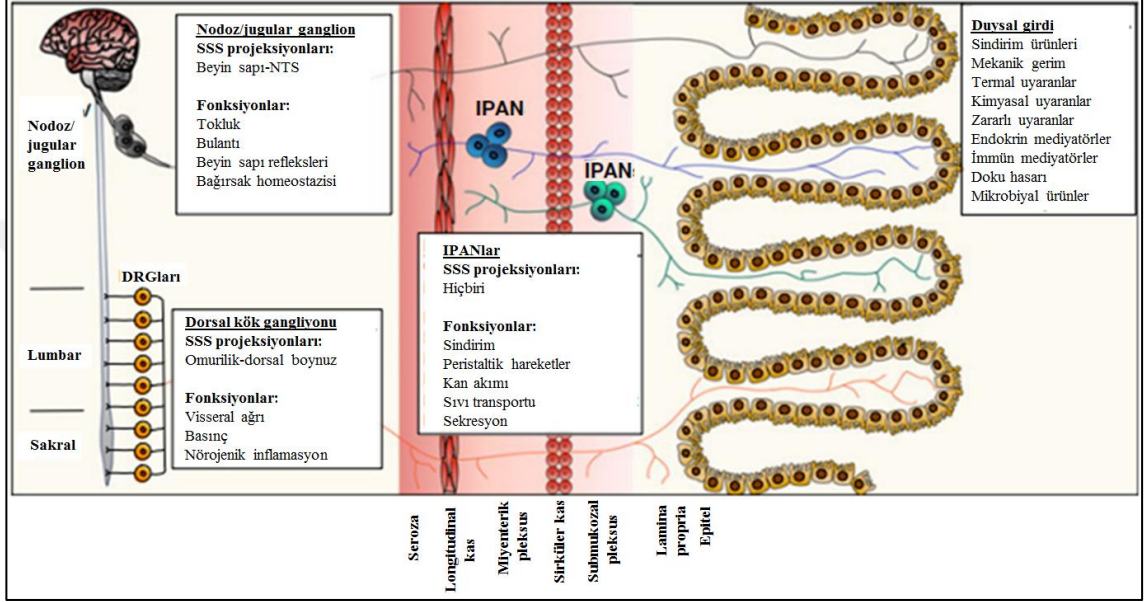
Anneksin-1, anneksin protein ailesinin bir üyesidir ve miyofibroblastlarda, düz kas hücrelerinde, lökositlerde, mast hücrelerinde ve T hücrelerinde bulunan formil-peptit reseptörlerine bağlanmaktadır (Chiang ve ark., 2006). Hücre ve doku hasarına cevaben aktive olan anneksin-1, immün cevaplarda modülatör olarak görev almaktadır (Martin ve ark., 2008; Facio ve ark., 2011). Sağlıklı mide mukozasında da bulunan anneksin-1'in miktarı, ülser gelişimi ile artmaktadır. Anneksin-1 antiinflamatuvar etkilerini nötrofillerin adezyonunu ve migrasyonunu engelleyerek, polimorfonükleer hücrelerin apoptozunu hızlandırarak ve fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktivitesini azaltarak göstermektedir (Lim ve ark., 1998; Gavins ve ark., 2003; Solito ve ark., 2003).

Survivin, embriyonik ve fetal gelişimde, karsinogenezde ve doku rejenerasyonunda görevli önemli bir proteindir. Ayrıca epitel hücrelerinin bütünlüğünün sağlanması ve mukozal tamir mekanizmalarının tetiklenmesinde de rol almaktadır. Mide progenitör hücrelerinde üretilen 16,5 kDa'luk apoptozu baskılayan ve mitozu uyaran bir proteindir (Chiou ve ark., 2005). Kaspaz-3 ve 7'ye bağlanarak apoptozu baskılamaktadır. Bu proteinin üretim/yıkım dengesini ubiquitin/proteozom yolağı belirlemektedir (Chiou ve Mandayam, 2007). Yapılan çalışmalarda survivinin etanolle oluşturulan hasara karşı mide epitel hücrelerini koruduğu ve survivinin protein ekspresyonunun baskılanmasının etanol aracılı sitotoksiteyi ve apoptozu arttırdığı tespit edilmiştir (Jones ve ark., 2008).

2.1.8. Duysal Sinirler

Gastrointestinal sistemin görevi sadece besinlerin alımı ve sindirimi değil, aynı zamanda zararlı ya da vücuda yararsız maddelerin elimine edilmesidir. Bu görevlerin yerine getirilebilmesi ancak lümen içeriğinin moleküler olarak analiz edilebilmesi ile mümkün olabilmektedir (Grundy, 2002; Holzer, 2006). Sindirim sistemi, lümendeki içeriği devamlı olarak izlemeye yardımcı olan sinirsel bir gözetleme ağına sahiptir (Holzer, 2002). Bu sinirsel ağ, ESS pleksuslarında bulunan intrinsik duysal nöronlardan (IPAN) ve vagal ve spinal afferent nöronlar olarak ikiye ayrılan EPAN'lardan oluşur. Duysal nöronlar mukozadaki endokrin ve immün hücreler ile yakın iletişim ve modalite özellikleri sayesinde lümen, intertisyel aralık, damar ve kas içindeki kimyasal ve fiziksel değişiklikler ile uyarılabilmektedirler (Gebhart, 2000; Grundy, 2002).

Duysal nöronlar çeşitli durumlara karşı farklı mekanizmalar ile gastrointestinal sistemin homeostazisinin korunmasına katkı sağlamaktadır. Bunlar; ağrının algılanması, otonomik reflekslerin tetiklenmesi, nöroendokrin cevapların uyarılması ve hasar bölgesinde koruyucu doku reaksiyonlarının başlatılmasıdır (Holzer, 2006).



Şekil 2.1. Gastrointestinal sistemi innerve eden ekstrinsik duysal nöronların farklı fonksiyonları düzenlemesi. IPAN, intrinsik primer duysal nöron; DRG, dorsal kök gangliyonu; SSS, santral sinir sistemi; NTS, nükleus traktus solitarius (Lai ve ark., 2017).

GIS, periferik organlar arasında en yoğun innervasyonu olan bölümdür. IPAN'lar, GIS'in uzunluğu boyunca iki ayrı sinir ağında bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Furness ve Costa, 1980). Miyenterik pleksus, longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında; submukozal pleksus, GIS'in submukoza kısmında bulunmaktadır. Miyenterik ve submukozal pleksuslar hem birbirleri ile ilişki halinde, hem de sindirim sisteminin tüm tabakalarına (muskularis eksterna, submukoza, epitel) uzanmaktadır. IPAN'lar, internöronlar ve motor nöronlar ile kompleks sinir ağları oluşturarak sindirim fonksiyonunun her aşamasını düzenlemektedirler (Furness ve ark., 2014). IPAN'lar tarafından oluşturulan lokal refleksler ile kas hareketleri, salgı fonksiyonu ve kan akımı düzenlenmektedir.

Ekstrinsik duysal nöronlar, dorsal kök gangliyonu (DRG) ve nodoz/jugular gangliyonlarda hücre gövdeleri olan spinal ve vagal duysal afferent liflerden

oluşmaktadır (Sawchenko, 1983). Spinal afferentler, medulla spinalisin dorsal boynuzunda sonlanırken, vagal afferentler beyin sapındaki NTS'ta sonlanmaktadır. Her iki ekstrinsik duysal lif de musküler ve mukozal tabakaları innerve etmektedir. Spinal afferentler, ağrı, termal ve mekanik visseral duyuları ve zararlı uyarıyı algılamak; vagal afferent nöronlar, daha çok homeostatik fizyolojik süreçlerde (salgı, motilite, besinin algılanması gibi), ağrısız visseral duyuların algılanmasında (tokluk ve bulantı gibi) ve kusmada rol almaktadır (Holzer, 2002). Gastroduodenal mukozadaki afferent nöronların aktivasyonu motilite, mukus ve sindirim salgılarının sekresyonlarını etkileyen çeşitli lokal (intramural) ve vago-vagal (ekstramural) reflekslerin aktivasyonunu sağlamaktadır (Holzer, 1998; Furness ve ark., 2014).

Duysal liflerin stimülasyonu farklı mide ülseri modellerinde koruyucu etkiler göstermektedir. Tam tersine duysal afferent sinirlerin denervasyonu ise mukozal lezyonları arttırmakta ve ülser iyileşmesini yavaşlatmaktadır. Duysal liflerin koruyucu etkilerini gösterebilmesinde görevli nörotransmitter olan CGRP, adenozin, SP ve ACh gibi vazodilatör bir peptittir (Brain ve ark., 1985), ayrıca apoptozu (Sueur ve ark., 2005; Zhao ve ark., 2010), oksidan stresi (Song ve ark., 2009), proliferasyonu ve trombosit agregasyonunu (Li ve ark., 2008) engelleyici etkiler göstermektedir. CGRP etkilerini CGRP1 ve CGRP2 olmak üzere 2 ayrı reseptör üzerinden göstermektedir (Bell ve McDermott, 1996). CGRP'nin, özellikle ATP'ye duyarlı K⁺ kanallarının aktivasyonu üzerinden mukozal kan akımını arttırdığı ve asit salgısını baskıladığı çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiştir (Peskar ve ark., 2002).

Son yıllarda, CGRP'nin I/R hasarına karşı sıçan mide mukozasını antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkiler ile koruduğu ortaya konulmuştur. Sıçanlarda, I/R hasarının neden olduğu mukozal ödem, kanama, hücre ölümü ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun i.p. CGRP uygulaması ile azaldığı rapor edilmiştir (Feng ve ark., 2011). CGRP'nin mide koruyucu etkilerinin, NOS inhibitörü olan NG-nitro L-arjinin metil ester (L-NAME)'in kullanımı ile ortadan kalktığı görülmüştür (Matsumoto ve ark., 2001). CGRP, NO üretimini NOS'un başlıca endojen inhibitörü olan asimetrik dimetil arjinin (ADMA)'in baskılanmasını sağlayarak arttırmaktadır (Liu ve ark., 2008). Dolayısıyla CGRP, NO aracılığı ile de etkilerini gösterebilmektedir (Tache, 2012). Peptit YY, adrenomedulin,

amelin, glukagon-benzeri peptit-1 (GLP-1) gibi çeşitli peptitlerin de mideyi koruyucu etkilerinde CGRP'nin rolünün olduğu bilinmektedir (Tache, 2012). Duysal liflerdeki TRPV1 reseptörleri aracılığıyla, sinir büyüme faktörü (NGF), vasküler duvarın gerilmesi, bradikinin, prostaglandinler ve endotelin gibi pekçok lokal faktör de CGRP salgısını arttırmaktadır. Aynı zamanda kannabinoidler de CGRP salgısının regülasyonunda rol oynamaktadır (Lindsay ve ark., 1989; Brain ve Grant, 2004).

Spinal Duysal Sinir Lifleri

Spinal afferent sinirlerin başlıca görevleri, mukoza herhangi bir hasar verici ajana maruz kaldığı zaman vasküler, sekretuar ya da motor fonksiyonlar üzerinde lokal bir düzenleyici etki sağlamaktır (Holzer, 1998). Spinal afferent sinirlerin bu efferent-benzeri özellikleri sayesinde sinir uçlarından CGRP, nörokinin A (NKA), NO, ATP ve substans P maddesi salgılanmaktadır. Bu mediyatörlerin etkisi ile elektrolit, mukus ve sıvı sekresyonu, arteriollerin dilatasyonu ile kan akımının artışı, immün hücrelerin uyarılması ve vasküler permeabilitenin artışı gerçekleşerek 'nörojenik inflamasyon' başlatılmaktadır (Maggi, 1995; Holzer, 1998; Bartho ve ark., 1999). Nörojenik inflamasyon hasarlı dokuda aslında tamir sürecinin başlatılmasına yardımcı olan bir süreçtir.

Nöron koruma mekanizmalarının aktivasyonunda etkili başlıca faktör, midede asitin geri-difüzyonudur. HCI ve pepsin midede oldukça hasarlayıcı faktörler olarak etki göstererek epitel bariyerinin bozulmasına neden olmaktadır. Lamina propriaya asitin ulaşım spinal sinirleri uyarması ile gastrik mukozada korunmanın arttırılmasına yönelik olarak periferel mekanizmalar başlatılmaktadır (Holzer ve ark., 1991; Raybould ve ark., 1992). Bu mekanizmalar arasındaki en önemli olanlar; mukozal kan akımının, mukus ve bikarbonat sekresyonlarının arttırılması ve asit sekresyonunun azaltılmasıdır (Ichikawa ve ark., 2000; Akiba ve ark., 2001). Bu mekanizmalar dışında duysal sinirlerin uyarılması, nöral refleks aracılığı ile ESS'deki NOS/VIP/NPY-pozitif hücrelerin aktivasyonunu sağlayarak midenin gevşemesini sağlamaktadır (Schicho ve ark., 2001; Schicho ve ark., 2003). Ayrıca, özefageal ve pilorik sfinkterlerde de kasılma gerçekleşerek fazla asitin özefagusa ve duodenuma geçişi önlenmektedir.

Vagal Afferent Sinir Lifleri

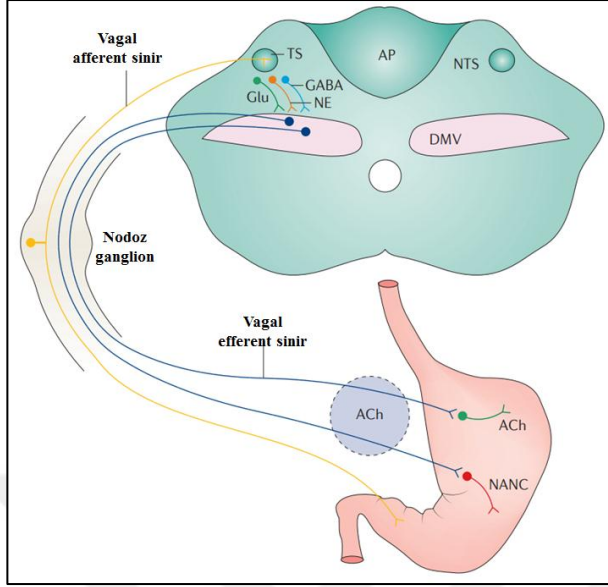
Afferent nöronlar tarafından tetiklenen koruma mekanizmaları, sadece lokal etkili olan efferent benzeri özellikleri sayesinde değil, davranışsal, otonomik ve nöroendokrin mekanizmaların uyarılmasını sağlayıcı santral yolların aktivasyonu aracılığı ile de tetiklenmektedir (Holzer, 2006). Bu fizyolojik cevaplar, zararlı etkilere maruziyet sonrası yeniden doku homeostazisinin kazanılması için gereklidir. Her ne kadar lokal koruyucu mekanizmalar spinal afferentler tarafından tetiklense de (Raybould ve ark., 1992), akut hasara karşı oluşan sistemik reaksiyonlar vagal afferentler tarafından iletilir (Schuligoi ve ark., 1998; Michl ve ark., 2001). Asite maruz kalan mideden afferent çıkışların haritalanması, NTS ve AP'da c-fos proteininin ifadesi ile gösterilmiştir (Schuligoi ve ark., 1998; Michl ve ark., 2001; Danzer ve ark., 2004). Tersine, mide duvarındaki gerimin hem medulla spinaliste hem de beyin sapında c-fos ekspresyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Traub ve ark., 1996). Dolayısıyla gastrik mukozanın özellikle asite maruziyeti sonucunda uyarılan spinal ve vagal afferent nöronlar, farklı homeostatik reaksiyonlara aracılık etmektedir (Holzer ve Maggi, 1998). Visseromotor ağrı ve oluşan emosyonel, nöroendokrin ve davranışsal cevap vagal afferentler ile iletilirken, gastrik distansiyona karşı gelişen ağrı reaksiyonu spinal sinirlerle iletilmektedir (Lamb ve ark., 2003). Vagal afferentler ile iletilen bilgi, beyin sapından sonra hipotalamusun paraventriküler nükleus (PVN) ve arkuat nükleusuna, amigdalaya ve diğer limbik sistem bölgelerine aktarılmaktadır (Michl ve ark., 2001).

Lokal endokrin sistem, infeksiyon, inflamasyon ve immün sistemdeki değişimler vagal duysal sinirlerin duyarlılığını düzenlemektedir. Bununla ilişkili olarak, sıçan midesinde asetik asit aracılı ülserleşmenin, Na⁺ akımlarını arttırarak nodoz ve dorsal kök ganglion nöronlarının uyarılabilirliklerini güçlendirdiği görülmüştür (Bielefeldt ve ark., 2002). Aynı şekilde, proinflamatuvar sitokinlerin vagal afferent nöronların asite karşı duyarlılığını ve beyin sapında c-fos ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (Holzer ve ark., 2004). Bu bağlamda, vagal afferent nöronlar, periferal immün sistem ile beyin arasındaki iletişimde önemli bir role sahiptir (Lai ve ark., 2017). Bu fonksiyon, vagal afferent lifler ile immünolojik yapıların (paragangliyonlar, makrofajları ve dentritik hücreleri içeren bağ dokuları vb.) yakınlığı tarafından desteklenmektedir. Bakteriyel LPSlerin etkisi ile immün hücrelerden salgılanan interlökin-1 β (IL-1 β) vagal afferent

sinirlerin uyarılmasını sağlamaktadır (Goehler ve ark., 2000). Vagal afferent nöronların bu özelliği, vago-vagal refleksleri tetikleyerek antiinflamatuvar süreci başlatmaktadır.

Vagus siniri aracılı gastrik refleksler, visseral duysal bilginin vagal afferent lifler tarafından alınması sonrası, bu liflerin NTS'nin nöronları üzerinde glutamaterjik sonlanması ile başlatılmaktadır (Andresen ve Kunze, 1994; Travagli ve ark., 2006). NTS'deki bu nöronlar ise medüller dorsal vagal kompleks (DVC)'te bulunan DMN'nin parasempatik pregangliyonik nöronlarının modülasyonunu sağlamaktadır. Bu merkezler, hipotalamus ve serebral korteks ile ilişki içinde olup, otonomik fonksiyonları ve homeostazisi düzenlemektedirler. Kolinerjik vagal efferentler ise submukoza ve muskularis eksternadaki intramural postgangliyonik nöronlar ile temas halindedir ki böylece glandüler bezlerin salgı ve düz kas hücrelerinin kontraksiyon fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev almaktadır. ACh, vagal efferent nöronlardan salgılanan temel nörotransmitterdir ve pregangliyonik vagal lifler enterik nöronları uyarmaktadır. Midede, postgangliyonik parasempatik nöronlar 2 farklı yolak oluşturmaktadır (Şekil 2.2): (i) eksitator kolinerjik bir yolak; bu yolakta muskarinik kolinerjik reseptörlerin aktivasyonu sonucunda gastrik tonus, motilite ve sekresyon artmaktadır. (ii) inhibitör NANC yolağı; bu yolakta özellikle NO ve vazoaaktif intestinal polipeptit salgısı aracılığı ile mide fonksiyonları baskılanmaktadır. Dolayısıyla mide fonksiyonları ya NANC yolağının aktivasyonu ya da tonik kolinerjik yolağın inhibisyonu aracılığı ile engellenmektedir (Travagli ve Anselmi, 2016).

Nükleus traktus solitarius nöronlarının biyofiziksel ve nörokimyasal özelliklerini araştırmaya yönelik yapılan fonksiyonel çalışmalar, DMN nöronları üzerinde sinaps yapan NTS nöronlarının başlıca glutamaterjik, noradrenerjik ve/veya GABAerjik özellikte olduğunu göstermektedir (Rogers ve ark., 2003; Travagli ve ark., 2006). GABAerjik antagonistlerin DVC'ye mikroenjeksiyonu, gastrik tonusu ve motiliteyi arttırırken, glutamaterjik veya katekolaminerjik antagonistlerin çok az etkili oldukları görülmüştür (Sivarao ve ark., 1998). Dolayısıyla, mideye projekte olan DMN nöronlarının ateşleme hızlarının kontrolü için NTS'den DMN'ye tonik bir GABAerjik giriş vardır.



Şekil 2.2. Beyin sapındaki vago-vagal refleksi mekanizması. Ach, asetilkolin; AP, area postrema; DMV, vagusun dorsal motor nükleusu; GABA, γ -aminobütirik asit; Glu, glutamat; NANC, non-adrenerjik non-kolinerjik; NE, norepinefrin; NTS, nükleus traktus solitarius; PVN, paraventriküler nükleus; TS, traktus solitarius (Travagli ve Anselmi, 2016).

Vagus sinirinin aksonlarının %75-90'ını afferent lifler oluşturmaktadır (Grundy, 2002). Daha az orandaki efferent nöronlar, sinir uçlarından ACh aracılığı ile mukozal bariyerin bütünlüğünün yeniden sağlanmasında mukus sekresyonu, bikarbonat üretimi, hücre proliferasyonu ve immün cevabın modülasyonu gibi pek çok mekanizmada rol almaktadır (Oksana Sulaieva, 2014). ACh reseptörleri GIS'de düz kas hücrelerinde, salgı yapan epitel hücrelerinde, vasküler endotelde, mast hücrelerinde, miyofibroblastlarda, intramural gangliyon hücrelerinde, endokrin hücrelerde, trombositlerde ve lökositlerde bulunmaktadır. Bu reseptörler, transmembran iyon akımlarının (Na^+ , K^+ , Ca^{+2}) aktivasyonu dışında, hücre içi Ca^{+2} mobilizasyonu ve tirozin kinaz, G-proteinleri ve mitojen ile aktive olan protein kinazın (MAPK) aktivasyonundaki değişimlerde de görev almaktadırlar (Berthoud ve Neuhuber, 2000).

Vagus siniri asit sekresyonunu düzenlemesinin yanı sıra, mukus-bikarbonat bariyerinin sürdürülmesini ve okludin ve zonula okludens-1 (ZO-1) ekspresyonlarını uyararak epitelin bütünlüğünde önemli bir rol oynamaktadır (Martin ve Wallace, 2006). Çeşitli mekanizmaların etkisi ile gelişen santral vagal aktivasyon, mukus jelin ve midedeki yüzey epitel hücrelerinde pH'ın artışına neden olmaktadır. ACh aracılığı ile vagus, adaptif ve kompanzatuvar süreçlerin düzenlenmesinde anahtar faktörlerden biridir. Hücre

koruyucu mekanizmalarda başlıca mediyatörler olan NO ve PG'ler üzerinde, ACh'nin uyarıcı etkisi vardır. Direkt olarak eNOS ve nNOS inhibisyonunun, GIS'de kan akımını düşürdüğü ve motilite ve salgılama bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (Takahashi ve Owyang, 1995). Ayrıca, oksidatif stres sırasında NO, sitotoksik ajanlara ve serbest radikallere karşı hücrenin korunmasında rol almaktadır (Lamb ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda, vagus sinirinin uyarılmasının, NO ve PG üretimini arttırarak mukozada kan akımını düzelttiği, mukus ve bikarbonat üretimini arttırdığı, mukozada immün hücrelerin aktivasyonlarını düzenleyerek endotel-lökosit etkileşimini azalttığı gösterilmiştir. Bununla beraber, inflamasyonu azaltarak homeostazisin yeniden sağlanmasını sağladığı ve bu etkinin vagotomi ile ortadan kalktığı görülmüştür.

Vagus siniri, immün hücreler ile santral sinir sistemi (SSS) arasında iletişim sağlamada rol oynamaktadır (Goehler ve ark., 2000). Periferik inflamatuvar sinyaller vagal afferent nöronlar aracılığı ile sirkümventriküler organlar olmadan direkt olarak beyne iletilmektedir. Beyin sapı ve santral otonomik merkezlerce düzenlenen sinyaller vagal efferentler aracılığı ile GIS'deki inflamasyon durumunu düzenlemektedir (Pavlov ve Tracey, 2005). Vagal efferent nöronlardan salgılanan ACh, doku makrofajları ve diğer immün hücreler üzerindeki nikotinik reseptörlere bağlanarak, bu hücrelerden proinflamatuvar sitokin salınımını ve inflamasyonun baskılanmasını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2003; Pavlov ve Tracey, 2005).

Kapsaisin'e Duyarlı Afferent Sinir Lifleri

Kapsaisin, kırmızıbiber acı tadı veren etken maddedir ve baharat olarak yaygın kullanımından ötürü geçmişten günümüze çok çalışılan bir konu olmuştur. Kapsaisin bu etkisini, duysal sinir liflerinden SP ve CGRP gibi nöropeptitlerin salgılanmasını uyarması aracılığı ile gerçekleştirmektedir (Holzer, 1991). Kapsaisine-duyarlı afferent lifler, kapsaisin reseptörü olan ve Geçici Reseptör Potansiyeli Vaniloid Tip-1 (TRPV1) olarak isimlendirilen reseptörü taşırlar (Hayes ve ark., 2000). Bu reseptör selektif olmayan katyon kanalıdır ve H⁺, sıcaklık gibi endojen ve ekzojen pek çok ajan ile aktive olabilmektedir (Jordt, 2003; Szolcsanyi ve Sandor, 2012). Noduz ganglionda, duysal liflerin %40-70'i TRPV1 reseptörünü eksprese ederken (Patterson ve ark., 2003), DRG'da duysal sinir liflerinin %65-95'i bu reseptörü eksprese etmektedir (Tan ve ark.,

2008; Cavanaugh ve ark., 2011) ve mukozal kan akımı, bikarbonat ve mukus sekresyonlarının düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir (Akiba ve ark., 2001; Holzer, 2002).

Kapsaisin mukozal bariyer komponentleri üzerine olası katkısı dozuna bağlı olarak değişmektedir. Düşük dozda kapsaisin tüketiminin gastrik mukoza için yararlı olduğu bilinmektedir (Holzer, 1991; Ren ve ark., 1993). Yüksek doz ve/veya süre kullanılan kapsaisin ise afferent sinirlerin denervasyonlarına neden olarak, CGRP miktarının azalmasına yol açmaktadır (AbdelSalam ve ark., 1996). Tekrarlı ya da yüksek dozda kapsaisin uygulandığında, hücre içerisinde sürekli ve yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} ve Na^{+} iyonlarının birikimine neden olur. Bu durum, hem çeşitli proteazların birikimine, hem de hücre içine su girişine yol açmaktadır. Sonuçta, apoptozis yolaklarının aktivasyonu ve lizis sonucunda sinir hücresinin ölümü gerçekleşmektedir. Kapsaisinin bu ikili etkisi, GI sistem fizyolojisinin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalarda kapsaisinin farmakolojik bir ajan olarak kullanılmasını mümkün kılmaktadır.

Duysal Sinirlerin Cevap Verdiği Başlıca Mediyatörler

GIS duvarında yerleşmiş olan EPAN'lar ve IPAN'lar, doğrudan çevrelerindeki kimyasal ajanlara cevap verdikleri gibi, mukoza epitelinde yerleşik özelleşmiş endokrin hücreler tarafından salgılanan çeşitli kimyasal mediyatörler tarafından da uyarılabilmektedirler (Furness ve Clerc, 2000; Holzer ve ark., 2001). GI yüzey epitel hücrelerinin altındaki lamina propriada bulunan duysal sinir lif sonlanmalarının aksine, enteroendokrin hücreler epitel hücrelerinin aralarında bulunmaktadır (Furness ve Clerc, 2000; Holzer ve ark., 2001). Bu nedenle, GI lümen içeriğine bağlı olarak salgı yapan enteroendokrin hücreler, lümen ile sinir lifleri arasındaki iletişimi sağlamaktadırlar. Bu iletişimde özellikle 5-hidroksitriptamin (5-HT), sekretin, somatostatin, CRF, CCK, leptin, oreksin ve grelin oldukça önemlidir (Holzer, 2002). 5-HT üretiminden başlıca sorumlu hücre tipi ECL hücreleridir ve hiperozmolariteye, karbonhidratlara, mukozal villusların bozulmasına, kolera toksini gibi bakteriyel ürünlere, sisplatin gibi ilaçlara ve mukozal hasara cevap olarak salgı yapmaktadırlar.

GI sistem, sürekli olarak tehdit edici ajanlarla karşılaşması ve bu tehlikelere yanıt veren immün hücreleri içinde bulundurması nedeniyle, çeşitli bağışıklık yanıtları ile de çok

sıkı bir şekilde regüle edilmektedir (Furness ve Clerc, 2000; Holzer ve ark., 2001). Lenfositler, makrofajlar, eozinofiller, nötrofiller ve mast hücreleri gibi immünite ile ilişkili çeşitli hücreler, Peyer plaklarında ya da epitel ve lamina propriada dağılmış olarak bulunmaktadır (Castro ve Arntzen, 1993). Çeşitli uyarılara cevaben immün hücrelerden salgılanan sitokinlere ek olarak, epitel hücreleri de çeşitli kimokinleri (interlökin-8, makrofaj inflamatuvar protein-2, gibi) sentezleyip ortama salgılayabilmektedir (Kagnoff ve Eckmann, 1997; Castagliuolo ve ark., 1998). Mukoza, mikrobiyal infeksiyon, alerji, inflamasyon ya da farklı hasar tiplerinden etkilendiği zaman, immün hücreler aktive olmakta ve PG'ler, lökotrienler, proteazlar, bradikinin ve 5-HT gibi pro- ve antiinflamatuvar çeşitli mediyatörler salgılamaktadırlar (Furness ve Clerc, 2000; Holzer ve ark., 2001). Bu faktörler duysal nöronları uyurabildiği gibi, hassasiyetlerini de değiştirebilmektedir.

Mast hücrelerinin degranülasyonları sonucunda histamin, serin proteazlar ve PG'ler gibi mediyatörler salgılanmaktadır. Özellikle histamin H1 reseptörleri üzerinden hem spinal hem de vagal duysal sinirlerin uyarılmasını sağlamaktadır (Bueno ve ark., 1997; Kirkup ve ark., 2001). Triptaz, tripsin ve trombin gibi serin proteazlar, proteazla aktive olan reseptörler (PAR) olarak isimlendirilen yüzey reseptörlerini aktive etmektedirler (Vergnolle ve ark., 2001). G-protein ile ilişkili olan bu reseptörler GI sistem boyunca bulunmaktadır ve bunların aktivasyonu sonucunda gastrik mukus sekresyonunun ve mukozal kan akımının arttığı, bunun yanı sıra mide asit salgısının azaldığı rapor edilmiştir (Nishikawa ve ark., 2002; Kawabata ve ark., 2004). Asit, etanol veya indomethazin ile oluşan hasara bağlı olarak sıçan midesindeki duysal nöronlarda PAR aktivasyonu sonucunda CGRP ve taşikinin salınımının arttığı ve korunma mekanizmalarının tetiklendiği gözlenmiştir (Kawabata ve ark., 2001).

İskemi (Fu ve Longhurst, 1999), asite bağlı mukozal hasar (Gislason ve ark., 1996; Montuschi ve ark., 1996) ya da cerrahi travma (Coimbra ve Plourde, 1996) gibi çeşitli durumlarda, proinflamatuvar IL-1 β , IL-6 ve tümör nekrozis faktör (TNF)- α sitokin ekspresyonları artmaktadır (Reimund ve ark., 1996). Pek çok hücre tipine etki edebildikleri gibi, IPAN ve EPAN'lar da bu sitokinlerin hedefleri arasındadır.

2.1.9. Nörohormonal Faktörler

Lokal mukozal faktörlere ek olarak SSS ve hormonal faktörler de mide mukozasının korunmasında rol oynamaktadır (Tache, 2012). SSS ile GIS arasındaki iletişimde pek çok peptit bulunmaktadır. Bu peptitler beyinde farklı mekanizmaları tetikleyerek, mide hasarına karşı korunmayı sağlamaktadırlar. SSS'ne uygulanan TRH (Tache ve ark., 1994), CRF (Gunion ve ark., 1990), opioid peptitler (enkefalinler, β -endorfin) (Gyires ve Ronai, 2001), peptit YY (Yang ve ark., 1999), leptin (Brzozowski ve ark., 2000), GLP-1 (Isbil-Buyukcoskun ve Gulec, 2005), grelin (Sibilia ve ark., 2008), CGRP (Tache, 1991), kalsitonin (Tache ve ark., 1988), adrenomedulin (Kaneko ve ark., 1998), CCK (Brzozowski ve ark., 2000) gibi hormonların mide korunma mekanizmalarını uyardıkları tespit edilmiştir. Bu peptitlerin midenin fonksiyonlarını düzenleyici etkilerinin özellikle vagal sinirler aracılığıyla olduğu bilinmektedir. Gastrointestinal peptit ailesinin bir üyesi olan CCK'nın da GIS için koruyucu etkileri gösterilmiştir. Duodenumda bulunan endokrin I hücrelerinden lümendeki içeriğe bağlı olarak, özellikle protein ve yağlı besinlerin sindirimi sonucunda salgılanmaktadır (Liddle, 2000). GIS'de bir hormon olarak bulunmasının dışında periferik sinir sisteminde de, özellikle kolon ve ileumda bulunmaktadır. CCK'nın SSS'de tokluk, anksiyete, termoregülasyon ve kronik ağrı ile ilişkili bölgelerde yaygın ekspresyonu vardır (Singh ve ark., 1991; Wiesenfeld-Hallin ve ark., 2002; Szelenyi, 2010). CCK, vagal afferent nöronlar üzerindeki reseptörlerine bağlanarak NTS üzerinden iştahın baskılanmasına aracılık etmektedir. Dolaşıma salgılanan CCK'nın subfornikal organlardan biri olan AP'yı da aktive ettiği cfos ekspresyonu ile gösterilmiştir (Monnikes ve ark., 1997). CCK salgısı, nöral ve hormonal etmenler tarafından da düzenlenmektedir. CCK salınımına somatostatin baskılayıcı, GRP uyarıcı etkilidir (Kanayama ve Liddle, 1991; Liddle, 1994). Vagal uyarı ise CCK salgısını arttırmaktadır (Owyang, 1999).

CCK hedef dokulardaki etkilerini, tip A CCKR (CCK1R) ve tip B CCKR (CCK2R) olarak bilinen iki ayrı reseptör üzerinden göstermektedir. Her iki tip reseptör de fosfolipaz C (PLC) proteini ile ilişkilidir ve reseptörlerin aktivasyonları sonucunda diaçilgliserol (DAG) ve inositol trifosfat (IP_3) üretilir. DAG, protein kinaz C (PKC)'nin aktivasyonunu sağlarken, IP_3 hücrede Ca^{+2} mobilizasyonuna ve kalmoduline-bağımlı protein kinazların aktive olmasına neden olmaktadır (Wank, 1998).

CCKB reseptörü başlıca SSS'de bulunurken, CCKA reseptörleri daha çok periferde düz kas hücrelerinde ve nöronlarda bulunmaktadır. CCK reseptörleri, pankreatik enzim sekresyonunun uyarılmasında, safra kesesinin ve pilor sfinkterinin kasılmasında ve özofagus sfinkterinin gevşemesinde görev almaktadır. Vagal duysal sinirlerde bulunan CCKA reseptörü, besin alımının inhibisyonuna aracılık ederken (Ritter ve ark., 1994); enterik sinir sistemindeki CCKA reseptörü, kolondan geçiş süresinin artışına ve mide boşalımının gecikmesine neden olmaktadır (Beglinger, 1994).

Endojen ve ekzojen CCK, lümendeki iritanlara karşı midede oluşabilecek hasarı engellemektedir. CCK'nın mide koruyucu etkisinin CCKA reseptörleri üzerinden olduğu tespit edilmiştir (Evangelista ve Maggi, 1991; Konturek ve ark., 1995; Mercer ve ark., 1998).

CCK'nın GIS'de dopamin ve NE ile beraber bulunduğu bilinmektedir ve bu nörotransmitterlerin midede farklı koruyucu etkileri vardır. CCK'nın midedeki savunma mekanizmalarına, dopaminin ve adrenalinin aracılık etmediği gösterilmiştir (Cross ve ark., 1997).

Mide mukoza bariyerinin önemli bir bileşeni olan kan akımının devamlılığı için, CCK güçlü bir vazodilatör ajandır ve CCK'nın midede oluşturduğu hiperemik cevaba NO aracılık etmektedir (Holzer ve ark., 1994; West ve ark., 2003). Her ne kadar midede CCK uygulaması sonucunda eNOS, cNOS ve iNOS enzimlerinin ekspresyonlarında bir farklılık olmasa da, cNOS'un aktivitesinde artış olduğu belirlenmiştir (West ve ark., 2003). Bununla beraber, hem santral hem de periferik uygulanan CCK'nın hiperemik etkisinin, CGRP antagonisti ile ortadan kalktığı bulunmuştur (Heinemann ve ark., 1996). CCK'nın vagal afferent lifler üzerinde reseptörü bulunmaktadır ve kapsaisin kullanılarak oluşturulan duysal liflerin denervasyonu ile CCK aracılı mukozal kan akımındaki artışın kısmen azaldığı gözlenmiştir (Evangelista ve Maggi, 1991). Ayrıca, CCK'nın etkilerinde vagusun rolünün olduğu yapılan bilateral subdiyafragmatik vagotomi veya atropin ile gösterilmiştir (Brzozowski ve ark., 1999a).

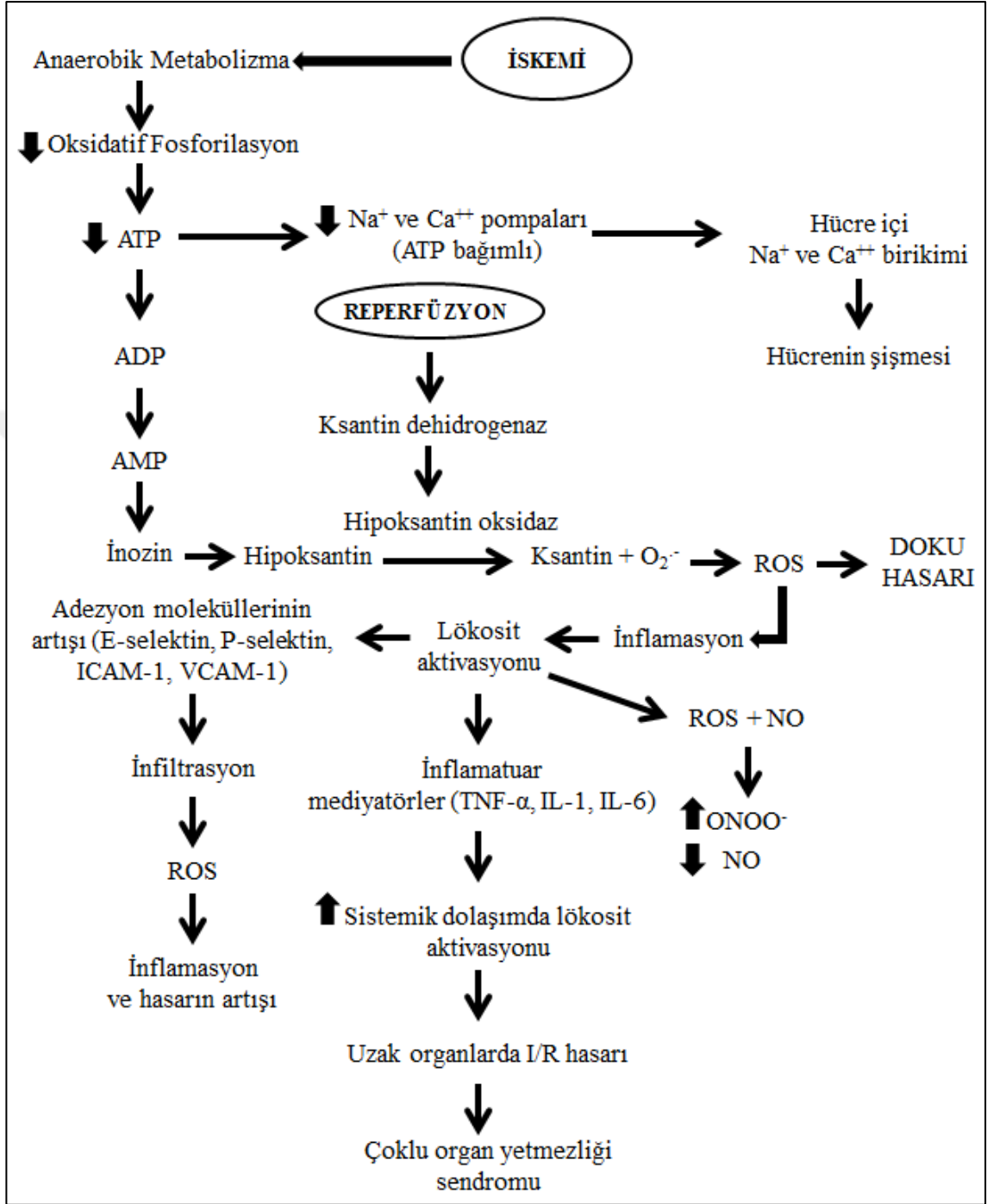
CCK'nın midede PG üretimi üzerine olan etkisi tam açık değildir. Bazı çalışmalarda, CCK'nın gastrik mukozal bütünlüğün sağlanmasındaki etkisinin COX inhibitörü

indomethazin uygulaması ile kısmen ortadan kalktığı gözlenirken (Mercer ve ark., 1995); bazı çalışmalarda, CCK'nın PG üretimini etkilemediği tespit edilmiştir (Mercer ve ark., 1998; Brzozowski ve ark., 1999a).

2.2. İskemi/Reperfüzyon Hasarı

I/R hasarı, bir dokuda herhangi bir nedene bağlı olarak gelişen iskemi periyodunu takiben, kan akışının yeniden sağlanması sonucunda oluşan işlevsel ve yapısal değişiklikleri ifade eden bir terimdir. I/R hasarının oluşumuna; başlıca oksijenin varlığı ve reaktif oksijen türleri (ROS)'nin oluşumu, vasküler, hücrel ve hormonal faktörlerin aktivasyonu, vasküler geçirgenliğin artışı, lökosit ve trombosit aktivasyonu, kompleman sisteminin tetiklenmesi ve proinflamatuvar sitokinlerin artışı katkı sağlamaktadır (Pontes ve ark., 2016). I/R hasarı, çeşitli organlarda trombolitik tedavi, transplantasyon, koroner revaskülarizasyon, hipovolemik şok, pulmoner embolizmin çözülmesi ve kardiyopulmoner baypas gibi sık olarak karşılaşılan tıbbi durumlarda gözlenmektedir (Collard ve Gelman, 2001).

İskemi periyodunda, oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondride oksidatif fosforilasyon ile enerji üretimi gerçekleşmemektedir (Şekil 2.3) (Mura ve ark., 2007). ATP üretimi, anaerobik glikoliz yolu ile sürdürülmeye çalışılsa da hücrelerdeki enerji ihtiyacı tam olarak karşılanamamaktadır. Yeterli enerjinin karşılanamaması, hücre membranından iyon geçişlerinin yapılamamasına, sonuçta da hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyonlarının birikimine neden olmaktadır. Bu durum, hücrenin şişmesine, hücre iskeletinin kasılması ile şeklinin değişmesine, PLA_2 'nin aktivasyonuna ve hücre membranından araşidonik asit metabolitlerinin salınımına neden olmaktadır (Szabo, 1996). Hücre içi kalsiyum birikimi, reperfüzyon periyodunda organellerde ROS'un etkilerini güçlendiren proteazların da aktive edilmesini sağlayarak, ksantin dehidrogenaz enziminin ksantin oksidaz (XOD) enzimine dönüşümüne yol açmaktadır (Okuda ve ark., 1992). XOD, vasküler endotel üzerinde bol miktarda bulunmaktadır ve ROS üretme kabiliyeti yüksek bir enzimdir. İskemi sırasında, ATP parçalanarak sırasıyla ADP, AMP, adenozin, inosin ve son olarak hipoksantine yıkılmaktadır. Hipoksantin birikimi reperfüzyon aşamasında oksijenin vasküler yatağa gelmesi ile birlikte, ksantin oksidaz ile süperoksit ve hidrojen peroksitin üretilmesini sağlamaktadır (Grisham ve ark., 1990).



Şekil 2.3. İskemi/reperfüzyon hasarının patofizyolojisi (Pontes ve ark., 2016).

Araşidonik asitin bozunması, PG, lökotrien ve tromboksan gibi proinflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu sağlamaktadır ki bunlar, nötrofil aktivasyonuna ve trombosit agregasyonuna neden olmaktadır. İnflamasyon bölgesinde nötrofillerde integrinlerin aktivasyonu gerçekleşirken, endotel hücrelerinde hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-

1)'in ekspresyonu artarak nötrofillerin endotel yüzeyine adezyonu gerçekleşmektedir (Granger ve Kubes, 1994). Nötrofiller, süperoksit ve hidrojen peroksit üretmelerinin yanı sıra hipoklorik asitin oluşumunu katalize eden MPO enzimine sahiptirler (Grisham ve ark., 1990). Nötrofiller ayrıca, endotelin bazal membranının hemen hemen tüm bileşenlerini parçalayabilen proteazları da üretmektedir (Carden ve ark., 1998).

I/R, endotel hücrelerinde süperoksit ve NO arasındaki dengeyi bozarak arteriyollerde endotel-aracılı vazodilatasyonun kaybına yol açmaktadır. Normal koşullarda, NO üretimi, süperoksit üretiminden fazladır ve GC aracılığı ile düz kasta tonusun azalmasını sağlamaktadır. Sonuçta da trombosit agregasyonu ve trombus oluşumu engellenirken, endotel ile lökosit arasındaki etkileşim en alt düzeye indirilmektedir. Ancak reperfüzyon sonucunda, NO ve süperoksit arasında dengesizlik gelişmektedir. Süperoksit NO ile reaksiyona girerek, güçlü bir radikal olan peroksinitrit (ONOO^\cdot) oluşumunu sağlamaktadır (Grisham ve ark., 1998).

Reperfüzyon sırasında, salınan inflamatuvar mediyatörler doğrudan iskemiye maruz kalmayan endotel hücrelerini de aktive ederek onların da hasarına neden olmaktadır (Carroll ve Holers, 2005). Sonuçta I/R, inflamatuvar aracılardan sistemik olarak salgılanmasını sağlayarak nötrofillerin aktivasyonuna, endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonlarında ve lökosit-endotel etkileşiminde artışa yol açmaktadır (Barry ve ark., 1997). İnflamatuvar sinyaller, transkripsiyon faktörü $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 'nin aktivasyonu aracılığıyla, kimokinlerin, sitokinlerin ve diğer proinflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu düzenler (Colletti ve ark., 1995; Barry ve ark., 1997).

Hayvan ve insan çalışmalarında kompleman sistemi aktivasyonunun reperfüzyon aşamasında kritik bir basamak olduğu gösterilmiştir. C5a gibi kompleman sisteme ait faktörler, dolaşımdaki nötrofillerin Mac-1 upregülasyonu aracılığı ile aktivasyonlarını sağlamaktadır. Ayrıca, membran atak kompleksi de hücreye direkt hasar vermektedir (Chavez-Cartaya ve ark., 1995).

I/R ile oluşan sistemik inflamatuvar reaksiyon, hastalarda mortalitenin ana nedeni olan çoklu organ yetmezliği sendromunun gelişiminden sorumludur (Carden ve Granger, 2000).

Oksidan strese karşı dokular antioksidan enzimler tarafından korunmaktadır (Kwiecien ve ark., 2014). Ancak I/R'da, aktif oksijen türlerinin miktarı süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) gibi çeşitli antioksidan enzimlerin süpürücü kapasitelerini aştığı için, doku ve organ hasarı meydana gelmektedir. ROS'un artması ile birlikte hücre hasarının nedenlerinden biri, hücre membranındaki lipitlerin peroksidasyonudur. LPO'nun ilk basamağı, membran lipitlerinden olan çoklu doymamış yağ asitlerinin bir zincirinden hidrojen atomunun ROS tarafından koparılmasıdır. Böylece yağ asidi serbest radikal haline gelerek oldukça reaktif bir özellik kazanmaktadır ve oksijen molekülü ile reaksiyona girerek peroksil radikalinin oluşumuna yol açmaktadır. Serbest peroksil radikali membrandaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunun koparılmasına neden olarak, lipit peroksitlerinin oluşumunu sağlamakta ve hücrede daha fazla ROS ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) üretimine neden olan bir dizi zincir reaksiyonunu sağlamaktadır. Lipit peroksitlerinin β -oksidasyonları ile metabolize olmaları sonucunda hücrelerde yüksek oranda toksik olan, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) olarak bilinen iki metabolit oluşmaktadır (Esterbauer ve ark., 1991). Bu aldehitler çeşitli moleküller ile kovalent bağlar oluşturarak enzimlerin inaktivasyonlarına ve DNA, RNA ve protein sentezinin inhibisyonuna neden olmaktadır (Matsuda ve ark., 2013).

2.3. Apelinerjik Sistem

Apelinerjik sistem, apelin ve apela (ELABELA/ELA/Toddler) olarak isimlendirilen iki liganttan ve G-protein bağımlı bir reseptör olan Anjiyotensin reseptörü-benzeri 1 (APJ)'den oluşmaktadır (Shin ve ark., 2017). Her iki ligant pek çok farklı izoformdan oluşmaktadır ve kalp kontraksiyonu, vazodilatasyon, kardiyovasküler gelişim, glukoz ve insülin homeostazisi gibi farklı önemli fizyolojik olaylarda görev almaktadırlar.

77 aminoasitli preproapelin, biyoaktif apelin öncülüdür ve proteolitik yıkım ile farklı izoformlara dönüşmektedir. Apelinin izoformları şunlardır: apelin-55 (apelin 23-77), apelin-36 (apelin 42-77), apelin-17 (apelin 61-77), apelin-13 (apelin 65-77) ve (Pry¹)-apelin-13 (apelin-13'ün N-terminaline glutamat rezidüsü içermektedir) (Tatemoto ve ark., 1998).

2.3.1. Apelinerjik Sistemin Bulunduğu Yerler

Apelin reseptörü ve apelin, ilk olarak, sırasıyla beyinde ve midede gösterilmiştir (Odown ve ark., 1993; Tatemoto ve ark., 1998). Sıçan, fare ve insan dokularında yapılan çalışmalarda, hem reseptörün hem de ligantın SSS'de, kardiyovasküler sistemde, dolaşım sisteminde, sindirim sisteminde, üreme sisteminde, adipoz doku ve iskelet kasları gibi çeşitli periferik dokularda yaygın ekspresyonlarının olduğu görülmüştür (Hosoya ve ark., 2000; Kawamata ve ark., 2001; Medhurst ve ark., 2003).

Apelin ve APJ reseptörü, SSS'de PVN, subventriküler organlar, NTS, DMN ve hipoglossal nükleus (HGN)'un yanı sıra sirküventriküler organlar arasında yer alan subfornikal organ ve area postrema (AP) gibi bölgelerde de gösterilmiştir (Pope ve ark., 2012; Dai ve ark., 2013).

Apelin izoformlarının dokulardaki dağılımlarına ait farklılıklar enzim immunoassay (EIA), radioimmunoassay (RIA) ya da yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemleri ile ortaya konulmuştur (Shin ve ark., 2017). P₁-apelin-13 en fazla kalp ve beyinde, apelin-36 en fazla akciğer, testis ve uterusunda bulunmaktadır (Kawamata ve ark., 2001; Maguire ve ark., 2009). Sütte apelin-55, -36, -17, -14 izoformları, plazmada ise hemen hemen tüm izoformları bulunmaktadır (Mesmin ve ark., 2011).

2.3.2. Apelinin Aktive Ettiği Sinyal Yolakları

APJ reseptörünün, hücre tipine bağlı olarak farklı G-proteinlerini aktive edebilmesi, apelinin farklı hücresel etkilerini açıklamaktadır. Apelin ile ilgili temel sinyal mekanizması, boğmaca toksinine (PTX)-duyarlı bir G-proteini olan G $\alpha_{i/o}$ 'ın aktivasyonu ile tetiklenmektedir (Hosoya ve ark., 2000). Pek çok çalışma apelinin bu yolak aracılığıyla ERK, protein kinaz B (PKB ya da Akt) ve p70S6 kinaz gibi hücre içi habercileri aktive ederken; forskolin-aracılı siklik adenosin monofosfat (cAMP) üretimini baskıladığını göstermektedir (Masri ve ark., 2002; Masri ve ark., 2004; D'Aniello ve ark., 2009). Apelinin PKC ve PLC β 'yi de aktive ettiği, bu ikincil habercilerin inhibitörlerinin varlığında apelinin pozitif inotrop etkisinin ortadan kalktığının gözlenmesi ile ortaya koyulmuştur (Szokodi ve ark., 2002). Apelin/APJ sisteminin vazodilatör etkisinin de PLC β -PKC yolağının aktivasyonu sonucu kalmodulin aracılığıyla eNOS üzerinden olduğu bilinmektedir (Tatemoto ve ark., 2001). Apelinin

proliferasyonu ve migrasyonu uyarıcı etkilerinin $G\alpha_{q/11}$ bağımlı PI3K/Akt ve/veya MAPK aktivasyonu ile olduğu endotel, düz kas hücreleri, nöronlar, adipositler, miyositler, tümör hücreleri ve osteoblastlar gibi pek çok hücre tipinde gösterilmiştir (Chaves-Almagro ve ark., 2015).

Son yıllarda, apelinin aktive ettiği hücre içi yolları arasında özellikle iskelet kası, adipositler ve enterositlerde AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK)'ın yer aldığı, bu yolağın lipolizin baskılanması, glukozun hücre içine alımı, yağ asidi oksidasyonu, mitokondriyal biyogenez gibi, apelinin enerji metabolizmasındaki etkilerinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (Yue ve ark., 2011; Attane ve ark., 2012; Than ve ark., 2012; Than ve ark., 2015).

2.3.3. Apelinin Başlıca Biyolojik Etkileri

Yapılan çalışmalar, apelin/APJ sisteminin pek çok homeostatik bozukluklara fizyolojik cevapta anahtar mekanizma olabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalar, apelin-APJ sinyalinin kardiyovasküler sistem fonksiyonları (Szokodi ve ark., 2002), enerji metabolizması (Boucher ve ark., 2005), sıvı homeostazisi (De Mota ve ark., 2004), anjiyogenez (Picault ve ark., 2014), nöroendokrin stres cevabı (Newson ve ark., 2012) gibi pek çok farklı düzenlenme mekanizmalarında etkili olduğunu göstermektedir.

Kardiyovasküler Etkileri

Apelinin keşfinden itibaren bu biyoaktif peptidin, özellikle kardiyovasküler sistem ve bu sistemle ilişkili hastalıklardaki rolleri üzerinde durulmuştur (Yang ve ark., 2015a). Apelin, endojen bir pozitif inotrop olup, endotel- ve NOS-bağımlı mekanizmalar üzerinden kan basıncının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Szokodi ve ark., 2002). Apelinin miyokardiyal infarktüs, kalp rahatsızlığı ve hipertansiyon gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu etkileri gösterilmiştir. Apelin uygulamalarının, infarkt alanını azalttığı, kardiyak output ve kontraktilite gibi kardiyak parametreleri düzelttiği, inflamasyonu azalttığı ve hücre yaşayabilirliğini arttırdığı saptanmıştır (Dai ve ark., 2006; Koguchi ve ark., 2012; Pisarenko ve ark., 2014; Boal ve ark., 2015; Azizi ve ark., 2017).

Apelinin hem santral düzeyde hem de periferik kardiyovasküler etkileri vardır. Vasküler tonusun düzenlenmesinde, apelinin pressör ve depressör etkileri bulunmaktadır. Periferik uygulanan apelinin anestezi altındaki sıçanlarda, ortalama kan basıncını azalttığı (Cheng ve ark., 2003; Lee ve ark., 2005) ve bu etkinin NOS inhibitörü ile ortadan kalktığı bilinmektedir (Tatemoto ve ark., 2001). Uyanık hayvanlarda ise apelinin kan basıncı üzerine olan etkisi kullanılan apelin izoformuna ve dozuna bağlı olarak değişmektedir (Kagiyama ve ark., 2005). (Pry¹)-apelin-13'ün i.p. enjeksiyonu, farelerde sistolik kan basıncında azalmaya neden olurken, bu etkinin APJ-yoksun farelerde tersine döndüğü tespit edilmiştir (Ishida ve ark., 2004). İnsan safen veninde periferik apelin vazodilatör etki göstermektedir. Ancak endotel sıyrılarak ortadan kaldırıldığında, apelin vazokonstriktör etki göstermektedir (Katugampola ve ark., 2001). Bu nedenle periferik apelin, anti-hipertansif bir faktör olarak davranmaktadır (Ishida ve ark., 2004; Lee ve ark., 2005). Kardiyomiyositlerde apelin sarkomer kısalmasını arttırmaktadır ve apelin veya APJ-yoksun farelerde bu cevap bozulmaktadır (Farkasfalvi ve ark., 2007).

Kardiyovasküler sistemde en baskın izoform olan (Pry¹)-apelin-13'ün santral olarak uygulanması ortalama kan basıncını ve PVN'de c-fos ekspresyonunu arttırmaktadır (Reaux ve ark., 2001; Seyedabadi ve ark., 2002). Ayrıca, NTS ve rostral ventrolateral medulla (RVLM)'ya apelin-13'ün mikroenjeksiyonu aynı şekilde kan basıncını ve kalp hızını yükseltmektedir (Seyedabadi ve ark., 2002). Spontan hipertansif sıçanların RVLM'lerinde apelin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2009). Bununla birlikte, subfornikal organa apelin mikroenjeksiyonu ile kan basıncının ve kalp hızının azaldığı tespit edilmiştir (Dai ve ark., 2013).

Apelin ve reseptörünün kardiyovasküler sistemdeki patofizyolojik süreçlerde de rol aldığı bilinmektedir. Vasküler hastalıklarda, aterosklerozlu insanların koroner arterlerinde apelin ekspresyonu artmaktadır (Pitkin ve ark., 2010). Apelinin ateroskleroz oluşumundaki rolü açık değildir ve hem antagonistik hem de agonistik etki gösterebileceği düşünülmektedir (Hashimoto ve ark., 2007; Chun ve ark., 2008). Kalp hastalığının erken dönemlerinde plazma apelin seviyesi yüksek, hastalığın ilerleyen dönemlerinde sabit ya da daha düşük seyretmektedir (Chong ve ark., 2006). Hipoksi ve

iskemi durumlarında ise apelinerjik sistemin koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir (Atluri ve ark., 2007; Ronkainen ve ark., 2007).

Anjiyogeneze Etkileri

Apelin, hem fizyolojik koşullarda hem de kanser patofizyolojisinde anjiyogenik bir faktör olarak bilinmektedir. Kurbağa ve fare kalbinin damarlanmasında apelin ve reseptörünün gerekli olduğu ve bulunmadıklarında embriyoların çoğunda damarlanmanın bozulduğu gözlenmiştir (Cox ve ark., 2006). Bununla birlikte, apelin-yoksun farelerde retinal damarlanmanın gelişimi de gerilemektedir (Kasai ve ark., 2008).

Apelin/APJ sisteminin miyokardiyal infarktüsünde, iskemik inmede, sirozda, retinal hastalıklarda, tümörde, obezite ve diyabette anjiyogeneze katkı sağladığı bilinmektedir (Wu ve ark., 2017b). Apelin ve VEGF'nin anjiyogenezin düzenlenmesinde beraber hareket ettikleri düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda apelinin VEGF'nin ekspresyonunu arttırdığı, bazılarında ise VEGF'nin apelin ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. Ancak apelin/APJ sistemi VEGF'den bağımsız olarak da anjiyogenezi uyarmaktadır (Kidoya ve Takakura, 2012).

Sıvı Homeostazına Etkileri

Apelin ve APJ reseptörü su homeostazisi ile ilişkili olarak, böbrekte endotelde ve vasküler düz kas hücrelerinde ve hipotalamusun PVN ve supraoptik nükleus (SON)'unda hipofiz bezine projekte olan nöronların gövde kısımlarında bulunmaktadır (Brailoiu ve ark., 2002; Medhurst ve ark., 2003; Hus-Citharel ve ark., 2008). Ancak apelinerjik sistemin sıvı homeostazisindeki fizyolojik rolü ile ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (Flahault ve ark., 2017). PVN'de ve SON'da, apelin ile birlikte bulunan antidiüretik hormon (vazopressin-ADH) üretilmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, i.c.v. olarak uygulanan apelinin dolaşıma verilen ADH miktarını azalttığı ve Na⁺ ve K⁺ atılımını etkilemeden diürezisi arttırdığı saptanmıştır (De Mota ve ark., 2004). Başka bir çalışmada, apelinin antidiüretik etki gösterdiği ve APJ-yoksun farelerde su kısıtlamasına cevaben idrar hacminin azalmadığı rapor edilmiştir (Roberts ve ark., 2010).

Apelinin diürezin düzenlenmesindeki etkisi SSS ile sınırlı değildir ve böbrekler üzerinde bulunan kendi reseptörü üzerinden de etki göstermektedir. ADH'ın toplayıcı kanallarda aquaporin-2'nin apikal membrana yerleşimini uyararak su absorpsiyonunu sağladığı ve böylece diüzezi azalttığı bilinmektedir. Akut veya kronik uygulanan apelinin ise böbrek kan akımını arttırdığı ve ADH'ın aksine bu kanallarda cAMP üretimini azaltarak diüzezi uyardığı tespit edilmiştir (Hus-Citharel ve ark., 2014; Deng ve ark., 2015).

Enerji Metabolizması ile İlgili Etkileri

Apelin adipoz dokudan salgılanan bir adipokin olup, insan ve farelerde obezite ile beraber plazma seviyesi artmaktadır (Boucher ve ark., 2005; Castan-Laurell ve ark., 2012). İnsülin ve apelin enerji metabolizmasının düzenlenmesinde beraber hareket etmektedirler ve apelinin diyabet parametrelerini düzelttiği düşünülmektedir (Chaves-Almagro ve ark., 2015; Hu ve ark., 2016). Apelin insülin ve insülin reseptör seviyesinin düzenlenmesinde rol oynar. İnsülin ise adipositler üzerindeki kendi reseptörü üzerinden apelin ekspresyonunu uyararak kendi üretimi üzerine negatif geri-besleme mekanizmasını tetiklemektedir (Boucher ve ark., 2005).

Tip I diyabetli farelerde apelin-13'ün pankreatik adacık hücre kütlelerini ve β -hücresinin insülin içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2011). Aynı şekilde, apelin uygulaması, hem apelin-yoksun hem de obez hiperinsülinemik farelerde gözlenen insüline duyarlılıktaki bozulmayı hafifletmektedir (Yue ve ark., 2010; Attane ve ark., 2012). Apelin uygulaması, beyaz yağ adipogenezisini inhibe ederken; kahverengi yağ adipogenezisini arttırmaktadır (Masaki ve ark., 2012; Than ve ark., 2015). Apelinin periferik uygulaması, iskelet kasına ve adipoz dokuya glukoz girişini arttırarak plazma glukoz seviyesini azaltmaktadır. Ayrıca, besin alımını etkilemeden, mitokondriyal eşleşmemiş protein 1 ve 3'ün aktivasyonu aracılığı ile enerji tüketimini arttırarak vücuttaki adipoz doku oranını azaltmaktadır. Tip II diyabetli hastalarda plazma apelin seviyesi yükselmektedir ve bunun insülin direncini düşürmek için kompanzatuvar bir mekanizma olduğu düşünülmektedir.

Stres Cevabındaki Etkileri

APJ'nin stres cevabında görevli bölgeler olan hipotalamik pPVN'de ve ön hipofiz bezinde bulunduğu bilinmektedir (O'Carroll ve ark., 2003). Apelin mRNA'sı da bu

bölgelerde vazopressin ile birlikte saptanmıştır. Apelin-pozitif hücreler PVN ve SON'ta bulunmaktadır. APJ ve apelinin hipotalamus-hipofiz-adrenal aks (HPA)'ta başlıca rol oynayan vazopressin ve CRH içeren hipotalamik çekirdeklerde bulunması, apelin/APJ'nin nöroadenohipofizer hormon salınımında rolü olduğunu göstermektedir.

(Pry¹)apelin-13'ün santral uygulaması, PVN'de c-fos ekspresyonunu ve plazma adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortikosteron (CORT) seviyelerini artırırken; prolaktin, lüteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyelerini azaltmaktadır (Taheri ve ark., 2002). Ayrıca, apelin-13'ün in vitro olarak hipotalamik hücrelerden CRH ve vazopressin salgısını uyardığı gösterilmiştir (Taheri ve ark., 2002). Akut ve kronik strese cevaben, PVN'de APJ mRNA ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (O'Carroll ve ark., 2003). Aynı zamanda apelin, hem hipofize etki ederek doğrudan hem de hipotalamus üzerinden indirekt yolla ACTH sekresyonu üzerine uyarıcı etki göstermektedir (Reaux-Le Goazigo ve ark., 2007). Son zamanlarda, APJ-yoksun farelerde LPS uygulaması (immünolojik stres), insülin aracılı hipoglisemi (metabolik stres) ve zorlu yüzme (fiziksel/psikolojik stres) stresi gibi çeşitli stres modellerine cevapta APJ'nin HPA aksını düzenleyici bir sinyal olduğu gösterilmiştir (Newson ve ark., 2013).

Apelinerjik Sistemin Diğer Etkileri

Yüksek seviyede kolostrum ve sütte de bulunan apelin, hücrelerin sitokin üretimini azaltmaktadır (Habata ve ark., 1999; Horiuchi ve ark., 2003; Leeper ve ark., 2009). SSS'de yapılan çalışmalar ise apelinerjik sistemin antinosisepsiyon, depresyon benzeri davranışların artması ve pasif sakınmanın öğrenilmesi gibi farklı mekanizmalarda rol aldığını ortaya koymaktadır (Xu ve ark., 2009; Lv ve ark., 2012; Telegdy ve ark., 2013). Ayrıca, apelinin NMDA aracılı sitotoksik hasara karşı hipokampal nöronları, ERK1/2 ve Akt fosforilasyonunu sağlayarak koruduğu gözlenmiştir (O'Donnell ve ark., 2007; Cheng ve ark., 2012). Aynı şekilde kortikal nöronları da apoptozisten koruduğu bilinmektedir (Zeng ve ark., 2010).

Apelin ve APJ, osteoblastlarda da eksprese edilmektedir, hücre proliferasyonunu ve yaşayabilirliğini arttırmaktadır (Xie ve ark., 2006; Tang ve ark., 2007; Wattanachanya ve ark., 2013). Son yıllarda, osteoartrit hastalarının plazma ve sinoviyal sıvılarında

yüksek oranda apelinin bulunduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla osteoartrit patofizyolojisinde apelinin potansiyel rol oynadığı düşünülmektedir. (Hu ve ark., 2011).

2.3.4. Apelin/APJ Sistemi ve Gastrointestinal Sistem

Gastrointestinal sistemde apelin mRNA'sı en fazla midede, daha az oranda ince bağırsak ve kolonda bulunmaktadır (Wang ve ark., 2004). Apelin, mide bezlerinde ekzokrin ve endokrin hücrelerde sentezlenmektedir (Susaki ve ark., 2005; Wang ve ark., 2009). İmmünohistokimyasal olarak apelinin mide bezlerinin üst ve boyun bölgelerinde bulunan epitel hücrelerinde, paryetal ve esas hücrelerde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu peptitin uyarıcılara cevaben hem dolaşıma hem de mide lümenine salgılanarak GIS'deki etkilerini yaptığı düşünülmektedir. APJ ekspresyonuna ise epitel hücrelerinde, goblet hücrelerinde, miyenterik ve submukozal plexus ChAT and nNOS nöronlarında ve düz kas hücrelerinde rastlanmaktadır (Fournel ve ark., 2017). Ayrıca asit sekresyonunun düzenlenmesinde başlıca rol oynayan hücrelerden biri olan ECL'de de APJ ifade edilmekte ve Apelin histamin salınımı aracılığıyla mide asit salgısını arttırmaktadır (Ohno ve ark., 2012).

Apelin/APJ ekspresyonunun en önemli düzenleyicisi hipoksi ve inflamasyon durumudur. Her ikisi de, hücrel stres sırasında gerçekleşen yakın ilişkili olaylardır ve etkilerini ortak sinyal mekanizmaları aracılığı ile göstermektedirler. Sıçanlarda akut hipoksinin mide, duodenum ve kolonda apelin mRNA'sını arttırdığı ve bu artışa HIF-1 α 'nın aracılık ettiği saptanmıştır. Sentezi artan apelinin proliferasyona neden olduğu bilinmektedir (Han ve ark., 2007; Han ve ark., 2008b; Han ve ark., 2008a; Geiger ve ark., 2011; Heinonen ve ark., 2017).

Apelinerjik sistemin GIS'de yoğun dağılımı, bu sistemin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol aldığını düşündürmektedir. Bu bağlamda intragastrik veya intravenöz uygulanan apelin-13'ün mide ve pankreatik enzim sekresyonunu uyardığı ve fundektomi ile endojen apelinin ortadan kaldırılmasının bu etkiyi baskıladığı gözlenmiştir (Antushevich ve ark., 2016). Apelinin hem in vitro hem de in vivo olarak CCK sekresyonunu uyardığı bilinmektedir (Wang ve ark., 2004; Watez ve ark., 2013; Antushevich ve ark., 2016). İntraarteriyel infüzyon ile duodenuma uygulanan apelin-13, bikarbonat salgısını uyarmaktadır (Flemstrom ve ark., 2011). Apelinin bu etkisinin CCK

aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Noduz gangliyonda APJ reseptörü bulunmaktadır ve bu reseptörün bu bölgedeki ifadesi besin alımı ile artmaktadır (O'Donnell ve ark., 2012).

Apelin-13'ün gastrointestinal motilite üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda, intraserebroventriküler olarak uygulanan apelin-13'ün, farelerde mide boşalımının yanı sıra kolon transitini ve fekal pellet çıkışını baskıladığı ve özellikle stres sırasında gözlenen bu gastrointestinal motor fonksiyonların, APJ reseptör antagonisti ile ortadan kalktığı rapor edilmiştir (Lv ve ark., 2011; Bulbul ve ark., 2018). Apelinin bu baskılayıcı etkileri santral APJ ve opioid reseptörleri ile vagal efferentler aracılığıyla. Aynı şekilde, periferik olarak uygulanan apelin-13'ün de CCK aracılığıyla kapsaisine duyarlı vagal afferentlerin uyarılması sonucu GI motor fonksiyonları inhibe ettiği ortaya koyulmuştur (Bulbul ve ark., 2017). Ayrıca, apelinin glukoz kullanımını arttırıcı etkisi ile ilişkili bir çalışmada, apelinin ESS nöronları üzerinde bulunan reseptörleri aracılığıyla NO miktarını arttırarak bağırsak kontraksiyonunu azalttığı bulunmuştur (Fournel ve ark., 2017).

In vitro olarak, apelin-13'ün mide hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı gözlenmiştir (Wang ve ark., 2009). Benzer şekilde, ekzojen apelin-13'ün tüm gastrointestinal dokularda apoptozisi ve DNA hasarını baskıladığı tespit edilmiştir (Antushevich ve ark., 2013). Ayrıca laboratuvarlarımızda yapılan çalışmalarda, apelinin stres ile oluşturulan ülser modelinde hem korunma hem de iyileşme mekanizmalarında görev aldığı gösterilmiştir. Kan akımını, PGE₂ ve NO üretimini, anjiyogenezde başlıca rol oynayan bir büyüme faktörü olan VEGF'nin ekspresyonunu ve LPO'yu düzenleyerek mide mukozal bariyerin güçlendirilmesini ve yenilenmesini sağladığı saptanmıştır (Izgut-Uysal ve ark., 2014; Birsen ve ark., 2017). Elde ettiğimiz bulgular ve literatürdeki bilgiler apelinin, sistemik dolaşım yoluyla subfornikal organa etki ederek ya da duysal nöronlar aracılığıyla vago-vagal refleks mekanizmaları tetikleyerek, GIS'de korunmayı sağlayıcı salgı ve motor fonksiyonları düzenleyebileceğini düşündürmektedir.

2.3.5. Apelin/APJ Sistemi ve İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen mide I/R hasarı, önemli bir klinik problemdir (Wu ve ark., 2017a). Bu nedenle, çeşitli mekanizmaların aktivasyonu ile ortaya çıkan

I/R hasarına karşı korunmayı sağlayacak farklı terapötik ajanların keşfi önem kazanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, mide I/R hasarına karşı Ang II, oreksin-A, CCK ve grelin gibi peptitlerin koruyucu etkileri gösterilmiştir (El Eter ve ark., 2007; Bulbul ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2008; Sgambato ve ark., 2016). Son yıllarda anjiyogenez, aterosklerozis, hipertansiyon ve koroner kalp hastalıkları gibi pek çok patolojik süreçte rol aldığı gösterilmiş olan apelin/APJ sisteminin, I/R hasarına karşı korunma mekanizmalarında da bir mediyatör olduğu dikkat çekmektedir (Yang ve ark., 2015b).

Apelinin özellikle kalpte ve beyinde I/R hasarını azalttığı bilinmektedir. Apelin-yoksun fareler, I/R hasarına karşı daha hassastır (Wang ve ark., 2013). İn vitro ve in vivo çalışmalarda, apelin-13 ve -36'nın PI3K/Akt ve p44/42 sinyal yolları aracılığı ile hasar alanını azaltarak kalp ve sinir koruyucu oldukları gösterilmiştir (Yang ve ark., 2014; Ishimaru ve ark., 2017). Apelin, I/R hasarına karşı koruyucu etkilerini Akt'ın hem miktarını hem de aktivitesini düzenleyerek göstermektedir. Apelin SOD, eNOS ve ERK1/2 ekspresyonlarını arttırmakta; TNF- α gibi sitokinlerin ekspresyonlarını ise baskılamaktadır (Yang ve ark., 2014). Böylece apelin, antioksidan kapasiteyi arttırarak bir yandan oksidatif stresi, inflamasyonu ve apoptozisi baskılamakta; bir yandan da LPO'yu önleyerek hücre membranının stabilizasyonunu sağlamaktadır (Azizi ve ark., 2013; Pisarenko ve ark., 2014; Pisarenko ve ark., 2015; Xin ve ark., 2015). İn vivo olarak yapılan I/R çalışmalarında, apelin-13 uygulamasının, NO aracılığıyla kan akımının artışı sağlayarak hasarı azalttığı gözlenmiştir (Rastaldo ve ark., 2011). Apelin-13'ün, Bax ve kaspaz-3'ün baskılanmasını, Bcl-2'nin uyarılmasını sağlayarak beyin infarkt alanını azaltarak nörolojik bozuklukları düzelttiği gösterilmiştir (Khaksari ve ark., 2012). Beyin hücrelerinde azalan kan akımı, beyin hasarının en önemli sebebidir. Bu nedenle apelinin özellikle felçli hastalarda terapötik bir hedef olabileceği düşünülmektedir (Khaksari ve ark., 2012). Apelin-13'ün I/R hasarına karşı böbrek ve karaciğerde, beyin ve kalpte gözlenen etkilere benzer şekilde lipid peroksidasyonunu azalttığı ve fonksiyonlarını düzelttiği gözlenmekle beraber bu etkilerini hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiği tam olarak açık değildir (Yang ve ark., 2015b).

Amaç ve Hipotez

Çalışmamız, apelinin I/R hasarına karşı mideyi koruyucu etkisinde, n. vagus'un ve kapsaisine duyarlı afferent liflerin rol alıp almadıklarının araştırılması amacıyla planlanmıştır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarında Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Deneyle Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (Onay tarihi: 22.12.2014, Protokol No: 2014.12.08) Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen erişkin erkek 250-300 g ağırlığında 108 adet Wistar sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar tel kafeslerde standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslenmiş ve deneye başlamadan önce her sıçan tartılarak canlı ağırlığı kaydedilmiştir.

3.1. Apelinin etkin dozunun belirlenmesi

Apelin-13'in etkin dozunu belirlemek amacıyla doz çalışması yapılmıştır. Bu amaçla literatür bilgileri esas alınarak farklı dozlarda apelin-13, projede belirtildiği gibi intragastrik (i.g.) yolla sıçanlara uygulanmış ve apelinin I/R'ye bağlı kan akımındaki değişikliğe ve lezyon miktarına etkisi incelenmiştir. Ancak herhangi bir etki tespit edilemediği için apelinin i.v. olarak uygulanmasına karar verilmiştir. Yapılan doz çalışmasında, literatür bilgisi esas alınarak farklı dozlarda apelin, I/R öncesinde kuyruk veninden (i.v.) uygulanmıştır (n=4). Mukozal kan akımı ve lezyon indeksi esas alınarak yapılan değerlendirmede, hem iskemi (2 nmol/kg) hem de reperfüzyonun (2 nmol/kg) hemen öncesinde i.v. olarak uygulanan apelinin, en fazla koruyucu etkiyi gösterdiği tespit edilerek çalışmada bu doz kullanılmıştır.

3.2. Gruplandırma ve Deney Protokolü

Sıçanlar, su alımı serbest olacak şekilde, 18 saat aç bırakıldıktan sonra deneye alınmıştır. Çalışmamızda, apelinin etki mekanizmasında n. vagusun rolünü belirlemek için subdiyafragmatik vagotomi, kapsaisine duyarlı duysal sinirlerin rolünü belirlemek için yüksek doz kapsaisin ile denervasyon ve CCK'nın rolünün belirlenmesi için de CCK'nın tip A reseptör (CCKA reseptörü) antagonisti olan lorglumide uygulaması yapılmıştır. Cerrahi işlemler, 10 mg/kg ksilazin ve 90 mg/kg ketamin aneztezisi altında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Deney grupları

1) Kontrol Grubu (n=12): Hayvanlar anestezi altında iken, orta hat kesisi ile çölyak arter açığa çıkarılmış ve 3,5 saat boyunca herhangi bir işlem uygulanmamıştır.

2) İskemi/Reperfüzyon Grubu (I/R, n=12): Hayvanlar anestezi altında iken çölyak arter açığa çıkarılmış ve klemp kapatılarak 30 dk boyunca kan akımı durdurulmuş (iskemi), süre sonunda klemp alınarak kan akımının akışı yeniden sağlanmıştır. Bu şekilde 3 saat reperfüzyon uygulanmıştır.

3) Vagotomi+I/R Grubu (VAG+I/R, n=12): N. vagusun etkisini ortadan kaldırmak için sıçanlara bilateral subdiyafragmatik vagotomi yapılmıştır. Anestezi altındaki sıçanlarda, orta hat kesisi ile sinirleri çevreleyen özofageal bağ doku diseke edildikten sonra, vagal sinirlerin subdiyafragmatik alt dalları kesilmiş ve kesi kapatılmıştır. Vagotomiden 1 hafta sonra I/R uygulanmıştır.

4) Kapsaisin+I/R Grubu (KAP+I/R, n=12): Afferent duysal sinirlerin denervasyonları yüksek doz kapsaisin uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Takeuchi ve ark., 1994). %10 etanol, %10 Tween-80 ve %80 serum fizyolojik (v/v/v) içeren bir solüsyon içinde hazırlanan kapsaisin, 500 µl'lik hacimde sıçanlara uygulanmıştır. Kapsaisin, 1. gün 25 mg/kg, 2. ve 3. gün ise 50 mg/kg (toplam doz 125 mg/kg) dozunda olacak şekilde üç günlük bir periyotta s.c. olarak uygulanmıştır. I/R işlemi denervasyondan 2 hafta sonra gerçekleştirilmiştir.

5) CCK-A reseptörü antagonisti+I/R Grubu (LORG+I/R, n=12): Apelinin mide koruyucu etkisinde CCK'in rolünü göstermek amacıyla, CCK'nın mide koruyucu etkisinde görevli CCK-A reseptörünün antagonisti olan lorglumide kullanılarak CCK'nın etkisi bloke edilmiştir. Bunun için, 500 µl salin içinde olacak şekilde 5 mg/kg dozunda hazırlanan lorglumide (stok solüsyon DMSO:PBS (2:1) içinde hazırlanmıştır) I/R'den 30 dk önce i.p. olarak uygulanmıştır (West ve ark., 2003). Uygulamadan 30 dk sonra I/R gerçekleştirilmiştir.

6) Apelin+I/R Grubu (AP+I/R, n=12): Doz çalışması ile belirlenen miktarda apelin-13 (2 nmol/kg, serum fizyolojik içinde), 200 µl olacak şekilde hem iskemi, hem de reperfüzyonun hemen öncesinde kuyruk veninden uygulanmıştır.

7) Vagotomi+apelin+I/R Grubu (VAG+AP+I/R, n=12): Subdiyafragmatik vagotomiden 1 hafta sonra, anestezi altındaki sıçanlara apelin-13 (2 nmol/kg), hem iskemi, hem de reperfüzyonun hemen öncesinde i.v. olarak uygulanmıştır

8) Kapsaisin+apelin+I/R Grubu (KAP+AP+I/R, n=12): Kapsaisin ile afferent duysal sinirlerin denervasyonundan 2 hafta sonra, anestezi yapılan sıçanlara apelin-13, hem iskemi, hem de reperfüzyonun hemen öncesinde i.v. olarak uygulanmıştır

9) CCK-A reseptör antagonisti+apelin+I/R Grubu (LORG+AP+I/R, n=12): Anestezi altındaki sıçanlara I/R'den 30 dakika önce lorglumide, 5 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulanmıştır (Cross ve ark., 1998; West ve ark., 2003). Süre sonunda I/R gerçekleştirilmiştir. Sıçanlara apelin-13, i.v. olarak hem iskemi, hem de reperfüzyonun hemen öncesinde uygulanmıştır.

Tüm gruplarda, mukozal kan akımı ölçülen hayvanların portal venlerinden kan alınmıştır. EDTA'lı tüpe alınan kan, 5 000 g'de 15 dk santrifüj edilerek plazma ayrılmış ve analiz yapıncaya kadar -80°C de saklanmıştır. Ardından mideler alınıp, buzda bekletilen fizyolojik serum içinde yıkanmış ve lezyon seviyelerini belirlemek üzere mukozanın fotoğrafları çekilmiştir. Parametrelerin tayinlerinde kullanılmak üzere mide uygun büyüklükte parçalara ayrılarak -80°C'de saklanmıştır. Sıçanlarda mide dokularının toplanmasını takiben transkardiyak perfüzyon yapılarak beyin sapı örnekleri alınmış ve %10'luk formalin fiksatifine konulmuştur.

3.3. Parametrelerin Tayini

3.3.1. Mukozal Kan Akımının Ölçümü

Midede mukozal kan akımı ölçümü için Lazer Doppler Akımölçeri (LDF 100C, Model TSD145, Biopac) kullanılmıştır. Kan akımının ölçümü, dokuya gönderilen monokromatik lazer ışınlarının dokudan yansıdıktan sonra toplanan bölümüne ait spektrum değişimlerinin analiz edilmesi esasına dayanmaktadır. Akımölçerde yer alan

optik fiberlerden 635 nm dalga boyundaki lazer ışığı dokuya gönderilir ve hareketli kan hücreleri tarafından geri saçılan ışınlar alıcı fiber tarafından toplanır. Dalga boyundaki değişimin büyüklüğü ve frekans dağılımı hareketli hücrelerin hızının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Ksilazin-ketamin anestezisi altındaki hayvanların mideleri, I/R'u takiben açığa çıkarılmıştır. Büyük kurvatür boyunca mide açıldıktan sonra mukoza, fizyolojik serum ile yıkanarak mide içeriğinden temizlenmiştir. Kan akımı ölçümünün, hayvanın solunum hareketlerinden etkilenmemesi için mide özel bir aparata sabitlenmiştir. Lazer doppler probu bir manipülatör aracılığı ile sabit hale getirilmiş ve mide mukoza yüzeyine 0,5 mm uzaklıkta konumlandırılmıştır. Optik prob ile oksintik mukoza üzerindeki altı farklı noktadan 1'er dakikalık kayıt alınmıştır. MP100 programı ile voltaj sinyali olarak alınan kayıtların ortalaması bir hayvan için mukozal kan akım hızı değeri olarak belirlenmiştir. Sonuçlar kan perfüzyon ünitesi (BPU) olarak ifade edilmiştir.

3.3.2. Lezyon İndeksinin Tayini

Kan akımı ölçüldükten sonra deneklerin mideleri vücuttan ayrılarak ve mukoza yüzeyi üste gelecek şekilde bir plaka üzerine sabitlenmiştir. Mukoza yüzeyinin fotoğrafı alınarak bilgisayara aktarılmıştır. "Spot Advanced Analiz Programı" kullanılarak mukozadaki lezyon alanları (sınırları belirgin hemorajik alanlar) ölçülmüş ve midenin toplam alanına bölünüp 100 ile çarpılarak hesaplanan % lezyon oranı, 'lezyon indeksi' olarak ifade edilmiştir.

3.3.3. Mukus Miktarının Tayini

Mukus miktarı Alcian blue bağlama kapasitesi ile belirlenmiştir (Corne ve ark., 1974). Deney sonunda toplanan midelerin glanduler kısımları ayrılarak pH'ı 5 olan 0,05 M sodyum asetat ile tamponlu 0,16 M'lık sukrozda 0,1% w/v oranında hazırlanmış 10 ml alcian blue solusyonuna koyulmuştur. Dokular 2 saat alcian blue ile muamele edilmiş ve dokulardaki fazla boya iki kere 10 ml 0,25 M'lık sukrozda çalkalanarak uzaklaştırılmıştır. Gastrik duvar mukusuna bağlı boya, 2 saat boyunca yarım saat aralıklar ile 10 ml 0,5 M'lık magnezyum klorür ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra mavi renkli ekstrakt dietil eter ile çalkalanmış ve oluşan emülsiyon 3000 rpm'de 10 dk

santrifüjlenmiştir. Aköz tabakanın 580 nm'deki absorbansı ölçülmüştür. Yaş dokudan ekstrakte edilen mukusun bağladığı alcian blue miktarı mg/g doku olarak hesaplanmıştır.

3.3.4. Miyeloperoksidaz Aktivitesinin Tayini

Bir ünite enzim aktivitesi, 1 dk'da oluşan ürün miktarı ile ifade edilmiştir. O-dianisidin dihidroklorid, miyeloperoksidaz (MPO) enzimi ve H₂O₂'nin bulunduğu ortamda oksitlenmekte ve oksidasyon ürünü olarak mavi renkli bir bileşik oluşmaktadır. Yöntem, mavi renkli bu bileşiğin neden olduğu absorbans değişiminin 1 dk süresince 460 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Fosfat tamponu: 50 mM fosfat tampon solüsyonu (PBS, invitrogen-00-3002) (pH:6,0).

Homojenizasyon tamponu: 50 mM PBS tamponu (pH:6) içinde %0,5 oranında hekzadesil trimetil amonyum bromür (HTAB, Sigma, H-5882) içermektedir.

Reaksiyon tamponu: 50 mM PBS tamponu (pH:6) içinde 0,167 mg/ml o-dianisidin dihidroklorid ve % 0,0005 H₂O₂ içermektedir.

Mide dokusu 0,5 g doku/10 ml olarak homojenizasyon tamponu içinde homojenize edildikten (Pro 200, Pro Scientific Inc. Oxford CT, USA) sonra elde edilen homojenat 40.000 rpm'de, 4°C'de 15 dk santrifüj edilmiştir, Süpernatandaki protein miktarı, protein kiti (Pearce-comasie plus-23236) kullanılarak belirlendikten sonra, homojenattan 100 µl alınmış ve üzerine 2,9 ml reaksiyon tamponu eklenerek spektrofotometrede 460 nm'de 1 dk süresince absorbans değişimi okunmuştur. Absorbans değişimi, ürünün molar absorblama katsayısına (1,13x10⁴) oranlanarak enzim aktivitesi hesaplanmıştır. MPO enzim aktivitesi, protein değerleri ile normalize edilerek, mU/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

3.3.5. Tümör Nekrozis Faktör-α Miktarının Tayini

TNF-α miktarı spesifik katı faz enzime bağlı immünosorbent kiti (ELISA) (İnvitrogen, KRC3012) kullanılarak ölçülmüştür. Ticari kitte bulunan immünoplate, sıçana spesifik poliklonal TNF-α antikoru ile kaplıdır. Numune kuyucuklara uygulandığında numunede bulunan TNF-α antijeni, bu antikora bağlanmaktadır. Sonrasında TNF-α'ya özel biyotinli poliklonal antikoru ilave edildiğinde, bu antikör numunede bulunan TNF-α

antijenine bağlanmaktadır. Enzim bağlı sekonder antikor ortama ilave edildiğinde (streptavidin-HRP) ise, biyotinli konjugata bağlanmaktadır. Son olarak plate'e substrat eklendiğinde (TMB), sekonder antikora bağlı enzimle etkileşime girerek renkli bir bileşik oluşmaktadır. Renkli bileşiğin 450 nm'de ölçülen absorbansı, numunedeki TNF- α miktarının bir göstergesidir.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Homojenizasyon tamponu: 10 mM Tris HCl (Sigma, T5941), 150 mM NaCl (Merck, 1.06404) ve % 1 Triton X-100 (Sigma, 9002-93-1), pH: 7,4.

Mide dokuları 1 g/ml olacak şekilde homojenizasyon tamponunda (10 mM Tris HCl, pH:7,5) homojenize edilmiştir. Homojenatlar 13.000 g'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatları ayrılmış ve süpernatlarda protein miktarı belirlenmiştir. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda standart çalışması yapılmış, konsantrasyonu bilinen TNF- α standartlarının verdiği absorbans değerleri ile standart grafiği elde edilmiştir. Numunelerde dilüsyon çalışması yapılarak, numunelerin standartlara ait konsantrasyon-absorbans grafiğinin sınırları içinde olduğu doğrulanmış, numunelerde kit protokolüne uygun olarak ölçüm yapılmıştır. Numunelerin TNF- α içeriği standart grafiğine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar protein değerleri ile normalize edilerek TNF- α miktarı pg/mg protein olarak ifade edilmiştir.

3.3.6. Lipid Peroksidasyon Miktarının Tayini

Lipid peroksidasyonu, kolorimetrik kit (OxisResearch-Bioxytech-LPO-586) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümün prensibi, hidroperoksitlerin, ortamda bulunan ferröz iyonlar ile reaksiyona girerek ferrik iyonlarını oluşturması esasına dayanmaktadır. Ticari kit içinde bulunan kromojenik ayıraç amonyum tiyosiyanat (R2), bu oluşan ferrik iyonların analizine olanak sağlamak ve 500 nm'de maksimum absorbans veren stabil kromofor oluşturmaktadır.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Homojenizasyon tamponu: pH'ı 7,4 olan 10 mM'lık fosfat tampon solüsyonu (PBS, invitrogen-00-3002)'den oluşmaktadır.

Mide örnekleri, 1 g doku/10 ml olarak homojenizasyon tamponu ile homojenize edildikten sonra, 8000 g'de 4°C'de 10 dk santrifüj edilmiş ve ayrılan süpernatant ependorf tüpüne alınmıştır. Homojenatlardan lipid hidroperoksitlerinin ekstraksiyonu için öncelikle 50 µl supernatant eşit hacimde Extract R ile karıştırılarak vortekslenmiş, ardından 1 ml kloroform ile karıştırılmıştır. Oluşan karışım 1500 g'de 5 dk santrifüjlenerek fazların ayrımı sağlanmış ve alttaki kloroform fazı başka bir tüpe aktarılmıştır. 500 µl kloroform fazı, 450 µl kloroform-metanol fazı ile birleştirilerek üzerine 50 µl chromogen (eşit hacimde FTS reagent 1 ve FTS reagent 2 karışımı) eklenerek 500 nm'de absorbans ölçülmüştür. 500 nm'de hidroperoksitlerin bilinen konsantrasyonlarının absorbansları okunarak, standart grafiği elde edilmiştir. Numunelerin içeriği standart grafiğe göre hesaplanmıştır. Sonuçlar protein değerleri ile normalize edilerek, lipid peroksidasyonu nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

3.3.7. NTS ve DMN'de cfos ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak belirlenmesi

Numunedeki cfos proteininin immunoreaktivitesinin belirlenmesi, bu proteine spesifik antikor ile muamelesi esasına dayanmaktadır. Standart doku takibi sonrasında belli kalınlıklarda alınan kesitler, proteine spesifik primer antikor ile inkübe edilmektedir. Böylece primer antikor doku kesiti üzerindeki spesifik antijenine bağlanarak antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Ortama enzim-konjuge sekonder antikor eklendiğinde, sekonder antikor, antijen-antikor kompleksine bağlanmaktadır. Sekonder antikora konjuge enzimin substratı eklendiğinde ise renk oluşumu katalizlenerek antijen-antikor kompleksinin yeri belirlenmektedir.

Sıçanların beyin sapı örnekleri, %10'luk formalin fiksatifinde (10:1 v/v distile su/%37'lik formalin) 24 saat tespit edilmiştir. Süre sonunda 6-7 saat musluk suyunda yıkanan dokular, sıra ile konsantrasyonu artan %70, %80, %90 ve %100'lük alkol serilerinde 24'er saat tutularak dehidrasyon işleminden geçirilmiştir. Ksilol içinde 3 defa 5-7'şer dakika bekletilerek şeffaflaştırılmış parafin banyosundaki dokular, etüvde (58°C) 3 defa 1'er saat tutulduktan sonra, oda sıcaklığında temiz erimiş parafinde bloklanmıştır. Parafin bloklardan pozitif yükle yüklenmiş süperfrost lamalar üzerine Paxinos ve Watson sıçan beyin atlasına göre DMN ve NTS (bregma, -13.68 ile -14.08 arasında) alanlarından

5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler oda ısısında kurutulmuş ve 60 °C'lik etüvde gece boyu tutulmuştur. Kesitler iki defa 10'ar dk ksilolde tutularak deparafinize olmaları sağlanmıştır. Daha sonra 5'er dk süresince, azalan alkol serilerinden (%100, %90, %80, %70) geçirilerek rehidrate edilmiş ve 5 dk boyunca çeşme suyu içinde tutulmuştur. Daha sonra taze hazırlanan %2,1'lik borik asit (pH:7,2) solüsyonuna konulan kesitler 60°C'lik etüvde 1 gece bekletilerek antijenik epitoplara açığa çıkması sağlanmıştır. Ertesi gün, membrane permeabilizasyonunu arttırmak amacıyla %0,2'lik Triton X-100 (10 mM'lık PBS içinde hazırlanan) deterjanı içinde 30 dk bekletilmiş ve ardından dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 20 dk tutulmuştur. Üç kere 5 dk PBS ile yıkanan kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizilmiştir ve kesitler UV blok ile 7 dk inkübe edilerek özgül olmayan bağlanmalar engellenmiştir. Süre bitiminde kesitlerin üzerine PBS içerisinde 1:100 dilüsyonda hazırlanan cfos primer antikoru (Abcam, ab63444) damlatılmış ve 3 gece boyunca +4°C'de inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak uygun fare ya da tavşan serumu cfos antikorundaki IgG miktarı ile aynı konsantrasyonda olacak şekilde kullanılmıştır. Kesitler süre sonunda 3 defa 5'er dk PBS ile yıkama işlemini takiben PBS içerisinde hazırlanan 1:500 dilüsyonlu biyotin ile işaretlenmiş sekonder antikor (Vector, BA-1000) ile oda ısısında 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Üç defa 5 dk PBS ile yıkanan kesitlere peroksidaz konjuge streptavidin damlatılmış ve 20 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. PBS ile 3 defa 5 dk yıkamayı takiben kesitlere Diamino benzidin (DAB) solüsyonu damlatılmış ve mikroskop altında antijen-antikor kompleksleri kahverengi reaksiyon verinceye kadar beklenmiştir. Kesitler suya alınarak reaksiyon sonlandırılmıştır. Sonrasında Mayer'in hematoksileni ile boyanan kesitler çeşme suyunda yıkanmış, Kaiser jelatin kapatma solüsyonu ile kapatılmıştır. Ortaya çıkan kromojenik reaksiyon ışık mikroskobu altında incelenerek, cfos boyama yoğunlukları Image J programında hesaplanmıştır.

3.3.8. Kalsitonin Gen İlişkili Peptit Miktarının Tayini

Midedeki CGRP miktarı EIA kiti (SPI-BIO-A05482) kullanılarak ölçülmüştür. Kit içinde bulunan plate, CGRP'ye özgü monoklonal antikor ile kaplıdır. Bu antikor örneklerde veya standartlarda bulunabilecek CGRP'ye spesifik olarak bağlanmaktadır. Kuyucuklara eklenen asetilkolinesteraz (AChE)-Fab konjugatı CGRP moleküllerinin

farklı epitoplarına bağlanmaktadır. Böylece CGRP moleküllerinin farklı bölgelerine bağlanarak çift antikorlu sandviç modeli oluşur. Ellman's reaktifi kullanılarak AChE'nin enzimatik aktivitesinin ölçümü ile CGRP konsantrasyonu belirlenir. AChE tracer'ı Ellman's reaktifine bağlanarak sarı renkli bir bileşik oluşumunu sağlar ve analiz bu sarı renkli bileşiğin absorbansının 405 nm'de spektrofotometrik olarak tayinine dayanmaktadır.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Homojenizasyon tamponu: 2 N asetik asit içermektedir.

250 mg/2,5 ml olacak şekilde homojenizasyon tamponunda, mide dokuları buz üzerinde homojenize edilmiştir. Ardından 90°C'de 10 dk kaynatılmıştır. Örneklerden CGRP ekstraksiyonu için C-18 ters faz kolonlar kullanılmıştır. Kolonların aktive edilmesi için kolonlardan 5 ml metanol ve 10 ml distile su geçirilmiştir. 1:4 oranında %4'lük asetik asit ile dilüe edilen örnekler (500 µl) kolona yüklenmiştir. Kolonlar 10 ml %4'lük asetik asit ile yıkandıktan sonra, kolonlara tutunmuş olan CGRP, %4'lük asetik asit ile hazırlanan 3 ml metanol:su (90:10) karışımı ile elüe edilmiştir. Elüsyonlar nitrojen gazı altında tamamen uçurulmuştur. Uçurma işleminin ardından tüpün dibinde kalan kalıntılar, assay tamponunda çözülerek kite uygulanmıştır. Kite belirtilen protokol doğrultusunda standartların konsantrasyon-absorbans grafiklerinden, örneklerde bulunan CGRP miktarları ng/mg protein olarak tespit edilmiştir.

3.3.9. Prostaglandin E₂ Miktarının Tayini

PGE₂ miktarı spesifik enzim immünoassay (EIA) kiti (Cayman 514010) kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntem, az miktarda bulunan PGE₂ antikoru için, numunedeki PGE₂ ile kite verilen PGE₂-asetilkolinesteraz (AChE) konjugatının (PGE₂ tracer) yarışması esasına dayanmaktadır. PGE₂ tracer miktarı sabit tutularak, numunedeki PGE₂ miktarına yaklaşım yapılmaktadır. Eşleşen antikor-PGE₂ kompleksi, kuyucuklardaki poliklonal anti-mouse IgG'ye bağlanmaktadır. Yıkamayla, bağlanmayan moleküller uzaklaştırılır. Ortama AChE substratını içeren Ellman's ayırıcı eklendiği zaman sarı renkli bir bileşik oluşmaktadır. Kuyucuktaki sarı rengin 405 nm'de ölçülen absorbansı, kuyucuğa bağlanan PGE₂ tracer miktarını verir. Ölçülen absorbans değeri, dolaylı olarak

numunedeki PGE₂ miktarının da bir göstergesidir. Renk yoğunluğu, numunedeki PGE₂ konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Homojenizasyon tamponu: 0,1 M fosfat tampon solüsyonu (PBS, İnvitrogen-00-3002), pH:7,4, 1 mM etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, Sigma EDS-100) ve 10 µM indometazin (Sigma-I7378) içermektedir.

Mide dokuları, 1 gr doku/5 ml olarak homojenizasyon tamponu içinde homojenize edilmiştir (Pro 200, Pro Scientific Inc.Oxford CT, USA). Homojenatlardan 8.000 g'de 10 dk santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlarda protein ölçümü yapılmıştır. PGE₂'nin bilinen konsantrasyonlarının 450 nm'deki absorban değerleri kullanılarak PGE₂ standart grafiği elde edilmiştir. Numuneler ile dilüsyon çalışması yapıldıktan sonra, kit protokolüne uygun şekilde ölçüm yapılmıştır. Elde edilen absorban değerleri kullanılarak, numunelerin PGE₂ içeriği standart grafiğine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar protein değerleri ile normalize edilerek, değerler ng/mg protein olarak ifade edilmiştir.

3.3.10. Nitrik Oksit Miktarının Tayini

Mide dokusunda bulunan toplam NO miktarı, nitrit ve nitrat oranlarının toplamı olarak ifade edilmektedir. Örneklerdeki NO miktarı, Griess metodunu esas alan bir ticari kolorimetrik kit (Cayman-780001) aracılığı ile ölçülmüştür. Kullanılan kit iki aşamalı bir yöntemle toplam nitrit/nitrat konsantrasyonunu ölçmektedir. İlk basamakta nitrat redüktaz enzimi ile NO₃⁻, NO₂⁻'e dönüştürülür. İkinci basamakta ise ortama eklenen Griess reaktifleri NO₂⁻'i koyu mor renkli bir azot bileşenine çevirir. Renkli bileşenin 540 nm'de ölçülen absorbanı total NO₂⁻ miktarını vermektedir.

Kullanılan reaktifler ve kimyasallar

Homojenizasyon tamponu: pH'ı 7,4 olan 10 mM'lık fosfat tampon solüsyonu (PBS, invitrogen-00-3002)'den oluşmaktadır.

Mide dokusu örneği, 1 g doku/10 ml olacak şekilde fosfat tamponu içine konulduktan sonra buz üzerinde homojenize edilmiştir (Pro 200, Pro Scientific Inc.Oxford CT, USA.). Homojenatlar 10.000 g'de 20 dk santrifüj edilmiş ve 500 µl süpernatant alınarak,

30 kDa'luk filtrelerden (15.000 g'de 15 dk santrifüj ile) geçirilmiştir. Supernatantların protein içerikleri belirlendikten sonra, kitte verilmiş olan protokol doğrultusunda, NO_3^- 'nin bilinen konsantrasyonlarının 540 nm'deki absorbans değerleri kullanılarak nitrit standart grafiği elde edilmiştir. Filtre edilen örnekler ile dilusyon çalışması yapılarak, numunelerin derişimlerinin standartlara ait elde edilen konsantrasyon-absorbans grafiğinin sınırları içinde olduğu doğrulandıktan sonra plate'e yüklenmiş ve nitrat redüktaz enzimiyle oda ısısında 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda plate'e Griess reaktifleri eklenmiş ve 10 dk oda ısısında bekletildikten sonra 540 nm'de spektrofotometrik olarak okunmuştur. Numunelerin NO_2^- içeriği standart grafiğine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar protein değerleri ile normalize edilerek NO_x miktarı nmol/g protein olarak ifade edilmiştir.

3.3.11. Plazma Kolesistokinin Seviyelerinin Tayini

CCK miktarı spesifik solid phase Enzyme Linked-Immuno Sorbent Assay (ELISA) kiti (Phoenix Pharmaceuticals- EKE-069-04) kullanılarak ölçülmüştür. Kit içerisinde bulunan immunoplate, sekonder antikor ile kaplıdır ve sekonder antikor primer antikorun Fc fragmentine bağlanabilir. Primer antikorun Fab fragmenti ise biyotinlenmiş peptit, standart peptit ya da örnekteki hedef peptit ile yarışmalı olarak bağlanabilir. Biyotinlenmiş peptit ise streptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP) ile etkileşime girmektedir. SA-HRP, substrat solüsyonunu katalizleyerek sarı renkli bileşik oluşumunu sağlar. Sarı rengin yoğunluğu direkt olarak biyotinli peptit-SA-HRP kompleksinin miktarı ile ilişkilidir. Örnekteki hedef peptit, konsantrasyonları bilinen standart peptitlerin 450 nm'deki absorbanslarına göre çizilen grafiğe göre hesaplanmaktadır.

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda standart çalışması yapılmış, konsantrasyonu bilinen CCK standartlarının verdiği absorbans değerleri ile standart grafiği elde edilmiştir. Plazma örnekleri diluent buffer ile 1:1 oranında karıştırılarak, kit protokolüne uygun şekilde ölçüm yapılmıştır. Numunelerin CCK içeriği standart grafiğine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

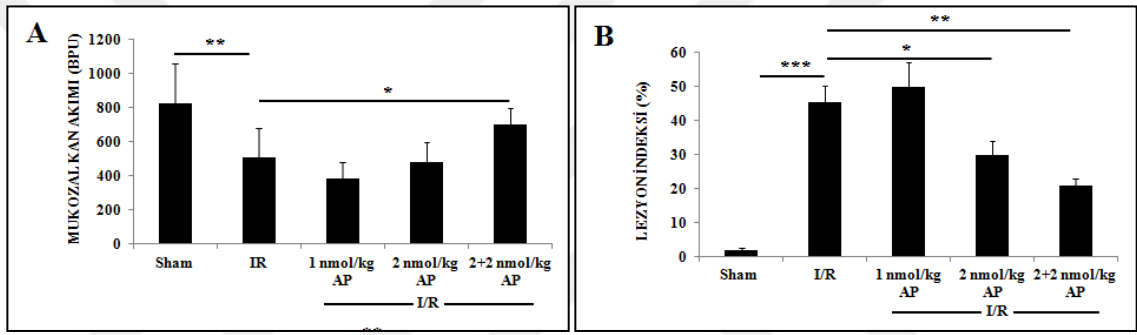
Grupların çoklu karşılaştırmaları için Kruskal-Wallis Varyans Analizi kullanılırken, ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilerek, $p<0,05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Apelinin Etkin Dozunun Belirlenmesi

Apelinin I/R'ye karşı koruyucu etki gösterebileceği dozu saptayabilmek için yapılan ön çalışmada, farklı dozlarda serum fizyolojik içinde hazırlanan apelin-13 i.v. olarak iskemi ve reperfüzyon öncesinde sıçanlara verilmiştir. İskemi ve reperfüzyon öncesinde 2 nmol/kg v.a. (2+2 nmol/kg) olarak uygulanan apelin-13, I/R'ye bağlı olarak mukozal kan akımındaki azalmayı ve lezyon oluşumunu önlemiştir (Şekil 4.1A ve B).

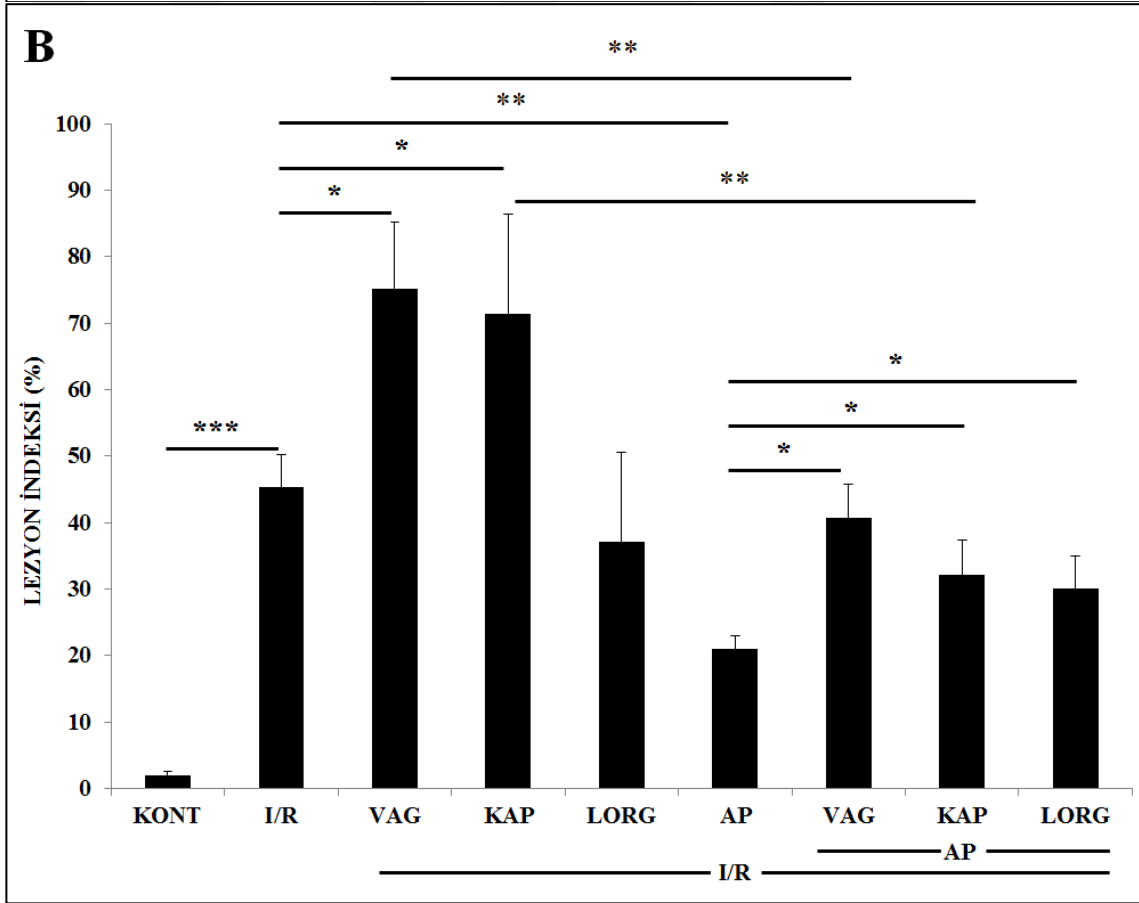
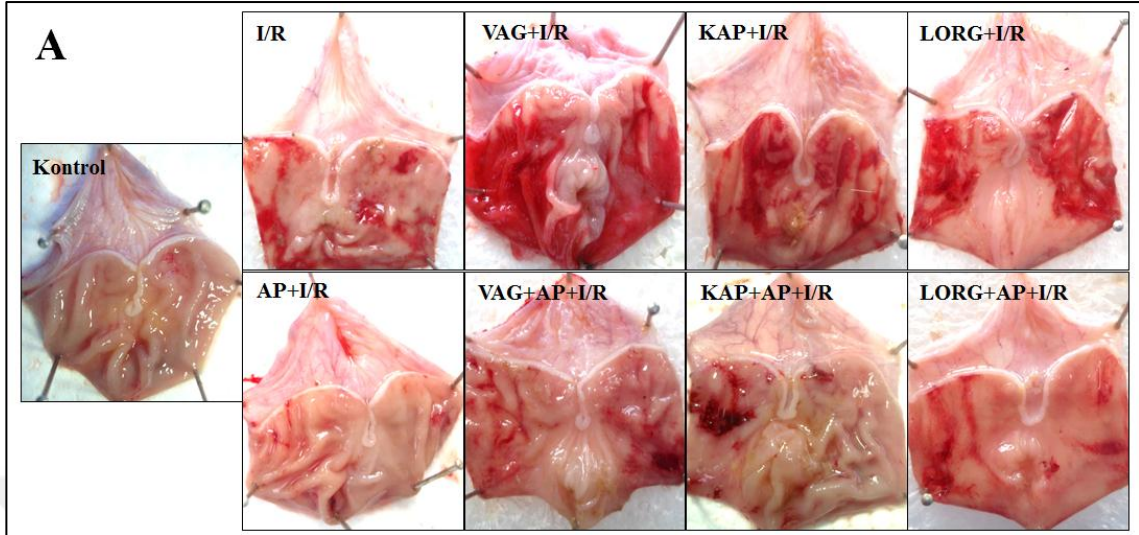


Şekil 4.1. Apelinin doza bağlı olarak, A. Mukozal kan akımına etkisi; B. Lezyon indeksine etkisi. * p<0,05 ve Apelin uygulanan gruplarda, n=4'tür.

4.2. Midede Lezyon İndeksi

İskemi/reperfüzyon, deneklerin mide mukozasında ~ %45 oranında lezyon oluşumuna neden olmuştur (p<0,001). I/R ile tetiklenen mukozal hasar, vagotomi veya kapsaisin etkisi ile daha da artmıştır (I/R grubu ile karşılaştırıldığında her iki grup için; p<0,05'dir); ancak lorglumide uygulaması ile değişmemiştir.

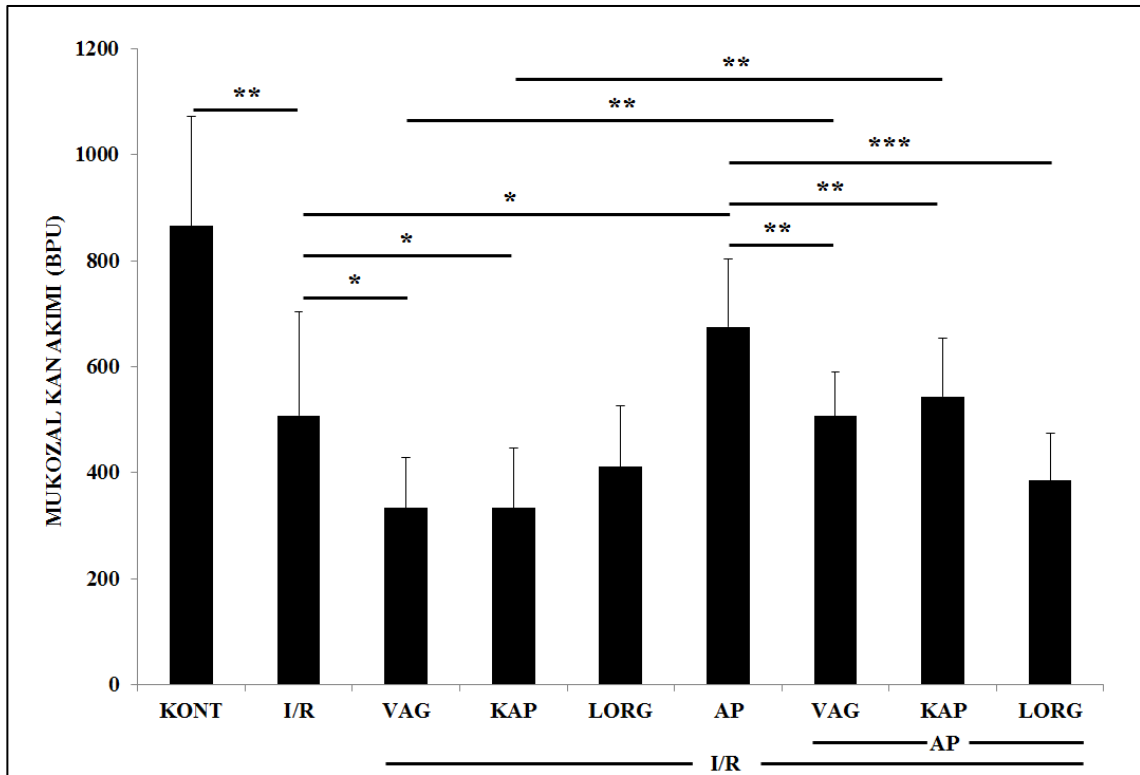
Apelin-13 uygulamasının, I/R ile tetiklenen lezyon seviyesini büyük oranda azalttığı gözlenmiştir (p<0,01). Vagotomi ile n. vagusun, kapsaisin ile duysal liflerin ya da lorglumide ile CCKA reseptörünün etkisinin ortadan kaldırıldığı gruplarda, apelinin koruyucu etkisinin azaldığı saptanmıştır (AP+I/R grubu ile VAG+AP+I/R, KAP+AP+I/R ve LORG+AP+I/R grupları karşılaştırıldığında, her üç grup için; p<0,05). VAG+AP+I/R grubu VAG+I/R grubu ile, KAP+AP+I/R grubu KAP+I/R grubu ile karşılaştırıldığında, mukozal hasarın daha az olduğu gözlenmiştir (her iki karşılaştırma için; p<0,01) (Şekil 4.2.A ve B).



Şekil 4.2. A. Mide mukozalarının makroskopik görüntüleri. B. Mukozalardaki % lezyon alanları. * p<0,05, ** p<0,01 ve *** p<0,001'dir.

4.3. Midede Mukozal Kan Akımı

Kontrol grubunda 866 ± 206 BPU olarak tespit edilen mukozal kan akımı, I/R grubunda 507 ± 195 BPU'ya azalmıştır ($p < 0,01$). Vagotomi ya da kapsaisin uygulanan I/R gruplarında, mukozal kan akımının daha da azaldığı gözlenirken (her iki grup için; $p < 0,05$), lorglumide uygulanan grupta değişmediği tespit edilmiştir. Apelin-13 ile, I/R'ye bağlı azalmanın %50 oranında önlendiği belirlenmiştir (675 ± 128 BPU, $p < 0,05$). Apelinin mukozal kan akımındaki I/R'ye bağlı azalmayı önleyici etkisi, vagotomi (VAG+AP+I/R; 506 ± 84 BPU), kapsaisin (KAP+AP+I/R; 522 ± 87 BPU) veya lorglumide (LORG+AP+I/R; 360 ± 99 BPU) ile anlamlı derecede azalmıştır (AP+I/R grubu VAG+AP+I/R ve KAP+AP+I/R ile karşılaştırıldığında; $p < 0,01$ ve LORG+AP+I/R ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$ 'dir). VAG+I/R (333 ± 95 BPU) ve KAP+I/R (355 ± 93 BPU) grupları, apelin-13 uygulanan gruplar (VAG+AP+I/R ve KAP+AP+I/R) ile karşılaştırıldığında, kan akımının apelinin etkisi ile biraz daha yüksek olduğu saptanmıştır (her iki grup için; $p < 0,01$ 'dir). Ancak LORG+I/R (447 ± 123 BPU) grubu ile LORG+AP+I/R grubu arasında fark bulunmamıştır (Şekil 4.3.).

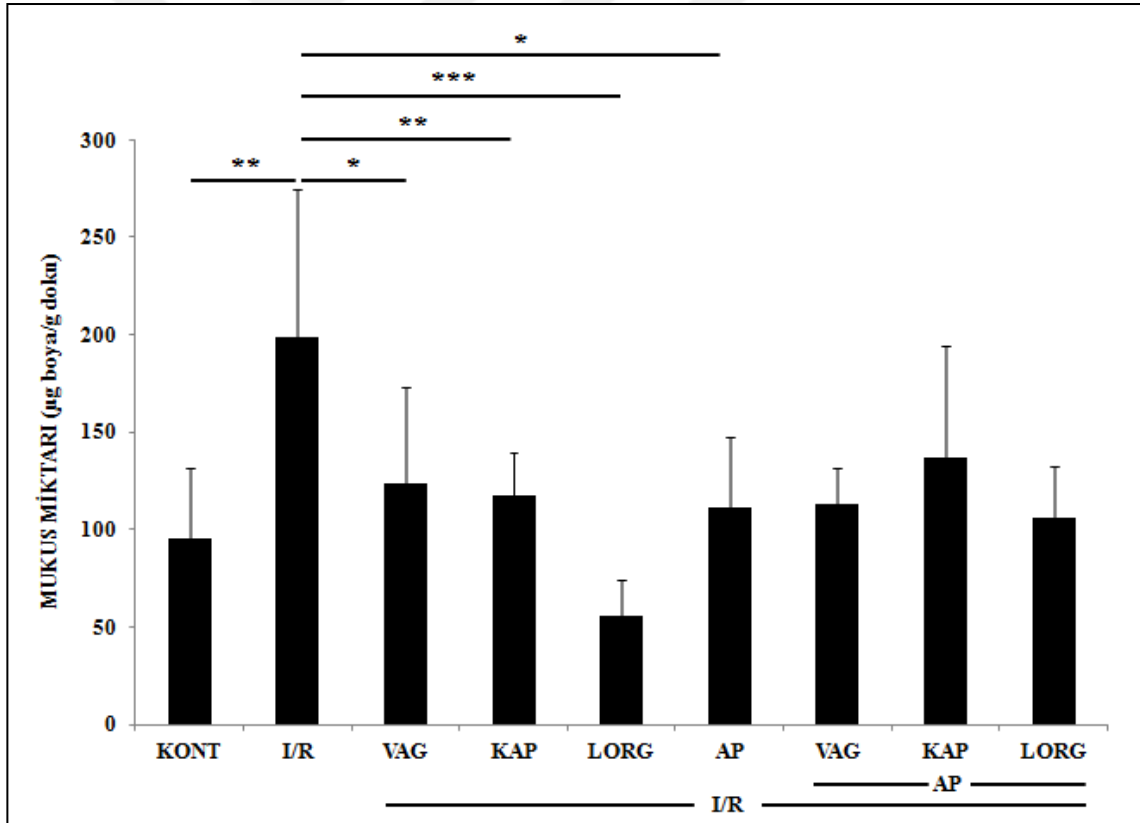


Şekil 4.3. Apelinin midede mukozal kan akımına etkisi. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ 'dir.

4.4. Midede Mukus Miktarı

Kontrol grubundaki deneklerin midelerinde 96 ± 36 μg boya/g doku olarak saptanan mukus miktarı, I/R grubunda 198 ± 76 μg boya/g doku olarak artmış bulunmuştur ($p<0,01$). Ancak I/R'nin, midede mukus miktarı üzerine bu arttırıcı etkisi, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulanan gruplarda azalmıştır (sırasıyla 124 ± 50 μg boya/g doku, $p<0,05$; 118 ± 22 μg boya/g doku, $p<0,01$ ve 56 ± 18 μg boya/g doku, $p<0,001$).

Apelin-13'ün midede mukus miktarına etkisine bakıldığında, I/R'nin mukus üretimini uyarıcı etkisini ortadan kaldırdığı (112 ± 36 μg boya/g doku, $p<0,05$); ancak vagotomi ile n. vagusun, kapsaisin ile duysal nöronların denervasyonunun ya da lorglumide ile CCKA reseptörünün bloke edilmesinin bu etkiyi değiştirmedığı gözlenmiştir (Şekil 4.4).



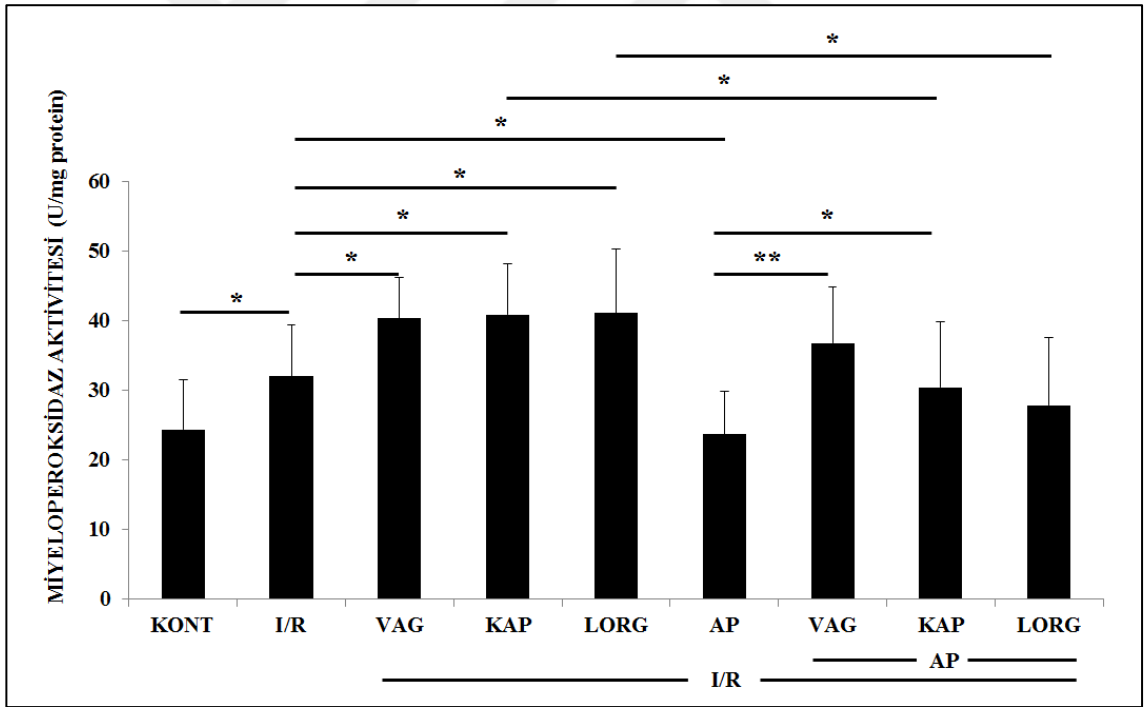
Şekil 4.4. Apelinin mide dokusunda mukus miktarına etkisi. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ 'dir.

4.5. Midede Miyeloperoksidaz Aktivitesi

Mukozadaki nötrofil birikiminin göstergesi olan MPO enzimin aktivitesi, kontrol grubunda $24,37\pm7,16$ U/mg protein, I/R grubunda $32,04\pm7,35$ U/mg protein olarak

saptanmıştır ($p<0,05$). I/R'den önce vagotomi yapılması, duysal liflerin denervasyonu ya da lorglumide'in kullanılması MPO aktivitesinin daha fazla artmasına neden olmuştur (I/R grubu VAG+I/R ($40,30\pm5,92$ U/mg protein), KAP+I/R ($40,86\pm7,29$ U/mg protein) ya da LORG+I/R ($41,05\pm9,27$ U/mg protein) grupları ile karşılaştırıldığında, $p<0,05$).

I/R sonucu MPO aktivitesinde gözlenen artış, apelin-13 ile ortadan kalkmıştır ($23,72\pm6,10$ U/mg protein, $p<0,05$). Ancak I/R'den önce vagotomi ya da kapsaisin uygulanması apelinin MPO aktivitesini düşürücü etkisini azaltmıştır (AP+I/R grubu VAG+AP+I/R grubu ($36,74\pm8,05$ U/mg protein) ile karşılaştırıldığında, $p<0,01$; AP+I/R grubu KAP+AP+I/R grubu ($30,44\pm9,44$ U/mg protein) ile karşılaştırıldığında, $p<0,05$). Apelinin MPO aktivitesini azaltıcı etkisi vagotomi ile tamamen, kapsaisin ile kısmen önlenmiştir ve lorglumide ile ise değişmemiştir (Şekil 4.5.).

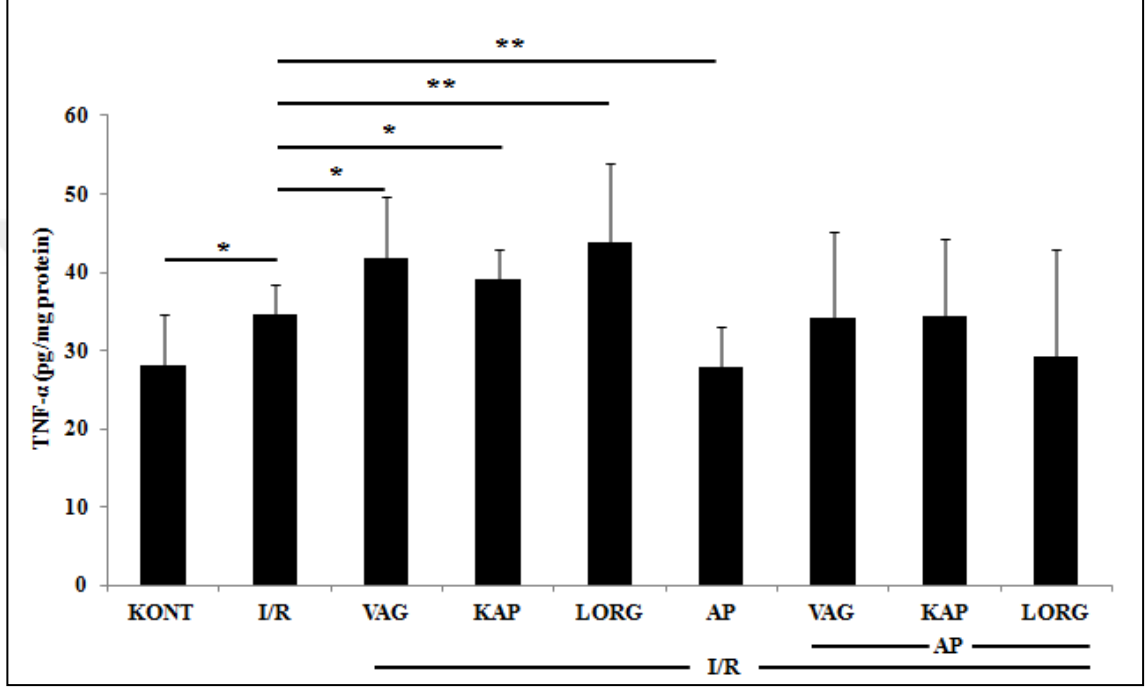


Şekil 4.5. Apelinin mide dokusunda miyeloperoksidaz aktivitesine etkisi. * $p<0,05$ ve ** $p<0,01$ 'dir.

4.6. Midede TNF- α Miktarı

Kontrol grubunun mide dokusunda 28 ± 7 pg/mg protein olan TNF- α miktarının, I/R grubunda arttığı tespit edilmiştir (35 ± 4 pg/mg protein, $p<0,05$). I/R'nin midedeki TNF- α miktarını artırıcı etkisi vagotomi, kapsaisin ve lorglumide ile daha güçlenmiştir (sırasıyla 42 ± 8 pg/mg protein, $p<0,05$, 39 ± 4 pg/mg protein, $p<0,05$ ve 44 ± 10 pg/mg protein,

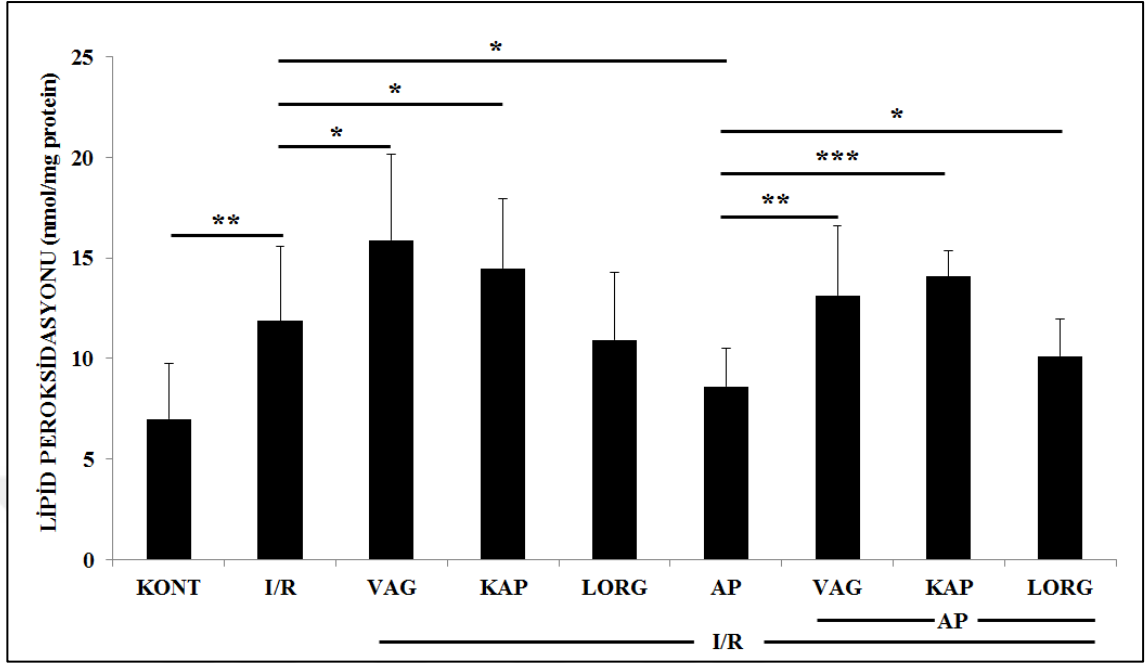
p<0,05). AP+I/R grubunun TNF- α miktarı (28 \pm 5 pg/mg protein) I/R grubu ile karşılaştırıldığında, apelin-13'ün mide dokusunda TNF- α miktarını azalttığı saptanmıştır (p<0,01). Apelinin bu etkisi, vagotomi, kapsaisin ve lorglumide ile değişmemiştir (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Apelinin mide dokusunda TNF- α miktarına etkisi. * p<0,05 ve ** p<0,01'dir.

4.7. Midede Lipid Peroksidasyonu

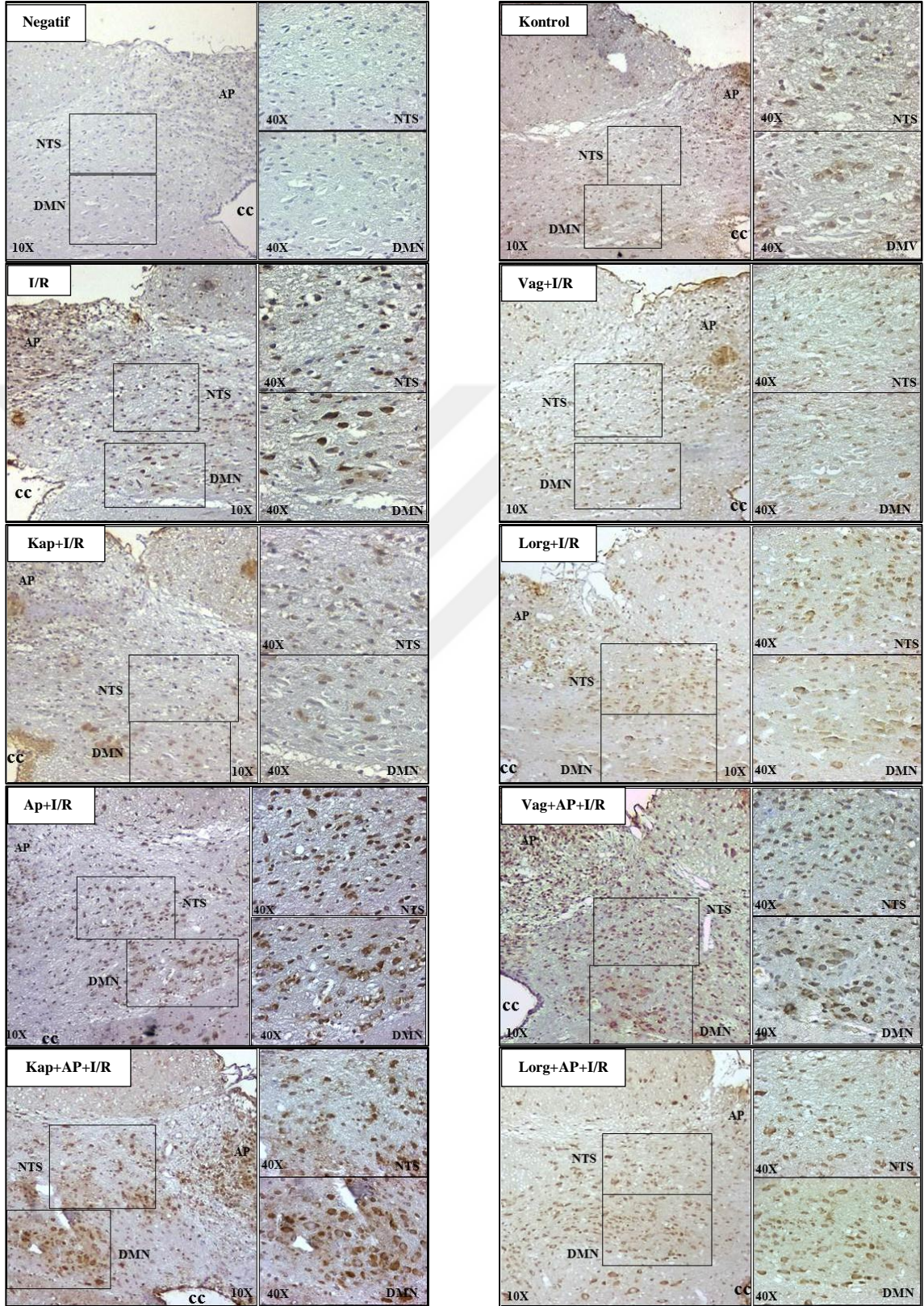
I/R sonucunda midede oluşan lipid peroksidasyonu (11,86 \pm 3,70 nmol/mg protein), kontrol grubu (6,99 \pm 2,79 nmol/mg protein) ile karşılaştırıldığında, anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,01). Vagotomi ya da kapsaisin uygulamaları ile lipid peroksidasyonunun daha da arttığı (I/R grubu VAG+I/R grubu (15,88 \pm 4,27 nmol/mg protein) ile ya da KAP+I/R grubu (14,47 \pm 3,47 nmol/mg protein) ile karşılaştırıldığında, p<0,05), lorglumide ile ise değişmediği gözlenmiştir. I/R hasarından önce uygulanan apelin-13, lipid peroksidasyonundaki I/R'ye bağlı yükselmeyi önlemiştir (8,61 \pm 1,92 nmol/mg protein, p<0,05). Apelinin bu koruyucu etkisinin, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile azaldığı gözlenmiştir (sırasıyla, 13,15 \pm 3,49 nmol/mg protein, p<0,01; 14,07 \pm 1,26 nmol/mg protein, p<0,001 ve 10,12 \pm 1,81 nmol/mg protein, p<0,05) (Şekil 4.7).



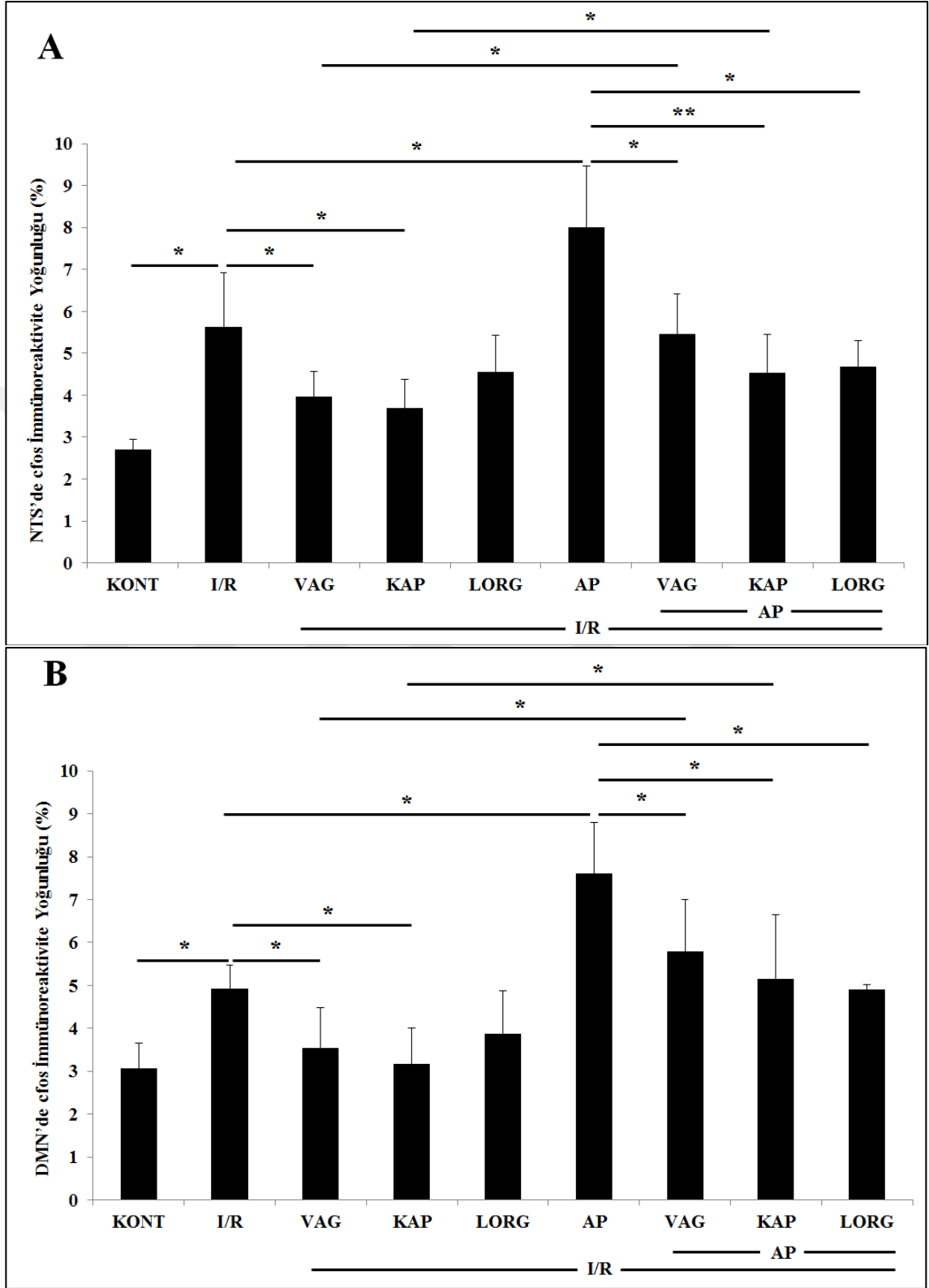
Şekil 4.7. Apelinin mide dokusunda lipid peroksidasyonuna etkisi. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ 'dir.

4.8. NTS ve DMN'de cfos Protein Ekspresyonları

Apelinin, duysal lifler aracılığı ile olan koruyucu etkilerini test etmek için NTS ve DMN'de cfos ekspresyonu immünohistokimyasal olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8 ve 4.9). Elde edilen bulgulara göre, I/R grubunda hem NTS'de hem de DMN'de cfos ekspresyonunun kontrole göre arttığı (her iki bölge için; $p<0,05$) ve vagotomi ya da kapsaisin uygulanması ile bu artışın büyük oranda ortadan kalktığı saptanmıştır. Apelin-13, I/R'ye bağlı cfos artışının her iki bölgede de daha fazla olmasını sağlamış, ancak vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulanan gruplarda bu etki azalmıştır (NTS'de sırasıyla, $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,05$ ve DMN'de her üç karşılaştırmada da, $p<0,05$). Aynı zamanda kapsaisin ya da vagotomi uygulanan I/R grupları, apelin-13 uygulanan kendi grupları ile karşılaştırıldığında apelinin cfos ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir (her iki nükleusta, her iki karşılaştırma için; $p<0,05$).



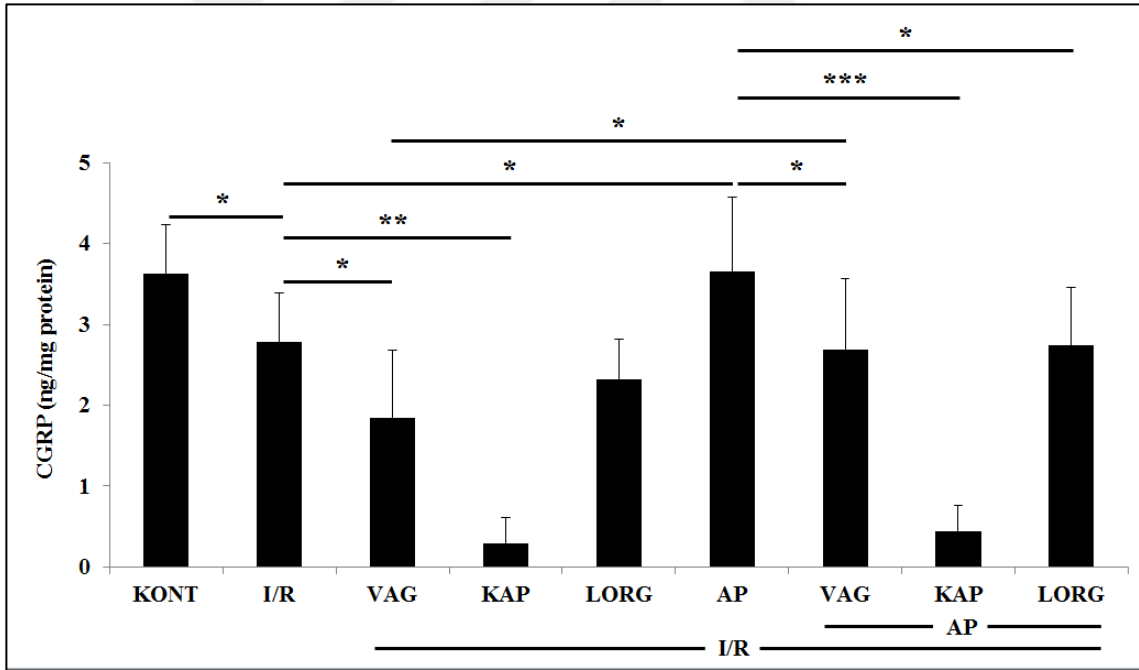
Şekil 4.8. NTS ve DMN’de cfos ekspresyonu. NTS, nükleus traktus solitarus; DMN, dorsal motor nükleusu; AP, area postrema; CC, canalis centralis. Büyütmeler 10X ve 40X’dir.



Şekil 4.9. A. Apelinin NTS'de % cfos immünoreaktivite yoğunluğuna etkisi. B. Apelinin DMN'de % cfos immünoreaktivite yoğunluğuna etkisi. * p<0,05 ve ** p<0,01'dir.

4.9. Midede CGRP Miktarı

Kontrol grubunda CGRP miktarı $3,6 \pm 0,6$ ng/mg protein olarak, I/R grubunda ise $2,8 \pm 0,6$ ng/mg protein olarak bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.10). Vagotomi ya da kapsaisin uygulaması, CGRP miktarındaki I/R'ye bağlı azalmanın daha fazla belirginleşmesine neden olmuştur (sırasıyla $1,8 \pm 0,8$ ng/mg protein, $p < 0,05$ ve $0,3 \pm 0,3$ ng/mg protein, $p < 0,01$). I/R'den önce uygulanan apelin, I/R'nin neden olduğu CGRP üretimindeki azalmayı ortadan kaldırarak kontrol seviyesine yükseltmiştir ($3,43 \pm 0,67$ ng/mg protein, $p < 0,05$). Ancak vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide apelinin bu etkisini azaltmakla birlikte (sırasıyla, $2,51 \pm 0,71$ ng/mg protein, $p < 0,05$; $0,44 \pm 0,32$ ng/mg protein, $p < 0,001$ ve $2,74 \pm 0,72$ ng/mg protein, $p < 0,05$ 'tir); vagotomi uygulanmış I/R grubu, apelin uygulanan kendi grubu ile karşılaştırıldığında, apelinin anlamlı şekilde CGRP miktarını arttırdığı görülmüştür ($p < 0,05$).

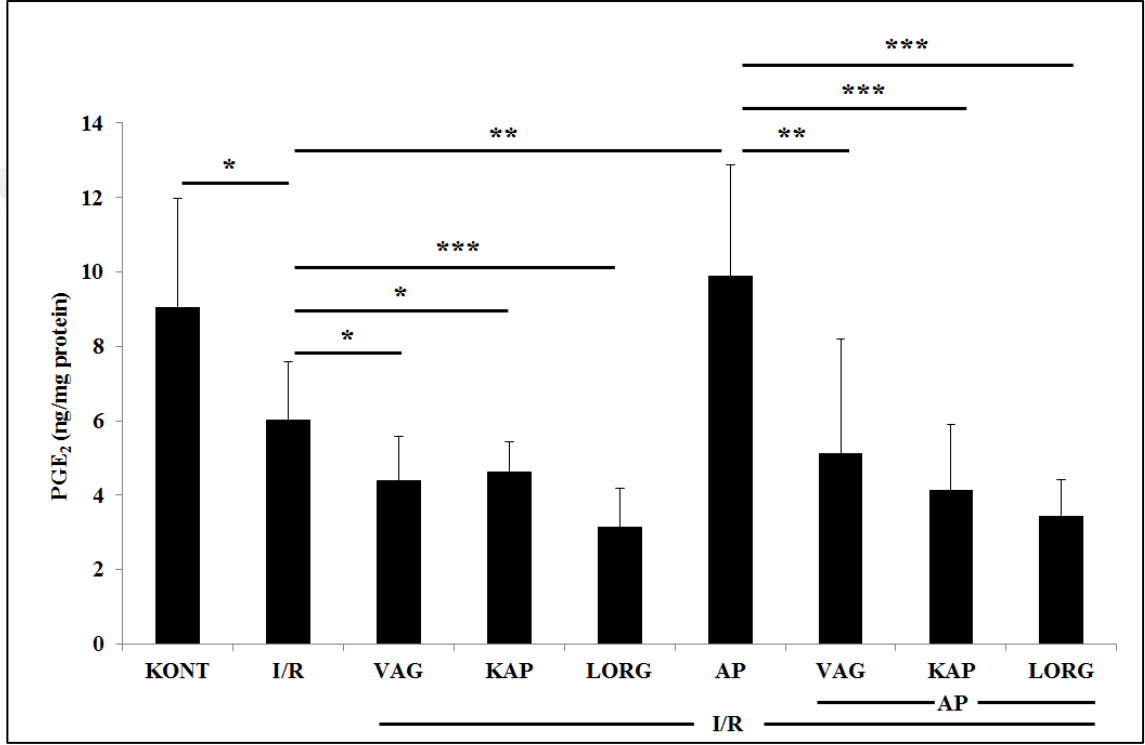


Şekil 4.10. Apelinin mide dokusunda CGRP miktarına etkisi. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ 'dir.

4.10. Midede PGE₂ Miktarı

I/R, midede üretilen PGE₂ miktarının 9 ± 3 ng/mg protein'den 6 ± 2 ng/mg proteine azalmasına neden olmuştur ($p < 0,05$). I/R hasarı sonucunda ortaya çıkan bu azalma, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulanan gruplarda daha da belirginleşmiştir (sırasıyla, 4 ± 1 ng/mg protein, $p < 0,05$, 5 ± 1 ng/mg protein, $p < 0,05$ ve 3 ± 1 ng/mg protein,

p<0,001). Apelin-13'ün I/R'den önce uygulanması, PGE₂ üretimindeki I/R'ye bağlı azalmayı ortadan kaldırmıştır (10±3 ng/mg protein, p<0,01). Ancak apelinin PGE₂ üretimindeki I/R'ye bağlı azalmayı önleyici etkisinin vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulanan gruplarda azaldığı gözlenmiştir (sırasıyla 5±3 ng/mg protein, p<0,01, 4±2 ng/mg protein, p<0,001 ve 4±1 ng/mg protein, p<0,001) (Şekil 4.11.).



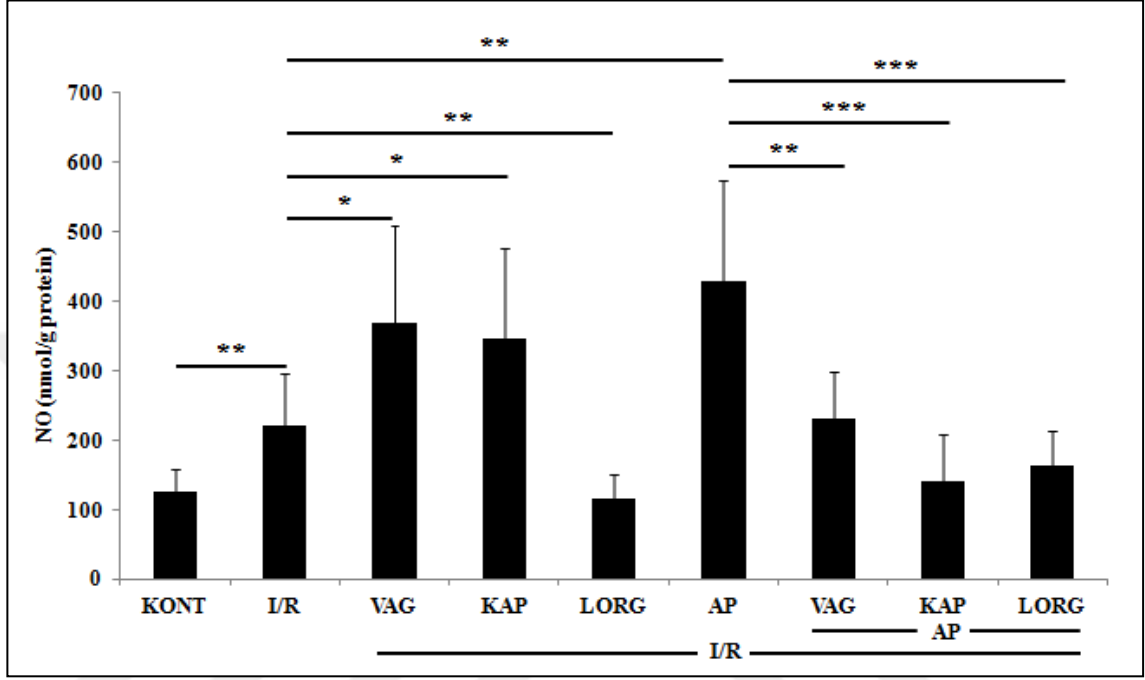
Şekil 4.11. Apelinin mide dokusunda PGE₂ miktarına etkisi. * p<0,05, ** p<0,01 ve *** p<0,001'dir

4.11. Midede NO Miktarı

Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında, midedeki NO miktarının I/R'ye bağlı olarak anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir (Kontrol grubunda 125±33 nmol/g protein ve I/R grubunda 222±75 nmol/g protein, p<0,01). NO üretimindeki bu artışın, vagotomi veya kapsaisin uygulanması ile daha da arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla, 370±140 nmol/g protein, p<0,05 ve 346±130 nmol/g protein, p<0,05). Lorglumide, NO miktarının anlamlı şekilde azalmasına neden olmuştur (116±34 nmol/g protein, p<0,01).

I/R ile artan NO miktarı, apelin-13 etkisi ile daha da artmıştır (429±145 nmol/g protein, p<0,01). Apelinin NO üretimi üzerine olan uyarıcı etkisi vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulanan gruplarda ortadan kalkmıştır (sırasıyla, 231±68 nmol/g protein,

p<0,01; 140±69 nmol/g protein, p<0,001 ve 164±49 nmol/g protein, p<0,001) (Şekil 4.12).

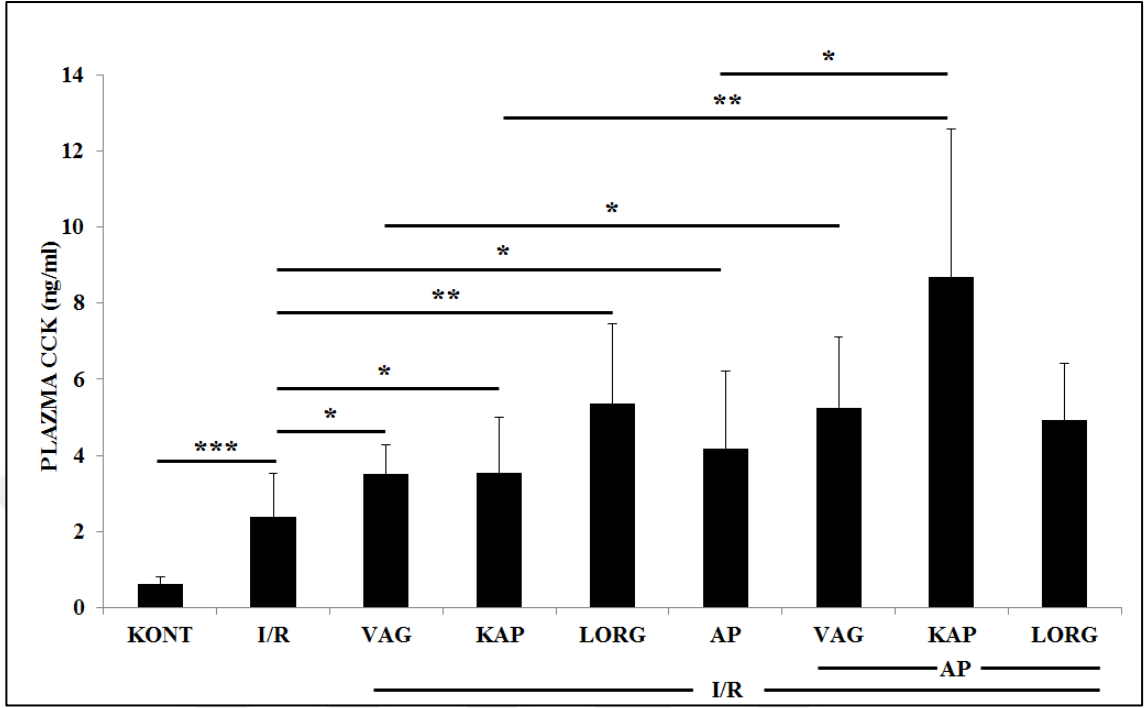


Şekil 4.12. Apelinin mide dokusunda NO miktarına etkisi. * p<0,05, ** p<0,01 ve ***p<0,001'dir.

4.12. Plazma CCK Seviyesi

Portal plazmada CCK seviyesi, kontrol grubunda 0,63±0,18 ng/ml olarak tespit edilmiş, I/R grubunda ise belirgin olarak artmış bulunmuştur (2,37±1,14 ng/ml, p<0,001). I/R'ye bağlı olarak artmış olan CCK miktarının, vagotomi, kapsaisin veya lorglumide uygulanan I/R gruplarında daha fazla yükseldiği saptanmıştır (sırasıyla 3,51±0,77 ng/ml, p<0,05; 3,52±1,48 ng/ml, p<0,05 ve 5,35±2,1 ng/ml, p<0,01). I/R ile artmış olan CCK miktarı, I/R öncesinde verilen apelin-13'ün etkisi ile daha da artmıştır (4,19±2,04 ng/ml, p<0,05). Kapsaisin uygulaması, CCK miktarının daha da artmasına neden olmuş (AP+I/R grubu KAP+AP+I/R grubu ile karşılaştırıldığında, p<0,05), vagotomi ve lorglumide ise etkisiz bulunmuştur.

VAG+I/R grubu, VAG+AP+I/R ile ve KAP+I/R grubu ise KAP+AP+I/R grubu ile karşılaştırıldığında, apelinin CCK salgısını arttırıcı etkisinin daha da güçlendiği gözlenmiştir (sırasıyla, p<0,05 ve p<0,01) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Apelinin CCK salgısı üzerine etkisi. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ 'dir.

5. TARTIŞMA

Mide NSAID'ler, toksik maddeler, safra asitleri, HCI ve pepsin gibi endojen ve ekzojen pek çok zararlı madde ile doğrudan karşılaşmaktadır. Bunların yanı sıra organ nakli, hemorajik şok ve trombolitik tedavi gibi durumlar sonucu I/R hasarına da maruz kalabilen bir bölgedir. Midede, bu hasarlayıcı faktörlere karşı koruyucu mekanizmalar bulunmaktadır. Son yıllarda, bu mekanizmaları aktive ederek mide mukozasının korunmasını sağlayan peptitler üzerinde durulmaktadır. Çalışmamızda, apelinin, I/R hasarına karşı koruyucu etkisinde vagus sinirinin ve kapsaisine duyarlı duysal liflerin rolü araştırılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular, apelinin mide mukoza bariyerini güçlendiren etkisinde, n. vagus ve duysal sinirlerin rolü olduğunu göstermiştir.

İlk aşamada, apelinin I/R hasarına karşı mide için koruyucu etkisini göstermek üzere, I/R öncesi apelin uygulanmış ve bulgularımız apelinin, I/R grubuna göre lezyon oluşumunu anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir. I/R, doku kanlanmasının bozulmasıyla hasara neden olan patolojik bir süreçtir (Pontes ve ark., 2016). İskemi ile kan akımının kesilmesi, aerobik dokuda hipoksi oluşturarak, hem hücrelerin normal iyon dengesinin bozulmasına hem de enerjisi için gerekli besinin karşılanamamasına neden olmaktadır. Reperfüzyon ile kan akımının yeniden sağlanması ise, nötrofil infiltrasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin artışı sonucunda, iskemi sırasında tetiklenen süreci daha da güçlendirerek hasarı arttırmaktadır. I/R hasarına neden olan mekanizmalar göz önüne alındığında apelinin koruyucu etkisi beklenen bir sonuçtur. Daha önceki çalışmalarda apelinin mukozal kan akımını arttırdığı, dokuda nötrofil birikimini baskıladığı ve ayrıca antioksidan kapasiteyi güçlendirerek oksidan stresi azalttığı gösterilmiştir (Nishida ve ark., 2012; Pisarenko ve ark., 2014; Birsen ve ark., 2017). Bu bulguları destekleyici nitelikte olan çalışmamızda da apelin, kan akımındaki I/R'ye bağlı azalmayı engellemiş, mide dokusunda nötrofil birikimini ve nötrofil birikimindeki azalmaya bağlı olarak TNF- α salınımını ve LPO'yu azaltmıştır. Apelin, sadece hasara neden olan faktörlerin azaltılmasını sağlamakla kalmamış, aynı zamanda mide dokusunda hasarı önleyici etkisi bilinen CGRP ve PGE₂'nin I/R'ye bağlı azalmasını engellemiştir. Bunlarla birlikte apelinin, mide mukozal bariyerini güçlendirdiği bilinen CCK'nın salınımını da arttırdığı gözlenmiştir. CCK'nın, eNOS

aracılığıyla NO yapımını ve ayrıca duysal liflerden CGRP salgısını uyardığı bilinmektedir. Bulgularımız, apelinin midedeki hasara neden olan faktörleri azaltıp, bariyeri güçlendiren bileşenleri artırarak mukozayı I/R hasarına karşı koruduğunu göstermektedir.

I/R hasarında etkili olan faktörlerin pek çoğu mukozada duysal sinirleri uyararak, koruyucu mekanizmada görevli bileşenlerin artmasına neden olmaktadır (Holzer ve ark., 2004; Lai ve ark., 2017). O nedenle bu çalışmada apelinin koruyucu etki mekanizmasında, duysal liflerin ve n. vagusun rolü araştırılmıştır. Duysal liflerin ve n.vagusun aktivasyonu ile PGE₂, CGRP ve NO gibi koruyucu faktörlerin salgılanmasının arttığı, bunların yanı sıra dokuda nötrofil birikiminin göstergesi olan MPO aktivitesinin, inflamasyonda görevli sitokin salgısının ve LPO'nun baskılanarak damar bütünlüğüne katkı sağlandığı bilinmektedir (Pavlov ve Tracey, 2005; Oksana Sulaieva, 2014 ; Lai ve ark., 2017). Literatürdeki bu bilgiler ile uyumlu olarak çalışmamızda vagotomi ya da kapsaisin uygulanan I/R gruplarında, lezyon indeksinin arttığı gözlenmiştir. Vagotomi ve yüksek doz kapsaisin ile fonksiyonu engellenen n. vagus ve kapsaisine duyarlı duysal afferent liflerin apelinin koruyucu etki mekanizmalarındaki rolünü saptamak amacıyla oluşturduğumuz gruplarda apelinin lezyon oluşumunu azaltıcı etkisinin daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak apelinin koruyucu etkisinin vagotomi ve kapsaisin ile denervasyon gruplarında mevcut olması, apelinin etki mekanizmasında başka faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir. Vagotomi ve duysal liflerin denervasyonu apelinin mukozal kan akımını ve CGRP, PGE₂ ve NO miktarlarını arttırıcı etkilerinin yanı sıra, MPO aktivitesini ve LPO düzeyindeki azaltıcı etkilerini de baskılamıştır. Bu bulgular vagotomi ve kapsaisin gruplarında I/R hasarının apelinin etkisi ile azaldığını gösteren bulgularımızla paralel olup, apelinin I/R'ye bağlı mukozal hasarı azaltıcı etkisinde n. vagusun ve duysal liflerin bütünlüğünün önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda apelinin duysal lifler aracılığı ile vagovagal reflekslerin tetiklenmesini sağlayabileceği düşünülerek, duysal liflerde reseptörü olduğu bilinen ve dolayısıyla vagal reflekslerin aktivasyonunu sağlayarak iştahın baskılanması ya da pankreas salgısının arttırılması gibi çeşitli etkileri olan CCK'nın, apelinin koruyucu

mekanizmalarındaki yeri araştırılmıştır. Apelinin CCK salgısını arttırdığı ve CCK'nın, mide boşalımının inhibisyonu ve bikarbonat ve pankreas salgısının uyarılması gibi apelinin çeşitli etkilerine aracılık ettiği bilinmektedir (Kapica ve ark., 2012; Watez ve ark., 2013; Bulbul ve ark., 2017). Apelinin CCK salınımına etkisini göstermek amacıyla, plazmada CCK seviyesi ölçülmüştür. I/R grubunda kontrole göre anlamlı şekilde artmış olan CCK seviyesi, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulaması sonucunda daha yüksek tespit edilmiştir. CCK'nın ve reseptörlerinin inflamasyon durumunda değiştiği bilinmektedir. *H. Piloni* ile infekte olmuş farelerde ya da septik hastalarda CCK seviyesinin yükseldiği (Weiland ve ark., 2005; Nguyen ve ark., 2007; Bercik ve ark., 2009), aynı zamanda hepatik I/R hasarında karaciğer ve plazma örneklerinde CCK'nın ve karaciğer dokusunda CCK reseptörünün ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2017). Vagusun CCK salgısının bir düzenleyicisi olduğu bilinmekle birlikte, vagotomi sonucunda CCK seviyesinin nasıl değiştiği konusunda çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Köpeklerde trunkal vagotominin (Singer ve ark., 1989) ve sıçanlarda vagal stimülasyonun, vagotominin veya kapsaisin ile denervasyonun CCK salınımında etkili olmadığı (Lewis ve Williams, 1990) gözlenirken; insanda ve domuzda vagotominin CCK salgısını arttırdığı bildirilmiştir (Hopman ve ark., 1984; Ripken ve ark., 2015). I/R'den önce uygulanan apelin ise literatür ile uyumlu olarak (Flemstrom ve ark., 2011; Watez ve ark., 2013) CCK'yı I/R grubuna göre daha çok arttırmıştır. Bu bulgular, apelinin CCK'ya bağlı olarak duysal liflerin aktivasyonuna neden olarak hem bu sinirlerin ucundan aracılardan salgılanmasını, hem de vagal refleks mekanizmaları ile mediyatörlerin salınımını uyarabileceği fikrini güçlendirmektedir. Apelin ile artan CCK seviyesi vagotomi ya da lorglumide ile değişmemiş, kapsaisin ile daha da artmıştır. Bu sonuçlar apelinin CCK düzeyini arttıran etkisinin vagus, duysal lifler ve CCK'dan bağımsız olduğunu göstermektedir.

I/R hasarının patofizyolojisi oldukça kompleks mekanizmaları içermekle birlikte, başlıca inflamatuvar cevap ile ilişkilidir. Özellikle reperfüzyon aşamasında nötrofillerin dokuya migrasyonu sonucu MPO aktivitesinin artışına bağlı olarak ROS'un üretimi ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı hasara neden olmaktadır (Pontes ve ark., 2016). Yüksek seviyedeki ROS, I/R hasarında rol oynayan başlıca etmenlerden biridir. I/R hasarında hücre içi ROS kaynağından epitel ve endotel hücreleri sorumluyken, hücre dışı

üretimden nötrofiller sorumludur (Kwiecien ve ark., 2014). I/R sırasında, hücrelerde ksantin oksidaz enzimi aracılığı ile yüksek miktarda süperoksit üretilerek nötrofillerin dokuya infiltrasyonu sağlanmaktadır. Oksijen radikalinin oluşumunu katalize eden NADPH oksidazı içeren nötrofiller ise, H_2O_2 'den hipokloröz asit üretimini sağlayan MPO enzimini de içermektedir. Bu nedenle, araştırmalarda nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçümü yaygın olarak kullanılmaktadır (Pulli ve ark., 2013). Çalışmamızda I/R grubunda sitokin artışı ile paralel olarak MPO aktivitesinde de artış gözlenmiştir. MPO aktivitesindeki bu artış vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile daha da fazlalaşmıştır. Literatürde TRPV1reseptörünün baskılanmasının, dolayısıyla CGRP salgısındaki azalışın, lokal inflamasyonu arttırdığı ve böylece sistemik inflamatuvar cevaba katkı sağladığı bildirilmiştir (Fernandes ve ark., 2012). Benzer şekilde vagotomi ile vago-vagal antiinflamatuvar refleks cevabının ortadan kalkması (Han ve ark., 2017) ya da CCKA reseptör antagonistinin kullanılması ile CCK'nın antiinflamatuvar cevap oluşturamaması sonucunda nötrofil infiltrasyonuna bağlı olarak gözlenen MPO aktivitesindeki artış beklenen bir sonuçtur (Bozkurt ve ark., 2003; Saia ve ark., 2014). Apelinin ise I/R'deki MPO aktivitesini baskıladığı gözlenmiş olup, bu etkisinin n. vagus veya kapsaisine duyarlı duysal nöronların ortadan kaldırılması ile baskılandığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar apelinin MPO aktivitesine etkisinde vagusun ve duysal liflerin rol alabileceğini, ancak CCK'nın rol almadığını göstermektedir.

I/R sırasında mide mukozal bariyerinin zayıflamasına bağlı olarak mide asitinin geri difüzyonu artmaktadır. Hem I/R sırasında salgılanan sitokinler hem de submukozaya ulaşan asit, vagal afferent duysal nöronların uyarılmasını sağlamaktadır (Schuligoi ve ark., 1998; Michl ve ark., 2001; Danzer ve ark., 2004). Uyarının NTS'ye taşınması ve DMN üzerindeki düzenleyici etkilerine bağlı olarak 'vagal antiinflamatuvar refleks yolu' mekanizması ile inflamatuvar yanıt baskılanmaktadır (Tracey, 2009; Han ve ark., 2017). Benzer şekilde duysal liflerin bütünlüğü de, inflamatuvar sürecin sınırlandırılması için gereklidir. Suya batırma ve hareketsizlik stresi veya I/R gibi inflamatuvar sürecin rol oynadığı durumlarda, CGRP'nin inflamatuvar hücrelerde NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe ederek TNF- α salgısını baskıladığı, hem de asit salgısını inhibe ederek asitin geri difüzyonunu azalttığı bilinmektedir (Harada ve ark., 2003; Lei ve ark., 2016; Duan ve ark., 2017). Dolayısıyla EPAN'ların denervasyonu, inflamasyonun uzamasına neden

olmaktadır (Magierowski ve ark., 2018a). Ayrıca, CCK miktarının ve reseptör ekspresyonunun inflamatuvar koşullarda arttığı, immün hücrelerde kemotaksis ve fagositik özelliklerini baskılayarak antiinflamatuvar özellik gösterdiği bilinmektedir (Bozkurt ve ark., 2003; Saia ve ark., 2014). Sonuçlarımıza göre I/R'den önce apelin uygulamasının TNF- α salgısını baskıladığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, apelinin NF- κ B'nin baskılanmasını sağlayarak veya makrofajlar üzerindeki reseptörü aracılığıyla sitokin salınımını azaltarak inflamasyonu azaltıcı etki gösterebileceği belirtilmiştir (Han ve ark., 2013; Xin ve ark., 2015; Izgut-Uysal ve ark., 2017). Çalışmamızda, apelinin TNF- α 'yı azaltıcı etkisinin vagotomi, duysal liflerin denervasyonu veya lorglumide ile değişmemiş olması, apeline ait bu etkinin n. vagus, kapsaisine duyarlı duysal lifler veya CCK aracılığıyla olmadığını göstermektedir.

Lipid peroksidasyonunun miktarı, oksidatif stresin en önemli göstergesi olup, I/R sırasında oluşan hasarın en önemli nedenidir. Çalışmamızda da I/R grubunda LPO miktarının kontrole göre arttığı (Guo ve ark., 2014) ve vagotomi veya kapsaisin uygulamaları ile bu artışın daha fazla olduğu, lorglumide ile değişmediği gözlenmiştir. (Brzozowski ve ark., 2001b; Szlachcic ve ark., 2013). Apelinin ise, I/R'nin neden olduğu LPO'daki artışı baskıladığı gösterilmiş olup, bulgumuz önceki çalışmalarımızı ve literatürdeki diğer bilgileri destekler niteliktedir. Grubumuz tarafından apelinin stres-aracılı LPO'yu kendi reseptörü aracılığıyla baskıladığı APJ reseptör antagonisti kullanılarak gösterilmiştir (Izgut-Uysal ve ark., 2014; Birsen ve ark., 2017). Ayrıca apelinin çeşitli dokularda antioksidan enzimlerin sentezini artırarak oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir (Nishida ve ark., 2012; Pisarenko ve ark., 2014). Çalışmamızın devamında vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile apelinin LPO'yu azaltıcı etkisinin ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Bu da, apelinin LPO'yu baskılayıcı etkisinde vagus sinirinin, duysal nöronların ve CCK'nın rol aldığını göstermektedir. Bu bulgular ışığında, apelinin, I/R'ye bağlı LPO'yu azaltıcı etkisinde n. vagus ve duysal liflerin aracılık ettiği, aynı zamanda apelinin CCK salgısını arttırdığı, CCK'nın da duysal liflerin aktivasyonu aracılığıyla vagal efferent çıkışların düzenlenmesini sağlayarak, dokuda oksidan stresi azaltabileceği düşünülebilir.

Apelinin mide mukozasını koruyucu etkisinde yer aldığını düşündüğümüz duysal lifleri ve vago-vagal refleksleri incelemek amacıyla, vagal afferent nöronların SSS'deki giriş yeri olan NTS'de ve vagal efferentlerin çıkış yeri olan DMN'de cfos proteininin ekspresyonu immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında I/R grubunda hem NTS'de hem de DMN'de cfos ekspresyonunun arttığı, ancak vagotomi ya da kapsaisin ile bu artışın kontrol seviyesine gerilediği ve lorglumide ile değişmediği gözlenmiştir. I/R sırasında mide mukozal bariyerinin zayıflamasına bağlı olarak mide asitinin geri difüzyonunun arttığı ve böylece submukozada bulunan duysal sinir uçlarının uyarıldığı bilinmektedir (Michl ve ark., 2001; Danzer ve ark., 2004). Vagal afferentler ile alınan bilginin NTS'ye taşındığı hem nodoz gangliyonda hem de NTS'deki artan cfos ekspresyonu ile gösterilmiştir (Wu ve ark., 2005). Bu, vago-vagal reflekslerin tetiklenmesini sağlayarak mukozanın korunması ile ilgili mekanizmaların aktive edilmesi için gerekli bir telafi edici mekanizmadır (Oksana Sulaieva, 2014). Bu bilgi doğrultusunda, %90'ı vagal afferentlerden oluşan vagusun vagotomi ile ortadan kaldırılması ya da %40-70'i arasında TRPV1 reseptörü içeren vagal afferentlerin kapsaisin ile denerve edilmesi ile gözlenen NTS ve DMN'deki cfos ekspresyonundaki azalış beklenen bir sonuçtur (Grundy, 2002; Patterson ve ark., 2003). I/R'den önce uygulanan apelin ise I/R'nin neden olduğu cfos boyanma yoğunluğundaki artışı daha da arttırmış, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide uygulaması ise artışı önlemiştir. Bu konuda yapılmış çalışmalarda, periferik uygulanan apelinin, CCK aracılığıyla kapsaisine duyarlı duysal nöronları aktive ederek GI motor fonksiyonları baskıladığı gösterilmiştir (Bulbul ve ark., 2017). Aynı şekilde ekzojen apelinin pankreas salgısını uyardığı ve bu uyarıcı etkinin tarazepide (CCK1 reseptör antagonisti), kapsaisin ya da vagotomi ile ortadan kalktığı gösterilmiştir (Kapica ve ark., 2012). Ayrıca, CCK'nın da kapsaisine duyarlı vagal afferent lifler aracılığıyla, NTS'de ve AP'da cfos ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir (Monnikes ve ark., 1997; van de Wall ve ark., 2005). Bu sonuçlar apelinin n. vagus ve duysal lifler aracılığı ile NTS ve DMN üzerinden etki edebileceğini göstermektedir. Bulgularımıza göre, vagotomi veya kapsaisin uygulanmış I/R grupları ile, apelin uygulanmış gruplar arasında fark bulunması, apelinin NTS ve DMN'de cfos ekspresyonunda ilave arttırıcı etkisinin

sadece vagus siniri ve kapsaisine duyarlı duysal lifler aracılığıyla olmadığını düşündürmektedir.

Midede akut mukozal hasara bağlı olarak H^+ veya sitokinler gibi etmenler ile uyarılan EPAN'ların uçlarından CGRP, Substans P ve somatostatin gibi çeşitli vazodilatör mediyatörler salgılanarak mukozal kan akımının artırılması söz konusudur (Abdel-Salam ve ark., 1999; Abdel-Salam ve ark., 2001). Çalışmamızda I/R grubunda her ne kadar NTS'de gösterilen cfos proteininin ekspresyonundaki artış ile EPAN'ların uyarıldığı kanıtlanmış olsa da CGRP miktarındaki azalma dikkat çekicidir. Prostaglandin ve eNOS aracılı NO üretimi ile birlikte mukozal kan akımını artırıp, lökositleri ve sitokin ifadesini baskılayarak koruyucu etki gösterdiği bilinen CGRP'nin miktarındaki azalma, aslında I/R grubunda saptanan bariyer komponentlerindeki değişiklikler ile uyumludur (Feng ve ark., 2011). Bu konuda yapılmış olan bir çalışmada renal CGRP seviyesinin reperfüzyondan 1 saat sonra arttığı, 3 saat sonra ise iskemi öncesi seviyeye geri döndüğü tespit edilmiştir (Mizutani ve ark., 2009). Başka bir çalışmada ise bizim çalışmamızda da olduğu gibi 3,5 saat yapılan I/R'den sonra mide mukozasında CGRP mRNA'sının azaldığı gözlenmiştir (Konturek ve ark., 2006). Çalışmamızda, I/R grubundaki CGRP miktarındaki bu düşüşün vagotomi ya da yüksek doz kapsaisin ile daha belirginleştiği, lorglumide ile cfos'ta da gözlendiği şekilde değişmediği bulunmuştur. I/R'den önce uygulanan apelin ise CGRP salgısını anlamlı şekilde arttırmış ancak vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile bu etki baskılanmıştır. Bulgularımız, apelinin mideyi koruyucu etkilerinde duysal lifler, n. vagus ve CCK aracılı CGRP salgısının önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca vagotomi uygulanan I/R grubu ile apelin verilmiş vagotomili I/R grubu karşılaştırıldığında, apelinin CGRP miktarını vagus olmasa da bir miktar arttırdığı görülmüştür. CGRP, EPAN'lardan spinal duysal sinir liflerinin ucundan da salgılanmaktadır ve bunların %65-95'i kapsaisin reseptörünü eksprese etmektedir (Tan ve ark., 2008; Cavanaugh ve ark., 2011). Dolayısıyla apelin, kapsaisin reseptörü olmayan spinal sinir liflerine etki ederek de CGRP salgısını uyarıyor olabilir. Ancak, apelin ile spinal sinir lifleri arasındaki ilişkiye dair herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Mukus-bikarbonat salgısını arttıran ve NO üretimi aracılığı ile mukozal kan akımını güçlendiren PG'ler mukozal bariyerin önemli bir bileşenidir (Takeuchi, 2014). Çalışmamızda I/R grubunda literatür ile uyumlu olarak PGE₂ miktarının azaldığı ve bu azalışın vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile daha belirginleştiği gözlenmiştir (Mercer ve ark., 1998; Brzozowski ve ark., 2006; Gemici ve ark., 2010). Apelin I/R'ye bağlı olarak PGE₂ miktarının azalmasını engellemiş, ancak aynı şekilde bu etki vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile ortadan kalkmıştır. Elde ettiğimiz bulgular, grelin, oreksin-A gibi pek çok peptitte olduğu gibi, apelinin de PG salgısını arttırıcı etkisinde n.vagus, duysal nöronların ve CCK'nın aracılık ettiğini göstermektedir.

NOS aracılığıyla çeşitli hücrelerden salgılanan NO, GIS'de farklı mekanizmalara aracılık etmektedir. Normal koşullarda oldukça düşük düzeyde üretilen NO, kan akımının düzenlenmesi, bağışıklık sistemindeki hücrelerin adezyon özelliklerinin baskılanması ve bariyer fonksiyonunun güçlenmesi gibi etkilere sahiptir. İnflamasyon durumlarında aktive olan iNOS'un etkisiyle çok yüksek oranda üretilen NO ise oksidan strese, hücre toksisitesine, immün hücre aktivasyonuna ve LPO'na neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda da, I/R grubunda literatürle uyumlu olarak NO miktarında artış gözlenmiştir. Vagotomi veya kapsaisin uygulanan I/R gruplarında ise NO miktarının daha da arttığı bulunmuş olup, bu artışın iNOS aktivitesindeki artışa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda, vagal stimülasyonun eNOS'un aktivitesini arttırırken, NF-κB'nin hedef genlerinden olan iNOS'u baskıladığı gösterilmiştir (Sabbah, 2011; Sun ve ark., 2013). Duysal liflerin uçlarından salgılanan CGRP ise, nNOS ve eNOS aracılığıyla NO salgısını arttırmaktadır (Torres-Narvaez ve ark., 2012; Raimura ve ark., 2013). Vagotominin etkisine benzer şekilde, bu liflerin denervasyonu, iNOS'un mRNA ekspresyonunun artışına sebep olmaktadır (Magierowski ve ark., 2018a). CCK'nın eNOS aracılığı ile NO artışına neden olduğu bilinmektedir ve I/R'ye bağlı NO artışını lorglumide tarafından baskılandığı saptanmıştır. Bulgularımıza göre apelinin NO üretimini I/R grubuna göre daha fazla arttırdığı bulunmuştur. Apelinin eNOS ekspresyonunu ve NO üretimini arttırarak vazodilatasyona katkı sağladığı rapor edilmiştir. Ancak vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide'nin etkisi ile apelinin NO üzerindeki uyarıcı etkisi baskılanmıştır.

Mide bağırsak sisteminde hasara bağlı olarak afferent duysal liflerin aktivasyonu sonucunda bölgesel ve vago-vagal reflekslerin tetiklenmesi ile lüminal asit ve pepsine karşı epitel tabakasının korunmasında oldukça önemli olan mukus sekresyonunun artması, bir adaptasyon mekanizmasıdır ve en önemli düzenleyicisi n. vagus'tur (Miyake ve ark., 2006). Çalışmamızda da NTS ve DMN'de cfos protein ekspresyonu ile doğrulanan vago-vagal reflekslerin aktivasyonu sonucunda I/R grubunda mukus salgısının arttığı gözlenmiş ve mukus sekresyonundaki I/R'ye bağlı artış, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile ortadan kalkmıştır. CCK ve CGRP'nin asit salgısını baskılayıp, mukus salgısını uyardığı bilinmektedir (Lloyd ve ark., 1992; Tani ve ark., 2002). I/R öncesinde apelin uygulaması ise mukus miktarındaki artışı önlemiştir. Apelinin mukus salgısını azaltıcı etkisi, vagotomi, kapsaisin ya da lorglumide ile değişmemiştir. APJ reseptörünün goblet hücrelerindeki varlığı bilinmesine karşın (Flemstrom ve ark., 2011; Ohno ve ark., 2012), mukus sekresyonu üzerindeki etkisi henüz açıklığa kavuşturulamamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1) İnflamasyon, hipoksi ve oksidan strese bağı olarak üretiminin arttığı bilinen ve çeşitli dokularda koruyucu etkileri gösterilmiş olan apelinin, I/R hasarına karşı mideyi koruduğı gösterilmiştir.
- 2) Apelinin, bir yandan I/R'nin zararlı etkilerini azaltırken, bir yandan da midenin mukozal bariyer bileşenlerini güçlendirerek koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır.
- 3) Apelinin, I/R hasarına karşı mideyi koruyucu etkisinde vagus siniri ve kapsaisine-duyarlı duysal liflerin rol oynadığı ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir.
- 4) I/R uygulanan midede, apelin etkisi ile duysal liflerin aktive olduğu ve duysal liflerin aktivasyonuna CCK'nın aracılık ettiği saptanmıştır.
- 5) I/R hasarına karşı, apelinin mukozal bariyer bileşenleri üzerinden mideyi koruyucu etkisinde CCK'nın rolü gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

Abdel-Salam OME, Debreceni A, Mozsik G, Szolcsanyi J. Capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in modulating gastric mucosal defense against noxious agents. *J Physiol-Paris*. 1999; 93: 443-454.

Abdel-Salam OME, Czimmer J, Debreceni A, Szolcsanyi J, Mozsik G. Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. *J Physiol-Paris*. 2001; 95: 105-127.

AbdelSalam OME, Szolcsanyi J, Porszasz R, Mozsik G. Effect of capsaicin and resiniferatoxin on gastrointestinal blood flow in rats. *Eur J Pharmacol*. 1996; 305: 127-136.

Ahluwalia A, Jones MK, Brzozowski T, Tarnawski AS. Nerve growth factor is critical requirement for in vitro angiogenesis in gastric endothelial cells. *Am J Physiol-Gastr L*. 2016; 311: G981-G987.

Aihara E, Engevik KA, Montrose MH. Trefoil Factor Peptides and Gastrointestinal Function. *Annu Rev Physiol*. 2017; 79: 357-380.

Akiba Y, Furukawa O, Guth PH, Engel E, Nastaskin I, Kaunitz JD. Sensory pathways and cyclooxygenase regulate mucus gel thickness in rat duodenum. *Am J Physiol-Gastr L*. 2001; 280: G470-474.

Allen A, Flemstrom G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am J Physiol-Cell Ph*. 2005; 288: C1-C19.

Andresen MC, Kunze DL. Nucleus-Tractus-Solitarius - Gateway to Neural Circulatory Control. *Annu Rev Physiol*. 1994; 56: 93-116.

Antushevich H, Kapica M, Krawczynska A, Herman A, Kato I, Kuwahara A, Zabielski R. The Role of Apelin in the Modulation of Gastric and Pancreatic Enzymes Activity in Adult Rats. *J Physiol Pharmacol*. 2016; 67: 403-409.

Antushevich H, Pawlina B, Kapica M, Krawczynska A, Herman AP, Kuwahara A, Kato I, Zabielski R. Influence of fundectomy and intraperitoneal or intragastric administration of apelin

on apoptosis, mitosis, and DNA repair enzyme OGG1,2 expression in adult rats gastrointestinal tract and pancreas. *J Physiol Pharmacol.* 2013; 64: 423-428.

Armstrong RA. Investigation of the inhibitory effects of PGE2 and selective EP agonists on chemotaxis of human neutrophils. *Br J Pharmacol.* 1995; 116: 2903-2908.

Atluri P, Morine KJ, Liao GP, Panlilio CM, Berry MF, Hsu VM, Hiesinger W, Cohen JE, Joseph Woo Y. Ischemic heart failure enhances endogenous myocardial apelin and APJ receptor expression. *Cell Mol Biol Lett.* 2007; 12: 127-138.

Attane C, Foussal C, Le Gonidec S, Benani A, Daviaud D, Wanecq E, Guzman-Ruiz R, Dray C, Bezaire V, Rancoule C, Kuba K, Ruiz-Gayo M, Levade T, Penninger J, Burcelin R, Penicaud L, Valet P, Castan-Laurell I. Apelin treatment increases complete Fatty Acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice. *Diabetes.* 2012; 61: 310-320.

Atuma C, Strugala V, Allen A, Holm L. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol-Gastr L.* 2001; 280: G922-G929.

Azizi Y, Faghihi M, Imani A, Roghani M, Nazari A. Post-infarct treatment with [Pyr1]-apelin-13 reduces myocardial damage through reduction of oxidative injury and nitric oxide enhancement in the rat model of myocardial infarction. *Peptides.* 2013; 46: 76-82.

Azizi Y, Imani A, Fanaei H, Khamse S, Parvizi MR, Faghihi M. Post-infarct treatment with [Pyr(1)] apelin-13 exerts anti-remodelling and anti-apoptotic effects in rats' hearts. *Kardiol Pol.* 2017; 75: 605-612.

Barry MC, Kelly C, Burke P, Sheehan S, Redmond HP, Bouchier-Hayes D. Immunological and physiological responses to aortic surgery: effect of reperfusion on neutrophil and monocyte activation and pulmonary function. *Br J Surg.* 1997; 84: 513-519.

Bartho L, Lenard L, Jr., Lazar Z, Maggi CA. Connections between P2 purinoceptors and capsaicin-sensitive afferents in the intestine and other tissues. *Eur J Pharmacol.* 1999; 375: 203-210.

Bauer B, Wex T, Kuester D, Meyer T, Malfertheiner P. Differential expression of human beta defensin 2 and 3 in gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected individuals. *Helicobacter*. 2013; 18: 6-12.

Beglinger C. Effect of cholecystokinin on gastric motility in humans. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 713: 219-225.

Bell D, McDermott BJ. Calcitonin gene-related peptide in the cardiovascular system: Characterization of receptor populations and their (patho)physiological significance. *Pharmacol Rev*. 1996; 48: 253-288.

Bercik P, Verdu EF, Foster JA, Lu J, Scharringa A, Kean I, Wang L, Blennerhassett P, Collins SM. Role of gut-brain axis in persistent abnormal feeding behavior in mice following eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009; 296: R587-594.

Berthoud HR, Neuhuber WL. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci*. 2000; 85: 1-17.

Bielefeldt K, Ozaki N, Gebhart GF. Experimental ulcers alter voltage-sensitive sodium currents in rat gastric sensory neurons. *Gastroenterology*. 2002; 122: 394-405.

Birsen I, Gemici B, Acar N, Ustunel I, Izgut-Uysal VN. The role of apelin in the healing of water-immersion and restraint stress-induced gastric damage. *J Physiol Sci*. 2017; 67: 373-385.

Boal F, Roumegoux J, Alfarano C, Timotin A, Calise D, Anesia R, Drougard A, Knauf C, Lagente C, Roncalli J, Desmoulin F, Tronchere H, Valet P, Parini A, Kunduzova O. Apelin regulates FoxO3 translocation to mediate cardioprotective responses to myocardial injury and obesity. *Sci Rep*. 2015; 5: 16104.

Boltin D, Niv Y. Pharmacological and alimentary alteration of the gastric barrier. Best practice & research. *J Clin Gastroenterol*. 2014; 28: 981-994.

Bonfanti R, Furie BC, Furie B, Wagner DD. Padgem (Gmp140) Is a Component of Weibel-Palade Bodies of Human-Endothelial Cells. *Blood*. 1989; 73: 1109-1112.

Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigne C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpenne C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*. 2005; 146: 1764-1771.

Bozkurt A, Cakir B, Ercan F, Yegen BC. Anti-inflammatory effects of leptin and cholecystokinin on acetic acid-induced colitis in rats: role of capsaicin-sensitive vagal afferent fibers. *Regul Pept*. 2003; 116: 109-118.

Brailoiu GC, Dun SL, Yang J, Ohsawa M, Chang JK, Dun NJ. Apelin-immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neurosci Lett*. 2002; 327: 193-197.

Brain SD, Grant AD. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev*. 2004; 84: 903-934.

Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, Macintyre I. Calcitonin Gene-Related Peptide Is a Potent Vasodilator. *Nature*. 1985; 313: 54-56.

Browning KN, Travagli RA. Plasticity of vagal brainstem circuits in the control of gastric function. *Neurogastroent Motil*. 2010; 22: 1154-1163.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *J Physiol Pharmacol*. 2005; 56 Suppl 5: 33-55.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pajdo R, Duda A, Pierzchalski P, Bielanski W, Hahn EG. Leptin in gastroprotection induced by cholecystokinin or by a meal. Role of vagal and sensory nerves and nitric oxide. *Eur J Pharmacol*. 1999a; 374: 263-276.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Stachura J, Pajdo R, Hahn EG. Role of prostaglandins generated by cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in healing of ischemia-reperfusion-induced gastric lesions. *Eur J Pharmacol*. 1999b; 385: 47-61.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pierzchalski P, Bielanski W, Pajdo R, Drozdowicz D, Kwiecien S, Hahn EG. Central leptin and cholecystokinin in gastroprotection against ethanol-induced damage. *Digestion*. 2000; 62: 126-142.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Schuppan D, Drozdowicz D, Kwiecien S, Majka J, Nakamura T, Hahn E. Effect of local application of growth factors on gastric ulcer healing and mucosal expression of cyclooxygenase-1 and -2. *Digestion*. 2001a; 64: 15-29.

Brzozowski T, Konturek PC, Sliwowski Z, Pajdo R, Drozdowicz D, Kwiecien S, Burnat G, Konturek SJ, Pawlik WW. Prostaglandin/cyclooxygenase pathway in ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006; 319: 477-487.

Brzozowski T, Konturek PC, Pajdo R, Kwiecien S, Ptak A, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Pawlik M, Konturek SJ, Hahn EG. Brain-gut axis in gastroprotection by leptin and cholecystokinin against ischemia-reperfusion induced gastric lesions. *J Physiol Pharmacol.* 2001b; 52: 583-602.

Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology.* 1997; 112: 1714-1743.

Bulbul M, Sinen O, Birsen I, Nimet Izgut-Uysal V. Peripheral apelin-13 administration inhibits gastrointestinal motor functions in rats: The role of cholecystokinin through CCK1 receptor-mediated pathway. *Neuropeptides.* 2017; 63: 91-97.

Bulbul M, Sinen O, Gok M, Travagli RA. Apelin-13 inhibits gastric motility through vagal cholinergic pathway in rats. *Am J Physiol-Gastr L.* 2018; 314: G201-G210.

Bulbul M, Tan R, Gemici B, Ongut G, Izgut-Uysal VN. Effect of orexin-a on ischemia-reperfusion-induced gastric damage in rats. *J Gastroenterol.* 2008; 43: 202-207.

Carden D, Xiao F, Moak C, Willis BH, Robinson-Jackson S, Alexander S. Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. *Am J Physiol.* 1998; 275: H385-392.

Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000; 190: 255-266.

Carroll MC, Holers VM. Innate autoimmunity. *Adv Immunol.* 2005; 86: 137-157.

Castagliuolo I, Keates AC, Wang CC, Pasha A, Valenick L, Kelly CP, Nikulasson ST, LaMont JT, Pothoulakis C. Clostridium difficile toxin A stimulates macrophage-inflammatory protein-2 production in rat intestinal epithelial cells. *J Immunol.* 1998; 160: 6039-6045.

Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Kunduzova O, Valet P. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? *Trends Endocrinol Metab.* 2012; 23: 234-241.

Castro GA, Arntzen CJ. Immunophysiology of the gut: a research frontier for integrative studies of the common mucosal immune system. *Am J Physiol.* 1993; 265: G599-610.

Cavanaugh DJ, Chesler AT, Braz JM, Shah NM, Julius D, Basbaum AI. Restriction of Transient Receptor Potential Vanilloid-1 to the Peptidergic Subset of Primary Afferent Neurons Follows Its Developmental Downregulation in Nonpeptidergic Neurons. *J Neurosci.* 2011; 31: 10119-10127.

Chang M, Xue J, Sharma V, Habtezion A. Protective role of hemeoxygenase-1 in gastrointestinal diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2015; 72: 1161-1173.

Chaves-Almagro C, Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Valet P, Masri B. Apelin receptors: From signaling to antidiabetic strategy. *Eur J Pharmacol.* 2015; 763: 149-159.

Chavez-Cartaya RE, DeSola GP, Wright L, Jamieson NV, White DJ. Regulation of the complement cascade by soluble complement receptor type 1. Protective effect in experimental liver ischemia and reperfusion. *Transplantation.* 1995; 59: 1047-1052.

Chen H, Zheng C, Zhang X, Li J, Zheng L, Huang K. Apelin alleviates diabetes-associated endoplasmic reticulum stress in the pancreas of Akita mice. *Peptides.* 2011; 32: 1634-1639.

Chen X, Oshima T, Shan J, Fukui H, Watari J, Miwa H. Bile salts disrupt human esophageal squamous epithelial barrier function by modulating tight junction proteins. *Am J Physiol-Gastr L.* 2012; 303: G199-G208.

Cheng B, Chen J, Bai B, Xin Q. Neuroprotection of apelin and its signaling pathway. *Peptides.* 2012; 37: 171-173.

Cheng X, Cheng XS, Pang CC. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur J Pharmacol.* 2003; 470: 171-175.

Chiang N, Serhan CN, Dahlen SE, Drazen JM, Hay DW, Rovati GE, Shimizu T, Yokomizo T, Brink C. The lipoxin receptor ALX: potent ligand-specific and stereoselective actions in vivo. *Pharmacol Rev.* 2006; 58: 463-487.

Chiou SK, Mandayam S. NSAIDs enhance proteasomic degradation of survivin, a mechanism of gastric epithelial cell injury and apoptosis. *Biochem Pharmacol.* 2007; 74: 1485-1495.

Chiou SK, Tanigawa T, Akahoshi T, Abdelkarim B, Jones MK, Tarnawski AS. Survivin: a novel target for indomethacin-induced gastric injury. *Gastroenterology*. 2005; 128: 63-73.

Chong KS, Gardner RS, Morton JJ, Ashley EA, McDonagh TA. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2006; 8: 355-360.

Chun HJ, Ali ZA, Kojima Y, Kundu RK, Sheikh AY, Agrawal R, Zheng L, Leeper NJ, Pearl NE, Patterson AJ, Anderson JP, Tsao PS, Lenardo MJ, Ashley EA, Quertermous T. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2008; 118: 3343-3354.

Coimbra CR, Plourde V. Abdominal surgery-induced inhibition of gastric emptying is mediated in part by interleukin-1 beta. *Am J Physiol-Reg I*. 1996; 270: R556-R560.

Collard CD, Gelman S. Pathophysiology clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001; 94: 1133-1138.

Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, Burdick MD, Kunkel RG, Wilke CA, Strieter RM. Chemokine expression during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in the rat. The role of epithelial neutrophil activating protein. *J Clin Invest*. 1995; 95: 134-141.

Corne SJ, Morrissey SM, Woods RJ. Proceedings: A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J Physiol*. 1974; 242: 116P-117P.

Costa NRD, Silva RO, Nicolau LAD, Lucetti LT, Santana APM, Aragao KS, Soares PMG, Ribeiro RA, Souza MHL, Barbosa ALR, Medeiros JVR. Role of soluble guanylate cyclase activation in the gastroprotective effect of the HO-1/CO pathway against alendronate-induced gastric damage in rats. *Eur J Pharmacol*. 2013; 700: 51-59.

Cox CM, D'Agostino SL, Miller MK, Heimark RL, Krieg PA. Apelin, the ligand for the endothelial G-protein-coupled receptor, APJ, is a potent angiogenic factor required for normal vascular development of the frog embryo. *Dev Biol*. 2006; 296: 177-189.

Cross JM, Chang L, Mercer DW. Effects of cholecystokinin on gastric injury and gastric mucosal blood flow. *J Gastrointest Surg*. 1998; 2: 198-206.

Cross JM, Mercer DW, Gunter J, Miller TA. Effects of dopamine and alpha-2 adrenoreceptor blockade on L-dopa and cholecystokinin-induced gastroprotection. *J Gastrointest Surg.* 1997; 1: 257-265.

Czekaj R, Majka J, Ptak-Belowska A, Szlachcic A, Targosz A, Magierowska K, Strzalka M, Magierowski M, Brzozowski T. Role of curcumin in protection of gastric mucosa against stress-induced gastric mucosal damage. Involvement of hypoacidity, vasoactive mediators and sensory neuropeptides. *J Physiol Pharmacol.* 2016; 67: 261-275.

D'Aniello C, Lonardo E, Iaconis S, Guardiola O, Liguoro AM, Liguori GL, Autiero M, Carmeliet P, Minchiotti G. G Protein-Coupled Receptor APJ and Its Ligand Apelin Act Downstream of Cripto to Specify Embryonic Stem Cells Toward the Cardiac Lineage Through Extracellular Signal-Regulated Kinase/p70S6 Kinase Signaling Pathway. *Circ Res.* 2009; 105: 231-U265.

Dai L, Smith PM, Kuksis M, Ferguson AV. Apelin acts in the subfornical organ to influence neuronal excitability and cardiovascular function. *J Physiol.* 2013; 591: 3421-3432.

Dai T, Ramirez-Correa G, Gao WD. Apelin increases contractility in failing cardiac muscle. *Eur J Pharmacol.* 2006; 553: 222-228.

Dajani EZ, Shahwan TG, Dajani NE. Prostaglandins and brain-gut axis. *J Physiol Pharmacol.* 2003; 54 Suppl 4: 155-164.

Danzer M, Jovic M, Samberger C, Painsipp E, Bock E, Pabst MA, Crailsheim K, Schicho R, Lippe IT, Holzer P. Stomach-brain communication by vagal afferents in response to luminal acid backdiffusion, gastrin, and gastric acid secretion. *Am J Physiol-Gastr L.* 2004; 286: G403-G411.

De Mota N, Goazigo ARL, El Messari S, Chartrel N, Roesch D, Dujardin C, Kordon C, Vaudry H, Moos FO, Llorens-Cortes C. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *P Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 10464-10469.

Deng C, Chen HD, Yang N, Feng Y, Hsueh AJW. Apelin Regulates Fluid Homeostasis by Binding to the APJ Receptor to Activate Gi Signaling. *J Biol Chem.* 2015; 290: 18261-18268.

Duan JX, Zhou Y, Zhou AY, Guan XX, Liu T, Yang HH, Xie H, Chen P. Calcitonin gene-related peptide exerts anti-inflammatory property through regulating murine macrophages polarization in vitro. *Mol Immunol*. 2017; 91: 105-113.

El Eter E, Al Tuwaijiri A, Hagar H, Arafa M. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 1791-1799.

Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991; 11: 81-128.

Evangelista S, Maggi CA. Protection Induced by Cholecystokinin-8 (Cck-8) in Ethanol-Induced Gastric-Lesions Is Mediated Via Vagal Capsaicin-Sensitive Fibers and Cck_A Receptors. *Brit J Pharmacol*. 1991; 102: 119-122.

Facio FN, Jr., Sena AA, Araujo LP, Mendes GE, Castro I, Luz MA, Yu L, Oliani SM, Burdmann EA. Annexin 1 mimetic peptide protects against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Mol Med (Berl)*. 2011; 89: 51-63.

Farkasfalvi K, Stagg MA, Coppen SR, Siedlecka U, Lee J, Soppa GK, Marczin N, Szokodi I, Yacoub MH, Terracciano CMN. Direct effects of apelin on cardiomyocyte contractility and electrophysiology. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 357: 889-895.

Feng GY, Wang QA, Xu XB, Liu Z, Li ZZ, Liu GX. The protective effects of calcitonin gene-related peptide on gastric mucosa injury of gastric ischemia reperfusion in rats. *Immunopharm Immunot*. 2011; 33: 84-89.

Fernandes ES, Liang L, Smillie SJ, Kaiser F, Purcell R, Rivett DW, Alam S, Howat S, Collins H, Thompson SJ, Keeble JE, Rizzo-Vasquez Y, Bruce KD, Brain SD. TRPV1 deletion enhances local inflammation and accelerates the onset of systemic inflammatory response syndrome. *J Immunol*. 2012; 188: 5741-5751.

Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, Rizzo G, Mencarelli A, Orlandi S, Zanardo R, Renga B, Di Sante M, Morelli A, Cirino G, Wallace JL. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*. 2005; 129: 1210-1224.

Flahault A, Couvineau P, Alvear-Perez R, Iturrioz X, Llorens-Cortes C. Role of the vasopressin/Apelin Balance and Potential Use of Metabolically Stable Apelin Analogs in water Metabolism Disorders. *Front Endocrinol*. 2017; 8: 1-14.

Flemstrom G, Makela K, Purhonen AK, Sjoblom M, Jedstedt G, Walkowiak J, Herzig KH. Apelin stimulation of duodenal bicarbonate secretion: feeding-dependent and mediated via apelin-induced release of enteric cholecystokinin. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011; 201: 141-150.

Fournel A, Drougard A, Duparc T, Marlin A, Brierley SM, Castro J, Le-Gonidec S, Masri B, Colom A, Lucas A, Rousset P, Cenac N, Vergnolle N, Valet P, Cani PD, Knauf C. Apelin targets gut contraction to control glucose metabolism via the brain. *Gut*. 2017; 66: 258-269.

Fu LW, Longhurst JC. Interleukin-1beta sensitizes abdominal visceral afferents of cats to ischaemia and histamine. *J Physiol*. 1999; 521 Pt 1: 249-260.

Furness JB, Costa M. Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience*. 1980; 5: 1-20.

Furness JB, Clerc N. Responses of afferent neurons to the contents of the digestive tract, and their relation to endocrine and immune responses. *Prog Brain Res*. 2000; 122: 159-172.

Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, Cho HJ. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Adv Exp Med Biol*. 2014; 817: 39-71.

Gavins FN, Yona S, Kamal AM, Flower RJ, Perretti M. Leukocyte antiadhesive actions of annexin 1: ALXR- and FPR-related anti-inflammatory mechanisms. *Blood*. 2003; 101: 4140-4147.

Gebhart GF. Pathobiology of visceral pain: molecular mechanisms and therapeutic implications IV. Visceral afferent contributions to the pathobiology of visceral pain. *Am J Physiol-Gastr L*. 2000; 278: G834-838.

Geiger K, Muendlein A, Stark N, Saely CH, Wabitsch M, Fraunberger P, Drexel H. Hypoxia induces apelin expression in human adipocytes. *Horm Metab Res*. 2011; 43: 380-385.

Gemici B, Tan R, Ongut G, Izgut-Uysal VN. Expressions of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric ischemia-reperfusion: role of angiotensin II. *J Surg Res*. 2010; 161: 126-133.

Gibbons SJ, Verhulst PJ, Bharucha A, Farrugia G. Review article: carbon monoxide in gastrointestinal physiology and its potential in therapeutics. *Aliment Pharm Ther.* 2013; 38: 689-702.

Gislason H, Rokke O, Svanes K. Release of cytokines associated with gastric mucosal injury. *Horm Metab Res.* 1996; 28: 278-286.

Goehler LE, Gaykema RPA, Hansen MK, Anderson K, Maier SF, Watkins LR. Vagal immune-to-brain communication: a visceral chemosensory pathway. *Auton Neurosci-Basic.* 2000; 85: 49-59.

Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol.* 1994; 55: 662-675.

Grisham MB, Zimmerman BJ, Granger DN. Role of Xanthine-Oxidase and Granulocytes in Ischemia Reperfusion Injury. *Nato Adv Sci I a-Lif.* 1990; 189: 81-88.

Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med.* 1998; 25: 404-433.

Grundy D. Neuroanatomy of visceral nociception: vagal and splanchnic afferent. *Gut.* 2002; 51 Suppl 1: i2-5.

Gunion MW, Kauffman GL, Jr., Tache Y. Intrahypothalamic corticotropin-releasing factor elevates gastric bicarbonate and inhibits stress ulcers in rats. *Am J Physiol.* 1990; 258: G152-157.

Guo C, Liang F, Shah Masood W, Yan X. Hydrogen sulfide protected gastric epithelial cell from ischemia/reperfusion injury by Keap1 s-sulfhydration, MAPK dependent anti-apoptosis and NF-kappaB dependent anti-inflammation pathway. *Eur J Pharmacol.* 2014; 725: 70-78.

Gyires K, Ronai AZ. Spinal delta- and mu-opioid receptors mediate gastric mucosal protection in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 297: 1010-1015.

Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, Kitada C, Nishizawa N, Murosaki S, Kurokawa T, Onda H, Tatemoto K, Fujino M. Apelin, the natural ligand of the

orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452: 25-35.

Han S, Wang GY, Qi X, Englander EW, Greeley GH. Involvement of a Stat3 binding site in inflammation-induced enteric apelin expression. *Am J Physiol-Gastr L*. 2008a; 295: G1068-G1078.

Han S, Wang G, Qi X, Lee HM, Englander EW, Greeley GH, Jr. A possible role for hypoxia-induced apelin expression in enteric cell proliferation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008b; 294: R1832-1839.

Han S, Wang G, Qiu S, de la Motte C, Wang HQ, Gomez G, Englander EW, Greeley GH, Jr. Increased colonic apelin production in rodents with experimental colitis and in humans with IBD. *Regul Pept*. 2007; 142: 131-137.

Han S, Englander EW, Gomez GA, Aronson JF, Rastellini C, Garofalo RP, Kolli D, Quertermous T, Kundu R, Greeley GH, Jr. Pancreatitis activates pancreatic apelin-APJ axis in mice. *Am J Physiol-Gastr L*. 2013; 305: G139-150.

Han T, Tang Y, Li J, Xue B, Gong L, Yu X, Liu C. Nitric oxide donor protects against acetic acid-induced gastric ulcer in rats via S-nitrosylation of TRPV1 on vagus nerve. *Sci Rep*. 2017; 7: 2063.

Harada N, Okajima K, Uchiba M, Katsuragi T. Contribution of capsaicin-sensitive sensory neurons to stress-induced increases in gastric tissue levels of prostaglandins in rats. *Am J Physiol-Gastr L*. 2003; 285: G1214-1224.

Hashimoto T, Kihara M, Imai N, Yoshida S, Shimoyamada H, Yasuzaki H, Ishida J, Toya Y, Kiuchi Y, Hirawa N, Tamura K, Yazawa T, Kitamura H, Fukamizu A, Umemura S. Requirement of apelin-apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis. *Am J Pathol*. 2007; 171: 1705-1712.

Hayes P et al. Cloning and functional expression of a human orthologue of rat vanilloid receptor-1. *Pain*. 2000; 88: 205-215.

Izler P. CCK-evoked hyperemia in rat gastric mucosa involves neural mechanisms and nitric oxide. *Am J Physiol*. 1996; 270: G253-258.

Heinonen I, Vuolteenaho O, Koskenvuo J, Arjamaa O, Nikinmaa M. Systemic Hypoxia Increases Circulating Concentration of Apelin in Humans. *High Alt Med Biol.* 2017; 18: 292-295.

Ho SB, Takamura K, Anway R, Shekels LL, Toribara NW, Ota H. The adherent gastric mucous layer is composed of alternating layers of MUC5AC and MUC6 mucin proteins. *Digest Dis Sci.* 2004; 49: 1598-1606.

Hogaboam CM, Bissonnette EY, Chin BC, Befus AD, Wallace JL. Prostaglandins Inhibit Inflammatory Mediator Release from Rat Mast-Cells. *Gastroenterology.* 1993; 104: 122-129.

Holzer P. Capsaicin - Cellular Targets, Mechanisms of Action, and Selectivity for Thin Sensory Neurons. *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 143-201.

Holzer P. Neural emergency system in the stomach. *Gastroenterology.* 1998; 114: 823-839.

Holzer P. Sensory neurone responses to mucosal noxae in the upper gut: relevance to mucosal integrity and gastrointestinal pain. *Neurogastroenterol Motil.* 2002; 14: 459-475.

Holzer P. Efferent-like roles of afferent neurons in the gut: Blood flow regulation and tissue protection. *Auton Neurosci.* 2006; 125: 70-75.

Holzer P, Maggi CA. Dissociation of dorsal root ganglion neurons into afferent and efferent-like neurons. *Neuroscience.* 1998; 86: 389-398.

Holzer P, Livingston EH, Guth PH. Sensory neurons signal for an increase in rat gastric mucosal blood flow in the face of pending acid injury. *Gastroenterology.* 1991; 101: 416-423.

Holzer P, Wachter C, Jovic M, Heinemann A. Vascular Bed-Dependent Roles of the Peptide Cgrp and Nitric-Oxide in Acid-Evoked Hyperemia of the Rat Stomach. *J Physiol-London.* 1994; 480: 575-585.

Holzer P, Michl T, Danzer M, Jovic M, Schicho R, Lippe IT. Surveillance of the gastrointestinal mucosa by sensory neurons. *J Physiol Pharmacol.* 2001; 52: 505-521.

Holzer P, Danzer M, Schicho R, Samberger C, Painsipp E, Lippe IT. Vagal afferent input from the acid-challenged rat stomach to the brainstem: Enhancement by interleukin-1 beta. *Neuroscience.* 2004; 129: 439-445.

Hopman WP, Jansen JB, Lamers CB. Plasma cholecystokinin response to a liquid fat meal in vagotomized patients. *Ann Surg.* 1984; 200: 693-697.

Horiuchi Y, Fujii T, Kamimura Y, Kawashima K. The endogenous, immunologically active peptide apelin inhibits lymphocytic cholinergic activity during immunological responses. *J Neuroimmunol.* 2003; 144: 46-52.

Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, Kitada C, Honda S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem.* 2000; 275: 21061-21067.

Hu HL, He L, Li LF, Chen LX. Apelin/APJ system as a therapeutic target in diabetes and its complications. *Mol Genet Metab.* 2016; 119: 20-27.

Hu PF, Tang JL, Chen WP, Bao JP, Wu LD. Increased apelin serum levels and expression in human chondrocytes in osteoarthritic patients. *International orthopaedics.* 2011; 35: 1421-1426.

Hus-Citharel A, Bouby N, Frugiere A, Bodineau L, Gasc JM, Llorens-Cortes C. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney. *Kidney Int.* 2008; 74: 486-494.

Hus-Citharel A, Bodineau L, Frugiere A, Joubert F, Bouby N, Llorens-Cortes C. Apelin Counteracts Vasopressin-Induced Water Reabsorption via Cross Talk Between Apelin and Vasopressin Receptor Signaling Pathways in the Rat Collecting Duct. *Endocrinology.* 2014; 155: 4483-4493.

Ichikawa T, Ishihara K, Kusakabe T, Hiruma H, Kawakami T, Hotta K. CGRP modulates mucin synthesis in surface mucus cells of rat gastric oxyntic mucosa. *Am J Physiol-Gastr L.* 2000; 279: G82-89.

Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G. Investigation of the mechanisms involved in the central effects of glucagon-like peptide-1 on ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Regul Pept.* 2005; 128: 57-62.

Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, Sugaya T, Matsuzaki H, Yamamoto R, Shiota N, Okunishi H, Kihara M, Umemura S, Sugiyama F, Yagami K, Kasuya Y,

Mochizuki N, Fukamizu A. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem.* 2004; 279: 26274-26279.

Ishimaru Y, Sumino A, Kajioka D, Shibagaki F, Yamamuro A, Yoshioka Y, Maeda S. Apelin protects against NMDA-induced retinal neuronal death via an APJ receptor by activating Akt and ERK1/2, and suppressing TNF-alpha expression in mice. *J Pharmacol Sci.* 2017; 133: 34-41.

Izgut-Uysal VN, Gemici B, Birsen I, Acar N, Ustunel I. The protective effect of apelin against water-immersion and restraint stress-induced gastric damage. *J Physiol Sci.* 2014; 64: 279-289.

Izgut-Uysal VN, Gemici B, Birsen I, Acar N, Ustunel I. The effect of apelin on the functions of peritoneal macrophages. *Physiol Res.* 2017; 66: 489-496.

Jones MK, Padilla OR, Webb NA, Norng M. The anti-apoptosis protein, survivin, mediates gastric epithelial cell cytoprotection against ethanol-induced injury via activation of the p34(cdc2) cyclin-dependent kinase. *J Cell Physiol.* 2008; 215: 750-764.

Jordan N, Newton J, Pearson J, Allen A. A novel method for the visualization of the in situ mucus layer in rat and man. *Clin Sci.* 1998; 95: 97-106.

Jordt SE. Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extracellular site. *J Neurochem.* 2003; 85: 6-6.

Jurgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The Role of Bile Acids in the Neoplastic Progression of Barrett's Esophagus - A Short Representative Overview. *Z Gastroenterol.* 2012; 50: 1028-1034.

Kagiyama S, Fukuhara M, Matsumura K, Lin Y, Fujii K, Iida M. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul Pept.* 2005; 125: 55-59.

Kagnoff MF, Eckmann L. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *J Clin Invest.* 1997; 100: S51-S55.

Kanayama S, Liddle RA. Regulation of intestinal cholecystokinin and somatostatin mRNA by bombesin in rats. *Am J Physiol.* 1991; 261: G71-77.

Kaneko H, Mitsuma T, Nagai H, Mori S, Iyo T, Kusugami K, Tache Y. Central action of adrenomedullin to prevent ethanol-induced gastric injury through vagal pathways in rats. *Am J Physiol-Reg I*. 1998; 274: R1783-R1788.

Kapica M, Jankowska A, Antushevich H, Pietrzak P, Bierla JB, Dembinski A, Zabielski R. The effect of exogenous apelin on the secretion of pancreatic juice in anaesthetized rats. *J Physiol Pharmacol*. 2012; 63: 53-60.

Kasai A, Shintani N, Kato H, Matsuda S, Gomi F, Haba R, Hashimoto H, Kakuda M, Tano Y, Baba A. Retardation of retinal vascular development in apelin-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28: 1717-1722.

Kato S, Aihara E, Yoshii K, Takeuchi K. Dual action of prostaglandin E-2 on gastric acid secretion through different EP-receptor subtypes in the rat. *Am J Physiol-Gastr L*. 2005; 289: G64-G69.

Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol*. 2001; 132: 1255-1260.

Kawabata A, Kinoshita M, Nishikawa H, Kuroda R, Nishida M, Araki H, Arizono N, Oda Y, Kakehi K. The protease-activated receptor-2 agonist induces gastric mucus secretion and mucosal cytoprotection. *J Clin Invest*. 2001; 107: 1443-1450.

Kawabata A, Nishikawa H, Saitoh H, Nakaya Y, Hiramatsu K, Kubo S, Nishida M, Kawao N, Kuroda R, Sekiguchi F, Kinoshita M, Kakehi K, Arizono N, Yamagishi H, Kawai K. A protective role of protease-activated receptor 1 in rat gastric mucosa. *Gastroenterology*. 2004; 126: 208-219.

Kawamata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, Nishizawa N, Kitada C, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta*. 2001; 1538: 162-171.

Khaksari M, Aboutaleb N, Nasirinezhad F, Vakili A, Madjd Z. Apelin-13 protects the brain against ischemic reperfusion injury and cerebral edema in a transient model of focal cerebral ischemia. *J Mol Neurosci*. 2012; 48: 201-208.

Kidoya H, Takakura N. Biology of the apelin-APJ axis in vascular formation. *J Biochem.* 2012; 152: 125-131.

Kimura H. Hydrogen sulfide: its production, release and functions. *Amino Acids.* 2011; 41: 113-121.

Kirkup AJ, Brunsten AM, Grundy D. Receptors and transmission in the brain-gut axis: potential for novel therapies. I. Receptors on visceral afferents. *Am J Physiol-Gastr L.* 2001; 280: G787-794.

Koguchi W, Kobayashi N, Takeshima H, Ishikawa M, Sugiyama F, Ishimitsu T. Cardioprotective effect of apelin-13 on cardiac performance and remodeling in end-stage heart failure. *Circ J.* 2012; 76: 137-144.

Konturek PC, Brzozowski T, Walter B, Burnat G, Hess T, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536: 171-181.

Konturek SJ, Brzozowski T, Pytko-Polonczyk J, Drozdowicz D. Exogenous and endogenous cholecystokinin protects gastric mucosa against the damage caused by ethanol in rats. *Eur J Pharmacol.* 1995; 273: 57-62.

Kumar S, Singh RK, Bhardwaj TR. Therapeutic role of nitric oxide as emerging molecule. *Biomed Pharmacother.* 2017; 85: 182-201.

Kwiecien S, Jasnos K, Magierowski M, Sliwowski Z, Pajdo R, Brzozowski B, Mach T, Wojcik D, Brzozowski T. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. *J Physiol Pharmacol.* 2014; 65: 613-622.

Lacy ER, Ito S. Rapid epithelial restitution of the rat gastric mucosa after ethanol injury. *Lab Invest.* 1984; 51: 573-583.

Lai NY, Mills K, Chiu IM. Sensory neuron regulation of gastrointestinal inflammation and bacterial host defence. *Ann Intern Med.* 2017; 282: 5-23.

Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology.* 2008; 135: 41-60.

Lamb K, Kang YM, Gebhart GF, Bielefeldt K. Gastric inflammation triggers hypersensitivity to acid in awake rats. *Gastroenterology*. 2003; 125: 1410-1418.

Lee DK, Saldivia VR, Nguyen T, Cheng R, George SR, O'Dowd BF. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*. 2005; 146: 231-236.

Leeper NJ, Tedesco MM, Kojima Y, Schultz GM, Kundu RK, Ashley EA, Tsao PS, Dalman RL, Quertermous T. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 296: H1329-1335.

Lei JY, Zhu FX, Zhang Y, Duan LX, Lei H, Huang W. Transient Receptor Potential Vanilloid Subtype 1 Inhibits Inflammation and Apoptosis via the Release of Calcitonin Gene-Related Peptide in the Heart after Myocardial Infarction. *Cardiology*. 2016; 134: 436-443.

Lewis LD, Williams JA. Regulation of cholecystokinin secretion by food, hormones, and neural pathways in the rat. *Am J Physiol*. 1990; 258: G512-518.

Li D, Peng J, Xin HY, Luo D, Zhang YS, Zhou Z, Jiang DJ, Deng HW, Li YJ. Calcitonin gene-related peptide-mediated antihypertensive and anti-platelet effects by rutaecarpine in spontaneously hypertensive rats. *Peptides*. 2008; 29: 1781-1788.

Li SL, Zhao JR, Ren XY, Xie JP, Ma QZ, Rong QH. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 associated with gastric ulcer recurrence. *World J Gastroentero*. 2013; 19: 4590-4595.

Lichtenberger LM. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroen*. 1999; 15: 463-472.

Liddle RA. Regulation of cholecystokinin gene expression in rat intestine. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 713: 22-31.

Liddle RA. Regulation of cholecystokinin secretion in humans. *J Gastroenterol*. 2000; 35: 181-187.

Lim LH, Solito E, Russo-Marie F, Flower RJ, Perretti M. Promoting detachment of neutrophils adherent to murine postcapillary venules to control inflammation: effect of lipocortin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95: 14535-14539.

Lindsay RM, Lockett C, Sternberg J, Winter J. Neuropeptide Expression in Cultures of Adult Sensory Neurons - Modulation of Substance-P and Calcitonin Gene-Related Peptide Levels by Nerve Growth-Factor. *Neuroscience*. 1989; 33: 53-65.

Lippe IT, Holzer P. Participation of Endothelium-Derived Nitric-Oxide but Not Prostacyclin in the Gastric-Mucosal Hyperemia Due to Acid Back-Diffusion. *Brit J Pharmacol*. 1992; 105: 708-714.

Liu YZ, Zhou Y, Li D, Wang L, Hu GY, Peng J, Li YJ. Reduction of asymmetric dimethylarginine in the protective effects of rutaecarpine on gastric mucosal injury. *Can J Physiol Pharm*. 2008; 86: 675-681.

Lloyd KCK, Raybould HE, Walsh JH. Cholecystokinin Inhibits Gastric-Acid Secretion through Type-a Cholecystokinin Receptors and Somatostatin in Rats. *Am J Physiol* . 1992; 263: G287-G292.

Luo XJ, Liu B, Dai Z, Yang ZC, Peng J. Stimulation of calcitonin gene-related peptide release through targeting capsaicin receptor: a potential strategy for gastric mucosal protection. *Dig Dis Sci*. 2013; 58: 320-325.

Lv SY, Yang YJ, Qin YJ, Xiong W, Chen Q. Effect of centrally administered apelin-13 on gastric emptying and gastrointestinal transit in mice. *Peptides*. 2011; 32: 978-982.

Lv SY, Qin YJ, Wang HT, Xu N, Yang YJ, Chen Q. Centrally administered apelin-13 induces depression-like behavior in mice. *Brain Res Bull*. 2012; 88: 574-580.

Maggi CA. Tachykinins and Calcitonin-Gene-Related Peptide (Cgrp) as Cotransmitters Released from Peripheral Endings of Sensory Nerves. *Prog Neurobiol*. 1995; 45: 1-98.

Magierowska K, Brzozowski T, Magierowski M. Emerging role of carbon monoxide in regulation of cellular pathways and in the maintenance of gastric mucosal integrity. *Pharmacol Res*. 2018; 129: 56-64.

Magierowska K, Magierowski M, Hubalewska-Mazgaj M, Adamski J, Surmiak M, Sliwowski Z, Kwiecien S, Brzozowski T. Carbon Monoxide (CO) Released from Tricarbonyldichlororuthenium (II) Dimer (CORM-2) in Gastroprotection against Experimental Ethanol-Induced Gastric Damage. *PloS one*. 2015; 10: e0140493.

Magierowski M, Magierowska K, Szmyd J, Surmiak M, Sliwowski Z, Kwiecien S, Brzozowski T. Hydrogen Sulfide and Carbon Monoxide Protect Gastric Mucosa Compromised by Mild Stress Against Alendronate Injury. *Dig Dis Sci.* 2016a; 61: 3176-3189.

Magierowski M, Hubalewska-Mazgaj M, Magierowska K, Wojcik D, Sliwowski Z, Kwiecien S, Brzozowski T. Nitric oxide, afferent sensory nerves, and antioxidative enzymes in the mechanism of protection mediated by tricarbonyldichlororuthenium(II) dimer and sodium hydrosulfide against aspirin-induced gastric damage. *J Gastroenterol.* 2018a; 53: 52-63.

Magierowski M, Jasnos K, Sliwowski Z, Surmiak M, Krzysiek-Maczka G, Ptak-Belowska A, Kwiecien S, Brzozowski T. Exogenous asymmetric dimethylarginine (ADMA) in pathogenesis of ischemia-reperfusion-induced gastric lesions: interaction with protective nitric oxide (NO) and calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 4946-4964.

Magierowski M, Magierowska K, Hubalewska-Mazgaj M, Sliwowski Z, Pajdo R, Ginter G, Kwiecien S, Brzozowski T. Exogenous and Endogenous Hydrogen Sulfide Protects Gastric Mucosa against the Formation and Time-Dependent Development of Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Lesions Progressing into Deeper Ulcerations. *Molecules.* 2017; 22: 1-16.

Magierowski M, Magierowska K, Hubalewska-Mazgaj M, Adamski J, Bakalarz D, Sliwowski Z, Pajdo R, Kwiecien S, Brzozowski T. Interaction between endogenous carbon monoxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastroprotection against acute aspirin-induced gastric damage. *Pharmacol Res.* 2016b; 114: 235-250.

Magierowski M, Magierowska K, Hubalewska-Mazgaj M, Surmiak M, Sliwowski Z, Wierdak M, Kwiecien S, Chmura A, Brzozowski T. Cross-talk between hydrogen sulfide and carbon monoxide in the mechanism of experimental gastric ulcers healing, regulation of gastric blood flow and accompanying inflammation. *Biochem Pharmacol.* 2018b; 149: 131-142.

Maguire JJ, Kleinz MJ, Pitkin SL, Davenport AP. [Pyr(1)]Apelin-13 Identified as the Predominant Apelin Isoform in the Human Heart Vasoactive Mechanisms and Inotropic Action in Disease. *Hypertension.* 2009; 54: 598-U296.

Martin GR, Wallace JL. Gastrointestinal inflammation: A central component of mucosal defense and repair. *Exp Biol Med.* 2006; 231: 130-137.

Martin GR, Perretti M, Flower RJ, Wallace JL. Annexin-1 modulates repair of gastric mucosal injury. *Am J Physiol-Gastr L*. 2008; 294: G764-769.

Masaki T, Yasuda T, Yoshimatsu H. Apelin-13 microinjection into the paraventricular nucleus increased sympathetic nerve activity innervating brown adipose tissue in rats. *Brain Res Bull*. 2012; 87: 540-543.

Masri B, Lahlou H, Mazarguil H, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin (65-77) activates extracellular signal-regulated kinases via a PTX-sensitive G protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 290: 539-545.

Masri B, Morin N, Cornu M, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin (65-77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells. *Faseb J*. 2004; 18: 1909-+.

Matsuda T, Tao H, Goto M, Yamada H, Suzuki M, Wu Y, Xiao N, He Q, Guo W, Cai Z, Kurabe N, Ishino K, Matsushima Y, Shinmura K, Konno H, Maekawa M, Wang Y, Sugimura H. Lipid peroxidation-induced DNA adducts in human gastric mucosa. *Carcinogenesis*. 2013; 34: 121-127.

Matsumoto Y, Kanamoto K, Kawakubo K, Aomi H, Matsumoto T, Ibayashi S, Fujishima M. Gastroprotective and vasodilatory effects of epidermal growth factor: the role of sensory afferent neurons. *Am J Physiol-Gastr L*. 2001; 280: G897-G903.

Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, Lawrie KWM, Hervieu G, Riley G, Bolaky JE, Herrity NC, Murdock P, Darker JG. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84: 1162-1172.

Mercer DW, Smith GS, Miller TA. Cyclooxygenase inhibition attenuates cholecystokinin-induced gastroprotection. *Digest Dis Sci*. 1998; 43: 468-475.

Mercer DW, Cross JM, Barreto JC, Strobel NHP, Russell DH, Miller TA. Cholecystokinin Is a Potent Protective Agent against Alcohol-Induced Gastric Injury in the Rat - Role of Endogenous Prostaglandins. *Digest Dis Sci*. 1995; 40: 651-660.

Mesmin C, Fenaille F, Becher F, Tabet JC, Ezan E. Identification and Characterization of Apelin Peptides in Bovine Colostrum and Milk by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J Proteome Res.* 2011; 10: 5222-5231.

Michl T, Jovic M, Heinemann A, Schuligoi R, Holzer P. Vagal afferent signaling of a gastric mucosal acid insult to medullary, pontine, thalamic, hypothalamic and limbic, but not cortical, nuclei of the rat brain. *Pain.* 2001; 92: 19-27.

Miyake K, Tanaka T, McNeil PL. Disruption-induced mucus secretion: Repair and protection. *Plos Biol.* 2006; 4: 1525-1531.

Mizutani A, Okajima K, Murakami K, Mizutani S, Kudo K, Uchino T, Kadoi Y, Noguchi T. Activation of sensory neurons reduces ischemia/reperfusion-induced acute renal injury in rats. *Anesthesiology.* 2009; 110: 361-369.

Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric-Oxide - Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 109-142.

Monnikes H, Lauer G, Arnold R. Peripheral administration of cholecystokinin activates c-fos expression in the locus coeruleus/subcoeruleus nucleus, dorsal vagal complex and paraventricular nucleus via capsaicin-sensitive vagal afferents and CCK-A receptors in the rat. *Brain research.* 1997; 770: 277-288.

Montuschi P, Tringali G, Mirtella A, Parente L, Ragazzoni E, Preziosi P, Navarra P. Interleukin-1 beta release from rat gastric fundus. *Am J Physiol-Gastr L.* 1996; 271: G275-G281.

Motta JP, Flannigan KL, Agbor TA, Beatty JK, Blackler RW, Workentine ML, Da Silva GJ, Wang R, Buret AG, Wallace JL. Hydrogen Sulfide Protects from Colitis and Restores Intestinal Microbiota Biofilm and Mucus Production. *Inflamm Bowel Dis.* 2015; 21: 1006-1017.

Mura M, Andrade CF, Han B, Seth R, Zhang Y, Bai XH, Waddell TK, Hwang D, Keshavjee S, Liu MY. Intestinal ischemia-reperfusion-induced acute lung injury and oncotic cell death in multiple organs. *Shock.* 2007; 28: 227-238.

Nassini R, Andre E, Gazzieri D, De Siena G, Zanasi A, Geppetti P, Materazzi S. A Bicarbonate-Alkaline Mineral Water Protects from Ethanol-Induced Hemorrhagic Gastric Lesions in Mice. *Biol Pharm Bull.* 2010; 33: 1319-1323.

Newson MJF, Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Stress-dependent and gender-specific neuroregulatory roles of the apelin receptor in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to acute stress. *J Endocrinol.* 2013; 216: 99-109.

Newton JL, Allen A, Westley BR, May FEB. The human trefoil peptide, TFF1, is present in different molecular forms that are intimately associated with mucus in normal stomach. *Gut.* 2000; 46: 312-320.

Nguyen NQ, Fraser RJ, Bryant LK, Chapman MJ, Wishart J, Holloway RH, Butler R, Horowitz M. The relationship between gastric emptying, plasma cholecystokinin, and peptide YY in critically ill patients. *Crit Care.* 2007; 11: 1-9.

Nishida M, Okumura Y, Oka T, Toiyama K, Ozawa S, Itoi T, Hamaoka K. The role of apelin on the alleviative effect of Angiotensin receptor blocker in unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Nephron extra.* 2012; 2: 39-47.

Nishikawa H, Kawai K, Nishimura S, Tanaka S, Araki H, Al-Ani B, Hollenberg MD, Kuroda R, Kawabata A. Suppression by protease-activated receptor-2 activation of gastric acid secretion in rats. *Eur J Pharmacol.* 2002; 447: 87-90.

Niv Y, Fraser GM. The alkaline tide phenomenon. *J Clin Gastroenterol.* 2002; 35: 5-8.

Niv Y, Hardy B, Koren R, Rodiomov G, Fraser GM. Association between gastric acid and mucin secretion in dyspeptic patients. *Digestion.* 2002; 65: 141-148.

O'Carroll AM, Don ALJ, Lolait SJ. APJ receptor mRNA expression in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: Regulation by stress and glucocorticoids. *J Neuroendocrinol.* 2003; 15: 1095-1101.

O'Donnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, Dichter MA, Lynch DR, Kolson DL. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury. *J Neurochem.* 2007; 102: 1905-1917.

O'Donnell TA, Kentish SJ, Healey K, Ratcliff K, Wittert GA, Page AJ. Apelin-13 Effects on Peripheral Vagal Afferent Mechanosensitivity With Feeding and Fasting. *Gastroenterology.* 2012; 142: S57-S57.

Odowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HHQ, Tsui LC, Kennedy JL, Shi XM, Petronis A, George SR, Nguyen T. A Human Gene That Shows Identity with the Gene Encoding the Angiotensin Receptor Is Located on Chromosome-11. *Gene*. 1993; 136: 355-360.

Ohno S, Yakabi K, Ro S, Ochiai M, Onouchi T, Sakurada T, Takabayashi H, Ishida S, Takayama K. Apelin-12 stimulates acid secretion through an increase of histamine release in rat stomachs. *Regul Peptides*. 2012; 174: 71-78.

Ohno T, Katori M, Majima M, Saeki T, Boku K, Nishiyama K, Hayashi H, Saigenji K. Dilatation and constriction of rat gastric mucosal microvessels through prostaglandin EP2 and EP3 receptors. *Aliment Pharm Ther*. 1999; 13: 1243-1250.

Oksana Sulaieva NO. Role of vagus nerve in gastroduodenal adaptation and cytoprotection. *Int J Clin Exp Med*. 2014 2: 22-27.

Okuda M, Lee HC, Chance B, Kumar C. Role of Extracellular Ca²⁺ in Ischemia-Reperfusion Injury in the Isolated Perfused-Rat-Liver. *Circ Shock*. 1992; 37: 209-219.

Owyang C. Discovery of a cholecystokinin-releasing peptide: biochemical characterization and physiological implications. *Chin J Physiol*. 1999; 42: 113-120.

Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E-2 transactivates EGF receptor: A novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med*. 2002; 8: 289-293.

Palileo C, Kaunitz JD. Gastrointestinal defense mechanisms. *Curr Opin Gastroen*. 2011; 27: 543-548.

Patterson LM, Zheng HY, Ward SM, Berthoud HR. Vanilloid receptor (VR1) expression in vagal afferent neurons innervating the gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res*. 2003; 311: 277-287.

Pavlov VA, Tracey KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun*. 2005; 19: 493-499.

Peskar BM, Ehrlich K, Peskar BA. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002; 301: 969-974.

Picault FX, Chaves-Almagro C, Projetti F, Prats H, Masri B, Audigier Y. Tumour co-expression of apelin and its receptor is the basis of an autocrine loop involved in the growth of colon adenocarcinomas. *Eur J Cancer*. 2014; 50: 663-674.

Pisarenko O, Shulzhenko V, Studneva I, Pelogeykina Y, Timoshin A, Anesia R, Valet P, Parini A, Kunduzova O. Structural apelin analogues: mitochondrial ROS inhibition and cardiometabolic protection in myocardial ischaemia reperfusion injury. *Br J Pharmacol*. 2015; 172: 2933-2945.

Pisarenko OI, Lankin VZ, Konovalova GG, Serebryakova LI, Shulzhenko VS, Timoshin AA, Tskitishvili OV, Pelogeykina YA, Studneva IM. Apelin-12 and its structural analog enhance antioxidant defense in experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem*. 2014; 391: 241-250.

Pitkin SL, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *Br J Pharmacol*. 2010; 160: 1785-1795.

Pontes HBD, Neto EA, Pontes JCDV, Cruz GS, Miranda VJVC, Sampaio TL, Carlos HMS, Dourado DM. Ischemia and Reperfusion Injury: General Aspects and Mechanisms. *EC CARDIOLOGY*. 2016; 2,5: 240-248.

Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: species differences with rat. *Peptides*. 2012; 33: 139-148.

Pulli B, Ali M, Forghani R, Schob S, Hsieh KL, Wojtkiewicz G, Linnoila JJ, Chen JW. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples. *PloS one*. 2013; 8: e67976.

Radi Z, Bartholomew P, Elwell M, Vogel WM. Comparative pathophysiology, toxicology, and human cancer risk assessment of pharmaceutical-induced hibernoma. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013; 273: 456-463.

Raimura M, Tashima K, Matsumoto K, Tobe S, Chino A, Namiki T, Terasawa K, Horie S. Neuronal Nitric Oxide Synthase-Derived Nitric Oxide Is Involved in Gastric Mucosal Hyperemic Response to Capsaicin in Rats. *Pharmacology*. 2013; 92: 60-70.

Rastaldo R, Cappello S, Folino A, Berta GN, Sprio AE, Losano G, Samaja M, Pagliaro P. Apelin-13 limits infarct size and improves cardiac postischemic mechanical recovery only if given after ischemia. *Am J Physiol-Heart C*. 2011; 300: H2308-H2315.

Raybould HE, Sternini C, Eysselein VE, Yoneda M, Holzer P. Selective Ablation of Spinal Afferent Neurons Containing Cgrp Attenuates Gastric Hyperemic Response to Acid. *Peptides*. 1992; 13: 249-254.

Reaux-Le Goazigo A, Alvear-Perez R, Zizzari P, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT, Llorens-Cortes C. Cellular localization of apelin and its receptor in the anterior pituitary: evidence for a direct stimulatory action of apelin on ACTH release. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 292: E7-15.

Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem*. 2001; 77: 1085-1096.

Reimund JM, Wittersheim C, Dumont S, Muller CD, Kenney JS, Baumann R, Poindron P, Duclos B. Increased production of tumour necrosis factor-alpha interleukin-1 beta, and interleukin-6 by morphologically normal intestinal biopsies from patients with Crohn's disease. *Gut*. 1996; 39: 684-689.

Reinhart WH, Muller O, Halter F. Influence of long-term 16,16-dimethyl prostaglandin E2 treatment on the rat gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology*. 1983; 85: 1003-1010.

Ren JY, Young RL, Lassiter DC, Harty RF. Calcitonin Gene-Related Peptide Mediates Capsaicin-Induced Neuroendocrine Responses in Rat Antrum. *Gastroenterology*. 1993; 104: 485-491.

Richardson CT. Pathogenetic Factors in Peptic-Ulcer Disease. *Am J Med*. 1985; 79: 1-7.

Ripken D, van der Wielen N, van der Meulen J, Schuurman T, Witkamp RF, Hendriks HF, Koopmans SJ. Cholecystokinin regulates satiation independently of the abdominal vagal nerve in a pig model of total subdiaphragmatic vagotomy. *Physiol Behav*. 2015; 139: 167-176.

Ritter RC, Brenner LA, Tamura CS. Endogenous CCK and the peripheral neural substrates of intestinal satiety. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 713: 255-267.

Roberts EM, Pope GR, Newson MJ, Landgraf R, Lolait SJ, O'Carroll AM. Stimulus-specific neuroendocrine responses to osmotic challenges in apelin receptor knockout mice. *J Neuroendocrinol.* 2010; 22: 301-308.

Rogers RC, Travagli RA, Hermann GE. Noradrenergic neurons in the rat solitary nucleus participate in the esophageal-gastric relaxation reflex. *Am J Physiol-Reg I.* 2003; 285: R479-R489.

Ronkainen VP, Ronkainen JJ, Hanninen SL, Leskinen H, Ruas JL, Pereira T, Poellinger L, Vuolteenaho O, Tavi P. Hypoxia inducible factor regulates the cardiac expression and secretion of apelin. *Faseb J.* 2007; 21: 1821-1830.

Sabbah HN. Electrical vagus nerve stimulation for the treatment of chronic heart failure. *Cleve Clin J Med.* 2011; 78 Suppl 1: S24-29.

Saenz JB, Mills JC. Acid and the basis for cellular plasticity and reprogramming in gastric repair and cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018, 15: 257-273.

Saia RS, Mestriner FL, Bertozi G, Cunha FQ, Carnio EC. Cholecystokinin inhibits inducible nitric oxide synthase expression by lipopolysaccharide-stimulated peritoneal macrophages. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 896029.

Sarosiek J, Marshall BJ, Peura DA, Hoffman S, Feng T, McCallum RW. Gastroduodenal Mucus Gel Thickness in Patients with Helicobacter-Pylori - a Method for Assessment of Biopsy Specimens. *Am J Gastroenterol.* 1991a; 86: 729-734.

Sarosiek J, Peura DA, Guerrant RL, Marshall BJ, Laszewicz W, Gabryelewicz A, McCallum RW. Mucolytic Effects of Helicobacter-Pylori. *Scand J Gastroentero.* 1991b; 26: 47-55.

Sawchenko PE. Central connections of the sensory and motor nuclei of the vagus nerve. *J Auton Nerv Syst.* 1983; 9: 13-26.

Schicho R, Schemann M, Holzer P, Lippe IT. Mucosal acid challenge activates nitrergic neurons in myenteric plexus of rat stomach. *Am J Physiol-Gastr L.* 2001; 281: G1316-1321.

Schicho R, Schemann M, Pabst MA, Holzer P, Lippe IT. Capsaicin-sensitive extrinsic afferents are involved in acid-induced activation of distinct myenteric neurons in the rat stomach. *Neurogastroenterol Motil.* 2003; 15: 33-44.

Schuligoi R, Jovic M, Heinemann A, Schoninkle E, Pabst MA, Holzer P. Gastric acid-evoked c-fos messenger RNA expression in rat brainstem is signaled by capsaicin-resistant vagal afferents. *Gastroenterology*. 1998; 115: 649-660.

Seyedabadi M, Goodchild AK, Pilowsky PM. Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Auton Neurosci*. 2002; 101: 32-38.

Sgambato D, Capuano A, Sullo MG, Miranda A, Federico A, Romano M. Gut-Brain Axis in Gastric Mucosal Damage and Protection. *Curr Neuropharmacol*. 2016; 14: 959-966.

Shahin M, Konturek JW, Pohle T, Schuppan D, Herbst H, Domschke W. Remodeling of extracellular matrix in gastric ulceration. *Microsc Res Techniq*. 2001; 53: 396-408.

Shin K, Kenward C, Rainey JK. Apelinergic System Structure and Function. *Compr Physiol*. 2017; 8: 407-450.

Sibilia V, Pagani F, Rindi G, Lattuada N, Rapetti D, De Luca V, Campanini N, Bulgarelli I, Locatelli V, Guidobono F, Netti C. Central ghrelin gastroprotection involves nitric oxide/prostaglandin cross-talk. *Brit J Pharmacol*. 2008; 154: 688-697.

Sieber CC, Sumanovski LT, Stumm M, van der Kooij M, Bategay E. In vivo angiogenesis in normal and portal hypertensive rats: role of basic fibroblast growth factor and nitric oxide. *J Hepatol*. 2001; 34: 644-650.

Singer MV, Niebel W, Jansen JB, Hoffmeister D, Gotthold S, Goebell H, Lamers CB. Pancreatic secretory response to intravenous caerulein and intraduodenal tryptophan studies: before and after stepwise removal of the extrinsic nerves of the pancreas in dogs. *Gastroenterology*. 1989; 96: 925-934.

Singh L, Lewis AS, Field MJ, Hughes J, Woodruff GN. Evidence for an involvement of the brain cholecystokinin B receptor in anxiety. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88: 1130-1133.

Sivarao DV, Krowicki ZK, Hornby PJ. Role of GABA(A) receptors in rat hindbrain nuclei controlling gastric motor function. *Neurogastroent Motil*. 1998; 10: 305-313.

Slomiany BL, Piasek A, Sarosiek J, Slomiany A. The Role of Surface and Intracellular Mucus in Gastric-Mucosal Protection against Hydrogen-Ion - Compositional Differences. *Scand J Gastroentero*. 1985; 20: 1191-1196.

Solito E, Kamal A, Russo-Marie F, Buckingham JC, Marullo S, Perretti M. A novel calcium-dependent proapoptotic effect of annexin 1 on human neutrophils. *Faseb J*. 2003; 17: 1544-1546.

Song SW, Liu N, Liu W, Shi R, Guo KJ, Liu YF. The Effect of Pretreatment with Calcitonin Gene-Related Peptide on Attenuation of Liver Ischemia and Reperfusion Injury due to Oxygen Free Radicals and Apoptosis. *Hepato-Gastroenterol*. 2009; 56: 1724-1729.

Suemasu S, Tanaka K, Namba T, Ishihara T, Katsu T, Fujimoto M, Adachi H, Sobue G, Takeuchi K, Nakai A, Mizushima T. A role for HSP70 in protecting against indomethacin-induced gastric lesions. *J Biol Chem*. 2009; 284: 19705-19715.

Sueur S, Pesant M, Rochette L, Connat JL. Antiapoptotic effect of calcitonin gene-related peptide on oxidative stress-induced injury in H9c2 cardiomyocytes via the RAMP1/CRLR complex. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 39: 955-963.

Sun P, Zhou K, Wang S, Li P, Chen S, Lin G, Zhao Y, Wang T. Involvement of MAPK/NF-kappaB signaling in the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway in experimental colitis by chronic vagus nerve stimulation. *PloS one*. 2013; 8: e69424.

Susaki E, Wang G, Cao G, Wang HQ, Englander EW, Greeley GH, Jr. Apelin cells in the rat stomach. *Regul Pept*. 2005; 129: 37-41.

Suzuki K, Araki H, Mizoguchi H, Furukawa O, Takeuchi K. Prostaglandin E inhibits indomethacin-induced gastric lesions through EP-1 receptors. *Digestion*. 2001; 63: 92-101.

Szabo C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*. 1996; 6: 79-88.

Szelenyi Z. Cholecystokinin: role in thermoregulation and other aspects of energetics. *Clin Chim Acta*. 2010; 411: 329-335.

Szlachcic A, Sliwowski Z, Krzysiek-Maczka G, Majka J, Surmiak M, Pajdo R, Drozdowicz D, Konturek SJ, Brzozowski T. New satiety hormone nesfatin-1 protects gastric mucosa against stress-induced injury: mechanistic roles of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and vanilloid receptors. *Peptides*. 2013; 49: 9-20.

Szokodi I, Tavi P, Foldes G, Voutilainen-Mylly S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuhola J, Rysa J, Toth M, Ruskoaho H. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res.* 2002; 91: 434-440.

Szolcsanyi J, Sandor Z. Multimeric TRPV1 nociceptor: a target for analgesics. *Trends Pharmacol Sci.* 2012; 33: 646-655.

Tache Y. Brainstem neuropeptides and vagal protection of the gastric mucosal against injury: role of prostaglandins, nitric oxide and calcitonin-gene related peptide in capsaicin afferents. *Curr Med Chem.* 2012; 19: 35-42.

Tache Y, Kolve E, Maedahagiwara M, Kauffman GL. Central Nervous-System Action of Calcitonin to Alter Experimental Gastric-Ulcers in Rats. *Gastroenterology.* 1988; 94: 145-150.

Tache Y, Yoneda M, Kato K, Kiraly A, Suto G, Kaneko H. Intracisternal thyrotropin-releasing hormone-induced vagally mediated gastric protection against ethanol lesions: central and peripheral mechanisms. *J Gastroenterol Hepatol.* 1994; 9 Suppl 1: S29-35.

Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillon W, Dakin C, Sajedi A, Ghatei M, Bloom S. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 291: 1208-1212.

Takahashi T, Owyang C. Vagal Control of Nitric-Oxide and Vasoactive Intestinal Polypeptide Release in the Regulation of Gastric Relaxation in Rat. *J Physiol-London.* 1995; 484: 481-492.

Takeuchi K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E₂ and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. *J Physiol Pharmacol.* 2014; 65: 3-14.

Takeuchi K, Kato S, Amagase K. Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity. *J Pharmacol Sci.* 2010; 114: 248-261.

Takeuchi K, Ueshima K, Ohuchi T, Okabe S. The role of capsaicin-sensitive sensory neurons in healing of HCl-induced gastric mucosal lesions in rats. *Gastroenterology.* 1994; 106: 1524-1532.

Takeuchi K, Kita K, Hayashi S, Aihara E. Regulatory mechanism of duodenal bicarbonate secretion Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide. *Pharmacol Therapeut.* 2011; 130: 59-70.

Takeuchi K, Ukawa H, Kato S, Furukawa O, Araki H, Sugimoto Y, Ichikawa A, Ushikubi F, Narumiya S. Impaired duodenal bicarbonate secretion and mucosal integrity in mice lacking prostaglandin E-receptor subtype EP(3). *Gastroenterology*. 1999; 117: 1128-1135.

Tan LL, Bornstein JC, Anderson CR. Distinct chemical classes of medium-sized transient receptor potential channel vanilloid 1-immunoreactive dorsal root ganglion neurons innervate the adult mouse jejunum and colon. *J Neurosci*. 2008; 156: 334-343.

Tang SY, Xie H, Yuan LQ, Luo XH, Huang J, Cui RR, Zhou HD, Wu XP, Liao EY. Apelin stimulates proliferation and suppresses apoptosis of mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 via JNK and PI3-K/Akt signaling pathways. *Peptides*. 2007; 28: 708-718.

Tani S, Suzuki T, Kano S, Tanaka T, Sunaga K, Morishige R, Tsuda T. Mechanisms of gastric mucus secretion from cultured rat gastric epithelial cells induced by carbachol, cholecystokinin octapeptide, secretin, and prostaglandin E2. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25: 14-18.

Tarnawski A, Ahluwalia A, Jones MK. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids. *Curr Pharm Design*. 2013; 19: 126-132.

Tarnawski A, Stachura J, Durbin T, Sarfeh II, Gergely H. Increased Expression of Epidermal Growth-Factor Receptor during Gastric-Ulcer Healing in Rats. *Gastroenterology*. 1992; 102: 695-698.

Tarnawski AS. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci*. 2005; 50 Suppl 1: S24-33.

Tarnawski AS, Chai JY, Jones MK. Esophageal and gastrointestinal microcirculation: Essential for mucosal protection, a target for injury, and a critical component of injury and ulcer healing. *Keio U Int Symp Life*. 2005; 13: 49-61.

Tarnawski AS, Ahluwalia A, Jones MK. The Mechanisms of Gastric Mucosal Injury: Focus on Microvascular Endothelium as a Key Target. *Curr Med Chem*. 2012; 19: 4-15.

Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001; 99: 87-92.

Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 251: 471-476.

Telegdy G, Adamik A, Jaszberenyi M. Involvement of neurotransmitters in the action of apelin-13 on passive avoidance learning in mice. *Peptides*. 2013; 39: 171-174.

Than A, He HL, Chua SH, Xu D, Sun L, Leow MKS, Chen P. Apelin Enhances Brown Adipogenesis and Browning of White Adipocytes. *J Biol Chem*. 2015; 290: 14679-14691.

Than A, Cheng YQ, Foh LC, Leow MKS, Lim SC, Chuah YL, Kang YJ, Chen P. Apelin inhibits adipogenesis and lipolysis through distinct molecular pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 362: 227-241.

Thim L, Madsen F, Poulsen SS. Effect of trefoil factors on the viscoelastic properties of mucus gels. *Eur J Clin Invest*. 2002; 32: 519-527.

Thom SR, Ohnishi ST, Ischiropoulos H. Nitric oxide released by platelets inhibits neutrophil B2 integrin function following acute carbon monoxide poisoning. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1994; 128: 105-110.

Torres-Narvaez JC, Mondragon Ldel V, Varela Lopez E, Perez-Torres I, Diaz Juarez JA, Suarez J, Hernandez GP. Role of the transient receptor potential vanilloid type 1 receptor and stretch-activated ion channels in nitric oxide release from endothelial cells of the aorta and heart in rats. *Exp Clin Cardiol*. 2012; 17: 89-94.

Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9: 418-428.

Traub RJ, Sengupta JN, Gebhart GF. Differential c-Fos expression in the nucleus of the solitary tract and spinal cord following noxious gastric distention in the rat. *J Neurosci*. 1996; 16: 873-884.

Travagli RA, Anselmi L. Vagal neurocircuitry and its influence on gastric motility. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 13: 389-401.

Travagli RA, Hermann GE, Browning KN, Rogers RC. Brainstem circuits regulating gastric function. *Annu Rev Physiol*. 2006; 68: 279-305.

Tsukimi Y, Okabe S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biol Pharm Bull.* 2001; 24: 1-9.

Urquhart P, Rosignoli G, Cooper D, Motterlini R, Perretti M. Carbon monoxide-releasing molecules modulate leukocyte-endothelial interactions under flow. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 321: 656-662.

van de Wall EH, Duffy P, Ritter RC. CCK enhances response to gastric distension by acting on capsaicin-insensitive vagal afferents. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005; 289: R695-703.

Vergnolle N, Wallace JL, Bunnett NW, Hollenberg MD. Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 146-152.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases - Structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003; 92: 827-839.

Wallace JL, Ianaro A, de Nucci G. Gaseous Mediators in Gastrointestinal Mucosal Defense and Injury. *Dig Dis Sci.* 2017; 62: 2223-2230.

Wang G, Kundu R, Han S, Qi X, Englander EW, Quertermous T, Greeley GH, Jr. Ontogeny of apelin and its receptor in the rodent gastrointestinal tract. *Regul Pept.* 2009; 158: 32-39.

Wang G, Anini Y, Wei W, Qi X, AM OC, Mochizuki T, Wang HQ, Hellmich MR, Englander EW, Greeley GH, Jr. Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology.* 2004; 145: 1342-1348.

Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Wang HC, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ. Nicotinic acetylcholine receptor alpha 7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature.* 2003; 421: 384-388.

Wang W, McKinnie SM, Patel VB, Haddad G, Wang Z, Zhabyeyev P, Das SK, Basu R, McLean B, Kandalam V, Penninger JM, Kassiri Z, Vederas JC, Murray AG, Oudit GY. Loss of Apelin exacerbates myocardial infarction adverse remodeling and ischemia-reperfusion injury: therapeutic potential of synthetic Apelin analogues. *J Am Heart Assoc.* 2013; 2: e000249.

Wank SA. G protein-coupled receptors in gastrointestinal physiology. I. CCK receptors: an exemplary family. *Am J Physiol.* 1998; 274: G607-613.

Wattanachanya L, Lu WD, Kundu RK, Wang L, Abbott MJ, O'Carroll D, Quertermous T, Nissenson RA. Increased bone mass in mice lacking the adipokine apelin. *Endocrinology.* 2013; 154: 2069-2080.

Wattez JS, Ravallec R, Cudennec B, Knauf C, Dhulster P, Valet P, Breton C, Vieau D, Lesage J. Apelin stimulates both cholecystokinin and glucagon-like peptide 1 secretions in vitro and in vivo in rodents. *Peptides.* 2013; 48: 134-136.

Weiland TJ, Kent S, Voudouris NJ, Shulkes A. The effect of lipopolysaccharide on cholecystokinin in murine plasma and tissue. *Peptides.* 2005; 26: 447-455.

West SD, Helmer KS, Chang LK, Cui Y, Greeley GH, Mercer DW. Cholecystokinin secretagogue-induced gastroprotection: role of nitric oxide and blood flow. *Am J Physiol-Gastr L.* 2003; 284: G399-410.

Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ, Hokfelt T. The role of spinal cholecystokinin in chronic pain states. *Pharmacol Toxicol.* 2002; 91: 398-403.

Wu D, Wang J, Wang H, Ji A, Li Y. Protective roles of bioactive peptides during ischemia-reperfusion injury: From bench to bedside. *Life sciences.* 2017a; 180: 83-92.

Wu L, Chen L, Li L. Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis. *Clin Chim Acta.* 2017b; 466: 78-84.

Wu XY, Zhu JX, Gao J, Owyang C, Li Y. Neurochemical phenotype of vagal afferent neurons activated to express C-FOS in response to luminal stimulation in the rat. *J Neurosci.* 2005; 130: 757-767.

Xie H, Tang SY, Cui RR, Huang J, Ren XH, Yuan LQ, Lu Y, Yang M, Zhou HD, Wu XP, Luo XH, Liao EY. Apelin and its receptor are expressed in human osteoblasts. *Regul Peptides.* 2006; 134: 118-125.

Xin Q, Cheng BH, Pan YY, Liu HQ, Yang CQ, Chen J, Bai B. Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation. *Peptides.* 2015; 63: 55-62.

Xu N, Wang H, Fan L, Chen Q. Supraspinal administration of apelin-13 induces antinociception via the opioid receptor in mice. *Peptides*. 2009; 30: 1153-1157.

Yang H, Kawakubo K, Tache Y. Intracisternal PYY increases gastric mucosal resistance: role of cholinergic, CGRP, and NO pathways. *Am J Physiol-Gastr L*. 1999; 277: G555-G562.

Yang PR, Maguire JJ, Davenport AP. Apelin, Elabela/Toddler, and biased agonists as novel therapeutic agents in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci*. 2015a; 36: 560-567.

Yang Y, Lv SY, Lyu SK, Wu D, Chen Q. The protective effect of apelin on ischemia/reperfusion injury. *Peptides*. 2015b; 63: 43-46.

Yang Y, Zhang XJ, Cui HY, Zhang C, Zhu CH, Li LT. Apelin-13 protects the brain against ischemia/reperfusion injury through activating PI3K/Akt and ERK1/2 signaling pathways. *Neurosci Lett*. 2014; 568: 44-49.

Yang YH, Wu WK, Tai EK, Wong HP, Lam EK, So WH, Shin VY, Cho CH. The cationic host defense peptide rCRAMP promotes gastric ulcer healing in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006; 318: 547-554.

Yue P, Jin H, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, Asagami T, Kundu RK, Reaven GM, Quertermous T, Tsao PS. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol-Endoc M*. 2010; 298: E59-E67.

Yue P, Jin H, Xu SM, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, Kundu RK, Reaven GM, Quertermous T, Tsao PS. Apelin Decreases Lipolysis via G(q), G(i), and AMPK-Dependent Mechanisms. *Endocrinology*. 2011; 152: 59-68.

Zanardo RCO, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *Faseb J*. 2006; 20: 2118-+.

Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, Wei L. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons. *Exp Cell Res*. 2010; 316: 1773-1783.

Zhang Q, Yao FR, Raizada MK, O'Rourke ST, Sun CW. Apelin Gene Transfer Into the Rostral Ventrolateral Medulla Induces Chronic Blood Pressure Elevation in Normotensive Rats. *Circ Res*. 2009; 104: 1421-U1339.

Zhang Y, Zhu J, Guo L, Zou Y, Wang F, Shao H, Li J, Deng X. Cholecystokinin protects mouse liver against ischemia and reperfusion injury. *Int Immunopharmacol.* 2017; 48: 180-186.

Zhang YM, Wei EQ, Hu X, Qiao WL, Shi Y, Xu M, Zhang JF. The role of nuclear factor-kappaB in the effect of angiotensin II in the paraventricular nucleus in protecting the gastric mucosa from ischemia-reperfusion injury in rats. *J Gastroenterol.* 2008; 43: 687-698.

Zhao FP, Guo Z, Wang PF. Calcitonin gene related peptide (CGRP) inhibits norepinephrine induced apoptosis in cultured rat cardiomyocytes not via PKA or PKC pathways. *Neurosci Lett.* 2010; 482: 163-166.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	İlknur	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Birsen	Tel no	0541 2155904
Doğum tarihi	09.03.1986	e-posta	eker_@windowlive.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	İstanbul Atatürk Lisesi	2004
Lisans	Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü	2008
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya ABD (Biyokimya)	2010
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD	2018

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD	2012-2018

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yökdil-2017	82,50

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Apelinin İskemi Reperfüzyon Hasarına Karşı Mide Mukozasını Koruyucu Etkisinde Kapsaisine Duyarlı Duysal Liflerin ve N.vagusun Rolü	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2015-2018
Strese Bağlı Bozulan Gastrointestinal Motilitede Apelin ve Kolesistokininin İlişkisinin Beyin Barsak Ekseninde Araştırılması	TUBİTAK-1001	2015-2017

Strese Bağlı Bozulan Mide Motilitesinde Santral Oreksin A'nın Rolü	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2015-2017
Periton Makrofajlarının Fonksiyonlarına Apelinin Etkisi	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2015-2016
Strese Bağlı Bozulan Gastrointestinal Motilitede Apelin'in Rolü	TUBİTAK-1001	2011-2013
Mide Mukozasında Strese Bağlı Değişikliklerde Apelinin Rolü	TUBİTAK-1001	2011-2013
Wistar Siçan İdrarında $\alpha 2u$ -Globulin Protein Ailesinin İzoformlarının İncelenmesi	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2009-2010

Burslar-Ödüller:

Yayımlar ve Bildiriler:

SCI, SSCI, AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Uysal V.N., Acar Aydemir N., **Birsen İ.**, Özcan F., Özbey Ünlü Ö., Soylu H., ve ark., "Apelin-APJ system is responsible for stress-induced increase in atrial natriuretic peptide expression in rat heart", Tissue & Cell, vol.51 pp.91-96, 2018.
2. **Birsen İ.**, Gemici B., Acar N., Üstünel İ., Uysal V.N., "The role of apelin in the healing of water-immersion and restraint stress-induced gastric damage.", Journal of Physiological Sciences, vol.67, pp.373-385, 2017.
3. Bülbül M., Sinen O., **Birsen İ.**, Uysal V.N., "Peripheral apelin-13 administration inhibits gastrointestinal motor functions in rats: The role of cholecystokinin through CCK1 receptor-mediated pathway", Peptides, vol.63, pp.91-97, 2017.
4. Izgüt-Uysal V., Gemici B., **Birsen İ.**, Acar N., Üstünel I., "The effect of apelin on the functions of peritoneal macrophages.", Physiological Research, vol.18, p489-496, 2017.
5. Özkan A., Parlak H., Tanrıöver G., Dilmaç S., Ülker S., **Birsen İ.**, et al., "The protective mechanism of docosahexaenoic acid in mouse model of Parkinson: The role of hemeoxygenase", Neurochemistry International, vol.101, pp.110-119, 2016.

6. Bülbül M., Uysal V.N., Sinen O., **Birsen İ.**, Tanrıöver G., "Central apelin mediates stress-induced gastrointestinal motor dysfunction in rats", American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, vol.310, no.4, pp.249-261, 2016.
7. Gemici B., Tan R., **Birsen İ.**, Uysal V.N., "Gastroprotective effect of orexin-A and heme oxygenase system", Journal of Surgical Research, vol.193, pp.626-633, 2015.
8. Mor F., Kiliç M.A., Özmen Ö., Yilmaz M., **Eker İ.**, Uran K. , "The effects of orchidectomy on toxicological responses to dietary ochratoxin A in Wistar rats", Experimental and Toxicologic Pathology, vol.66, pp.267-275, 2014.
9. Uysal V.N., Gemici B., **Birsen İ.**, Acar N., Üstünel İ., "The protective effect of apelin against water-immersion and restraint stress-induced gastric damage", The Journal of Physiological Sciences, vol.64, pp.279-289, 2014.

Diğer Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Tan R., Gemici B., Bülbül M., Üyüklü M., **Birsen İ.**, Uysal V.N., "Role of endogenous orexin-A in cargeenan-induced inflammation in rats", Current Trends in Immunology, vol.16, pp.45-55, 2015.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Avcı S., **Birsen İ.**, Özkan A., Parlak H., Soylu H., Kiliç L., et al., "The Effect of Docosahexaenoic Acid on TNF-alpha Level and Mast Cell Number in the Stomach of Mice in 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-induced Parkinson's Disease", 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, ANTALYA, TÜRKİYE, 18-21 Mayıs 2017, pp.212-212.
2. Gemici B., **Birsen İ.**, IZGUT-UYSAL V.N., "The Role of Apelin on Formation and the Healing of Water-Immersion and Restraint Stress-Induced Gastric Damage", 15th International Conference on Ulcer Research (ICUR), Ottawa, KANADA, 1-4 Ocak 2015, vol.60, pp.2548-2548.
3. Uysal V.N., Gemici B., **Birsen İ.**, Acar N., Üstünel İ., "Protective Effect of Apelin Against Stress-Induced Gastric Mucosal Damage in Rats", 13th Asia-Pacific

Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress, Bali, ENDONEZYA, 27-30 Ocak 2013, pp.

4. Bülbül M., Uysal V.N., **Birsen İ.**, Gemici B., Tanriöver G., "Central apelin contributes to stress-induced impaired gastric motility in rats", Joint Annual Meeting of the ASPET/BPS at Experimental Biology (EB), Boston, ABD, 1-4 Nisan 2013, pp.
5. Mor F., Kiliç M.A., Özmen Ö., **Birsen İ.**, Yılmaz M., Uran K., et al., "A Role For Testosterone In The Toxicity Of Ochratoxin A In Male Rats", Toxicology Letters, Stockholm, ISVEÇ, 17-20 Haziran 2012, vol.211, no.Supplement, pp.119-119.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Uysal V.N., **Birsen İ.**, Avcı S., Özkan A., Parlak H., Soylu H., et al., "Effect of Docosahexaenoic Acid on Apoptosis in the Stomach in 1-Methyl-4-Phenyl-1.2.3.6.-Tetrahydropyridine-induced Parkinson's Disease", Uluslararası Katılımlı 43. Fizyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 7-10 Eylül 2017, pp.86-86.
2. **Birsen İ.**, Uysal V.N., Soylu H., Acar Aydemir N., Üstünel İ., "The Role of Capsaicin-sensitive Sensory Nerves and N. Vagus in Gastroprotective Effect of Apelin", Uluslararası Katılımlı 43. Fizyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 7-10 Eylül 2017, pp.35-35.
3. Sinen O., Bülbül M., **Birsen İ.**, Uysal V.N., "The Role of Central Oxytocin in Chronic Homotypic Stress-induced Gastric Motor Adaptation", 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, pp.23-23.
4. **Birsen İ.**, Bülbül M., Sinen O., Özsoy Ö., Akkoyunlu G., Uysal V.N., "Central Apelin Inhibits Gastric Motility via APJ Receptor-mediated Vagal Efferent Pathway", 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, pp.24-24.
5. Bülbül M., Sinen O., **Birsen İ.**, Uysal V.N., "The Role of Central Arginine Vasopressin in Colonic Motor Maladaptation Induced by Chronic Heterotypic Stress", 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, pp.61-61.

6. **Birsen İ.**, Acar N., Uysal V.N., Üstünel İ., "Apelin attenuates the function of macrophages", Uluslararası Katılımlı XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, İZMİR, TÜRKİYE, 30 Nisan - 3 Mayıs 2016, ss.238-238.
7. Bülbül M., Sinen O., Uysal V.N., Özsoy Ö., Akkoyunlu G., Parlak H., et al., "The Protective Effect of Central Exogenous Neuropeptide-S on Parkinson's Disease", 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, pp.71-71.
8. Uysal V.N., Acar N., **Birsen İ.**, Özcan F., Özbey Ünlü Ö., Soylu H., et al., "The Effect of Apelin on the Expression of Atrial Natriuretic Peptide in Cardiac Tissue", 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DÜZCE, TÜRKİYE, 5-8 Eylül 2016, pp.26-26.
9. **Birsen İ.**, Gemici B., Acar N., Üstünel İ., Uysal V.N., "The Effect of Apelin on the Function of Peritoneal Macrophages", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015, pp.87-87.
10. Mor F., Özmen Ö. , Kiliç M.A., **Birsen İ.**, Yılmaz M., Uran K. , et al., "Testosteron Hormonunun Okratoksin A Toksisitesindeki Rolü", Ulusal Biyokimya Kongresi (Türk J. Biochem), KONYA, TÜRKİYE, 25-28 Eylül 2012, cilt.37, no.1, ss.28-28.
11. Mor F., Kiliç M.A., Özmen Ö., Yılmaz M., **Birsen İ.**, Uran K., et al., "İnsanlarda Potansiyel Karsinojenik Olan Okratoksin A'nın Kastre Edilmiş, Testosteron ve Antitestosteron Verilmiş Erkek Sıçanlar Üzerindeki Etkisinin Araştırılması", IV. Multidisipliner Kanser Araştırmaları Kongresi, BURSA, TÜRKİYE, 13-16 Aralık 2012, ss.1-1.
12. Kiliç M.A., Mor F., **Birsen İ.**, Yılmaz M., "Bir Sıçan İdrar Proteininin (alfa2uglobulin) Cinsiyet, Gelişim ve Testis Bağımlı Değişimi", 21. Ulusal Biyokimya Kongresi (Türk J. Biochem), İSTANBUL, TÜRKİYE, 28-31 Ekim 2009, cilt.34, no.s1, ss.96-96.
13. Aksu S., **Birsen İ.**, Yılmaz M., Kiliç M.A., "Sıçan idrarında bulunan alfa2uglobulin çeşitliliğinin 2-D elektroforez sistemiyle belirlenmesi", 21. Ulusal Biyokimya Kongresi (Türk J. Biochem), İSTANBUL, TÜRKİYE, 28-31 Ekim 2009, cilt.34, no.s1, ss.160-160.