T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

BETA-ENDORFİNİN KAN GLUKOZ DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Pınar PEKER AKALIN

Danışman

Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

KONYA-2007

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ…… 1

2. LİTERATÜR BİLGİ…….. 3

2.1. Endojen Opioidler ……..... 3

2.1.1. Enkefalinler……..... 3

2.1.2. Dinorfinler……..... 4

2.1.3. Endorfinler……..... 5

2.1.4. Endomorfinler……..... 5

2.1.5. Diğer opioid etkili peptidler……... 6

2.2. Opioid Reseptörler……..…… 7

2.2.1. Opioid reseptörlerin bulundukları yerler……...……..……...… 7

2.2.2. Opioid reseptör bağlanmasının fizyolojisi……....……...…… 9

2.2.3. Opioid reseptörlerin etkileri……..……..……..……. 10

2.2.4. Opioid antagonistleri…….…… 12

2.3. ß-endorfin ……. …….. 12

2.3.1. ß-endorfinin sentezi…….……..... 12

2.3.2. ß- endorfinin kimyasal yapı ve özellikleri…….……...……...……... 15

2.3.3. ß- endorfin fragmanları ve etkileri…….…….……... 16

2.3.4. ß- endorfinin bulunduğu yerler…….……..…… 16

2.3.5. ß- endorfin salınımına etki eden faktörler…….……..... 17

2.3.6. ß- endorfinin yıkımlanması…….……... 20

2.3.7. ß- endorfinin preopiomelanokortin peptidleriyle ilişkisi…….…….... 20

2.3.8. ß- endorfinin immun sistem ile ilişkisi…….…….. 22

2.3.9. ß- endorfinin üreme sistemi ile ilişkisi…….……..... 24

2.4. Diabetes mellitus ve ß-endorfin ile ilişkisi……..... 25

2.4.1. Pankreas…….……..... 25

2.4.2. İnsülin……. 26
2.4.3. İnsülinin yapı ve sentezi……..…….……. 26
2.4.4. İnsülinin salınımı, taşınması ve yıkımlanması…….. 29
2.4.5. İnsülin reseptörleri ve etki mekanizması……..... 32
2.4.6. Glukozun hücreye girişi ve glukoz transport (GLUT) proteinleri…… 33
2.4.7. Glukagon……..... 39
2.4.7.1. Glukagonun yapısı, sentezi, salınımı ve taşınması……. 39
2.4.7.2. Glukagon reseptörleri ……. 41
2.4.7.3. Glukagonun etkileri……..... 41
2.4.8. Diyabetes mellitus……..... 42
2.4.8.1. Tip I diyabet……..... 42
2.4.8.2. Tip II diyabet…….. 43
2.4.8.3. Diğer diyabet tipleri……..... 44
2.4.9. ß-endorfinin diyabetes mellitus ile ilişkisi...……..……... 44
3. MATERYAL ve METOT……..... 46
3.1. Materyal……..... 46
3.2. Metot…..... 46
3.3. Örnekleme ve analiz……..... 48
3.4. İstatistik……..... 52
4. BULGULAR……..... 53
5. TARTIŞMA SONUÇ……..... 60
6. ÖZET……..... 69
7. SUMMARY……..... 71
8. KAYNAKLAR…….……... 72
9. ÖZGEÇMİŞ……..... 93
10. TEŞEKKÜR……..... 94

KISALTMALAR

ACTH: Adrenokortikotropik hormon

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CLIP: Kortikotropin benzeri ara hipofiz peptidi

dk: dakika

Endo-1: endomorfin 1

Endo-2: endomorfin 2

i.c: intrakardiyak

i.c.v: intraserebroventriküler

i.p: intraperitoneal

i.v: intravenöz

Leu-enkefalin: Löyzin enkefalin

M: Molar

mM: Milimolar

Met-enkefalin: Metiyonin enkefalin

MSS: Merkezi sinir sistemi

nM: Nanomolar

POMC: Preopiomelanokortin

s.k: subkutan

STZ: Streptozotosin

α-MSH: Alfa-melanosit stimule edici hormon

β-end: Beta-endorfin

β-MSH: Beta-melanosit stimule edici hormon

ß-LPH:Beta-lipotropik hormon

γ-MSH: Gamma-melanosit stimule edici hormon

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı opioid peptidler ve reseptörleri……. 7

Tablo 2.2. İnsülin salınımı uyaran ve baskılayan etkenler…….…….... 32

Tablo 2.3 GLUT Proteinleri……..…….. 35

Tablo 3.1. Purina rat yemi bileşimi…… 46

Tablo 3.2. Gruplar ve denek sayıları……..…… 48

Tablo 4.1. Sağlıklı ve STZ-diyabetik ratlarda başlangıç kan parametreleri…….. 53

Tablo 4.2. Sağlıklı ratlarda ß-end'in kan parametrelerine etkileri……. 55

Tablo 4.3. STZ-diyabetik ratlarda ß-end'in kan parametrelerine etkileri…….. 55

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 4.1. Sağlıklı ve STZ-diyabetik ratlarda plazma parametreleri ……. 53

Grafik 4.2. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma ß-end düzeylerine etkileri……..….. 56

Grafik 4.3. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma ß-end düzeylerine etkileri…….. 56

Grafik 4.4. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukoz düzeylerine etkileri…….. 57

Grafik 4.5. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukoz düzeylerine etkileri…….. 57

Grafik 4.6. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma insülin düzeylerine etkileri…….. 58

Grafik 4.7. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma insülin düzeylerine etkileri…….. 58

Grafik 4.8. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukagon düzeylerine etkileri…….. 59

Grafik 4.9. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukagon düzeylerine etkileri…….. 59

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. ß-end'in tahmin edilen bağlanma bölgeleri……..... 12

Şekil 2.2. POMC'nin SPC3 ve SPC2 enzimleri tarafından işlenmesi……..... 13

Şekil 2.3. POMC ve ilgili peptidler…….……..... 14

Şekil 2.4. İnsan ß-end molekülü…….. 15

Şekil 2.5. Rat ß-end molekülü……. 15

Şekil 2.6. İnsan insülin molekülü….……... 27

Şekil 2.7. İnsan insülininin sentez aşamaları……... 28

Şekil 2.8. Domuz proinsülin molekülü ……..... 28

Şekil 2.9. İnsülinin depo formu……... 29

Şekil 2.10. Beta-hücresinde insülinin salınımı ……... 31

Şekil 2.11. İnsülin reseptörü…….……... 33

Şekil 2.12. GLUT proteinlerinin hücre membranı üzerindeki yapısal durumu…….. 34

Şekil 2.13. Glukagon molekülü…….. 39

Şekil 2.14. Glukagonun pankreasta ve bağırsaklarda posttranslasyonal işlenmesi …... 40

Şekil 2.15. Glukagonun etki mekanizması…….…… 42

1. GİRİŞ

Morfin ve reseptörlerinin keşfinden sonra ilk kez 1975 yılında ağrı kesici etkinlik gösteren endojen maddeler izole edilerek peptid yapıda oldukları, daha ileri yıllarda ise vücudun bu ağrı kesicilerinin fizyolojik ve patolojik olgulardaki etkinliği belirlendi. Önemli opioid peptidlerden biri olan ß-endorfinin (ß-end) fonksiyonları ayrıntılı bir şekilde araştırılmakta, ağrı kesici etkisinin yanında sinir sistemi, üreme sistemi, immun sistem ve kardiyovasküler sistemle olan ilişkileriyle ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. ß-end'in akupunktur, egzersiz, stres, heyecan gibi faktörlerle salınımı artmakta, anılan bu durumlarda aynı zamanda plazma glukoz düzeyleri de yükselmekte ve ß-end'in kan glukoz düzeyleriyle ilişkisinin olabileceği düşünülmektedir. Fizyolojik glukoz düzeylerinde ß-end'in belirgin etkisinin olmadığı, yüksek glukoz düzeylerinde (in vitro veya in vivo glukoz infüzyonu, diyabetes mellitus) ise etkilerinin olabileceği ileri sürülmektedir.

Diyabetes Mellitus; insülin yetersizliği (Tip I), yokluğu veya reseptörüne direnç gelişmesi (Tip II) gibi sebeplerle kan glukoz düzeyinin uzun süreli yüksek seyretmesiyle gelişen ve tüm yaş gruplarında görülebilen bir metabolik bozukluk olarak tanımlanır. Uzun süreli hiperglisemide glikozillenme ve bununla ilgili olarak kalp, böbrek, göz ve sinirlerde mikro ve makrovasküler hasarlar meydana gelir. Damarlar travma ve ateroskleroza duyarlı hale gelerek kalp-böbrek yetmezliklerine zemin hazırlamaktadır. Şeker hastalarının koroner kalp hastalığı ve felce yakalanma riskinin 2-4 kat fazla olduğu bildirilmektedir. Dünyada günümüzde tahmin edilen diyabetli sayısı 200-240 milyondur. Uluslararası Şeker Hastalığı Vakfına (International Diabetes Federation) göre, dünyada 2025 yılına kadar 333 milyon kişinin şeker hastası olacağı tahmin edilmektedir. Refah seviyesi yüksek toplumlarda diyabetin görülme oranının % 7 olduğu, her yıl yaklaşık 3 milyon 800 bin kişinin hiperglisemi ve komplikasyonları sebebiyle öldüğü, diyabetin kanser ve kalp hastalıklarından sonra ölüme sebep olan hastalıklar içinde 3. sırada yer aldığı ileri sürülmektedir.

Hayvanlardan sıklıkla kedi ve köpeklerde görülen Diyabetes Mellitus, genetik yatkınlık, obezite, yetersiz beslenme, hormonal düzensizlikler, Kuşing Sendromu, stres, uzun süreli kortikosteroid ve progesteron kullanımı gibi etkenlerle pankreas hasarına (pankreatitis) bağlı olarak gelişmektedir. Kedi ve köpeklerdeki koruma ve tedavi sürecinin insanlarda olduğu gibi diyet, egzersiz veya oral ilaçlarla sağlanamadığı hallerde günlük

insülin enjeksiyonları gerekmekte, tedavi edilemeyenlerde insanlardakine benzer komplikasyonlar görülebilmektedir.

Tip I diyabet tedavisinde başlangıçta insülin kullanımı etkin olmasına karşın zamanla etkinliğinin azalması, Tip II diyabette ise insüline duyarlılığın yetersiz kalması, araştırıcıları hücrelere glukoz girişini insülinden bağımsız olarak artıran maddelerle ilgili çalışmalara yöneltmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Endojen Opioidler

Morfinin ağrı kesici etkinliğinin ve reseptörlerinin belirlenmesinden sonra morfini bağlayan reseptörlerin morfin için gelişmiş olamayacağı ve vücudun kendi içinde morfin benzeri maddeler bulunması gerektiği düşüncesinden hareketle araştırıcılar, 1975 yılında domuz beyninde opiyum aktivitesi gösteren met-enkefalin ve leu-enkefalin peptidlerini izole ettiler (Hughes ve ark 1975, Noyan 1996). Enkefalinlerin keşfinden bir yıl sonra hipofiz ara lobundan daha uzun zincirli 'endorfinler' izole edilmiştir (Li 1981). İlk kez domuz beyninden izole edilen diğer bir opioid (ağrı kesici) peptid de dinorfindir (Noyan 1996). Morfin opioid reseptörlerden μ (mü), δ (delta) ve κ (kappa) reseptörlere ilgi duymaktadır (Kaya 1997).

Endojen opioidler; enkefalinler, dinorfinler, endorfinler, endomorfinler ve diğer opioidler olmak üzere sınıflandırılırlar.

2.1.1. Enkefalinler

Proenkefalinden köken alan enkefalinlerin metiyonin-enkefalin (Met-enkefalin) ve Löysin-enkefalin (Leu-enkefalin) olmak üzere 2 tipi vardır. Met-enkefalin tyr-gly-gly-phe-met amino asitlerinden, leu-enkefalin ise tyr-gly-gly-phe-leu amino asitlerinden oluşur (Hughes ve ark 1975). Enkefalinler yoğun olarak beynin striatum ve diensefalonu, omurilik, hipofiz ara lobu ve adrenal medulla kromaffin hücrelerinde, daha az oranda ise mide-bağırsak sinir uçları ve ekzokrin bezlerde bulunur (Rossier 1977, Yılmaz 1999). Türlere göre değişen adrenal medulla enkefalin miktarları ratlarda 0.29, kedilerde 3.20, köpeklerde 21.2, sığırlarda ise 20 nmol/g'dır (Viveros ve ark 1979).

Enkefalinler ilgili hücrelerdeki opioid reseptörlerden öncelikle δ ve Z (Zeta)-reseptörlere yüksek ilgiyle bağlanır (Li 1981, Zagon ve ark 1993). Leu-enkefalin δ-reseptörleri aracılığı ile rat corpus striatumunda asetil kolin salınımını engellerken (Mulder ve ark 1984), met-enkefalin genç (6 günlük) rat serebellumunda opioid büyüme faktörüyle ilişkili reseptör olarak adlandırılan Z-reseptörlere bağlanarak sinir hücre gelişiminde rol alır (Zagon ve ark 1991, Zagon ve ark 1993). Ayrıca met-enkefalinin Z-reseptör aracılı etkilerinin derinin yenilenmesinde ve deri yaralarının iyileşme sürecinde etkili olabileceği iddia edilmektedir (Zagon ve ark 1996). Bir met-enkefalin analoğu olan [D-Ala^2, D-Met^5]-metiyonin enkefalin (DAME)'in μ- reseptör aracılığıyla STZ-diyabetik ratlarda arteriel

kan basıncını düşürdüğü, sağlıklılarda ise yükselttiği bildirilmiştir (Severson ve Tackett 1998).

Enkefalinlerin reaktif oksijen türlerini ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, hidroksil radikallerinin deoksi riboza olan zararlı etkilerini doza bağlı olarak bloke ettiği, süperoksit radikalini ise ortamdan uzaklaştırdığı bildirilmektedir. Met ve leu-enkefalinin, 100 µM dozlarının lipid peroksidasyonunu % 50 ve % 52 oranında azalttığı belirlenmiştir (Fontana ve ark 2001).

İnsan, rat, köpek ve kobay pankreasında enkefalin immunreaktivite bulunduğu ve yoğunlaşmanın langerhans adacıkları endokrin hücrelerinde olduğu bildirilmektedir (Hermansen 1983, Timmers ve ark 1986, Adeghate ve Ponery 2001). İn vitro köpek pankreasında met-enkefalinin 1-100 nM dozlarda naloksonla geri dönüşümlü olarak somatostatin salınımını engellediği, insülin salınımını ise artırdığı belirtilmektedir (Hermansen 1983). Ratlarda in vitro leu-enkefalin 10^{-12} M ve 10^{-6} M dozlarda insülin, 10^{-12} ve 10^{-9} M dozlarda glukagon salınımında artışa sebep olurken, STZ diyabetiklerde insülin düzeylerini değiştirmeksizin glukagon düzeylerini düşürmektedir (Adeghate ve Ponery 2001). Aynı araştırıcılar STZ-diyabetikler ile sağlıklılar arasındaki farklılığı, STZ'lilerde beta-hücrelerininin geri dönüşümsüz olarak tahrip edilmesiyle ilişkilendirmektedirler.

İnsan tükrüğünde enkefalinlerin hidrolizini sağlayan 3 tip peptidaz varlığı ortaya konulmuştur: 1- aminopeptidazlar, 2- dipeptidil amino peptidazlar ve 3- dipeptidil karboksipeptidazlar. Substrat yıkılımının erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek olduğu da belirlenmiştir (Marini ve Roda 2000).

2.1.2. Dinorfinler

Prodinorfinden köken alan dinorfinler; dinorfin A (17 aminoasit), dinorfin B (13 aminoasit), α-neoendorfin (10 aminoasit) ve β-neoendorfin (9 aminoasit) olmak üzere 4 gruba ayrılır. Dinorfin A doudenumda, dinorfin B arka hipofiz ve hipotalamusta, α-neoendorfin ve β-neoendorfin ise hipotalamusta bulunmaktadır (Noyan 1996, Yılmaz 1999). Dinorfin A (1-17) ve alfa-neoendorfinin insan spinal kordunda en fazla sakral daha sonra sırasıyla lumbar, servikal ve torasik bölgelerde bulunduğu bildirilmektedir (Prezwlocki ve ark 1983). Ratlarda, ilgili beyin bölgelerinde (internal kapsül, substansia nigra, hipotalamus, nükleus akumbens, hipokampüs, medulla oblongata) dinorfin ve alfa-

neo-endorfinin ayrı ayrı bulunmayıp, sinir fiberleri içinde birlikte lokalize olduğu belirlenmiştir (Weber ve ark 1982).

Dinorfinler öncelikle κ reseptörlere ilgi gösterirler (Chavkin ve ark 1982, Kaya 1997). Ayrıca dinorfin A'nın μ ve δ, dinorfin A ve B'nin, opioid reseptör benzeri reseptörlere (ORL1, opioid receptor like-1, orfanin) ilgi duyduğu bildirilmektedir (Zhang ve Yu 1995, Zhang ve ark 1998). Orfanin reseptörlerinin spesifik agonisti olan nosiseptin (orfanin FQ), 17 amino asitten kurulu ve dinorfin A'nın ilk 4 amino asit sekansıyla benzerlik gösteren bir peptiddir. Farelerde orfanin reseptörlerinin limbik sistem, hipotalamus ve beyin kökünde lokalize olduğu belirlendiğinden öğrenme, hafıza, duyma yeteneği, su dengesi, besin alımı ve kan basıncının düzenlenmesi gibi görevlerinin olabileceği ileri sürülmektedir (Houtani ve ark 2000).

Dinorfinler güçlü olarak ağrı keserler (Yılmaz 1999), ß-neoendorfinin kobay ileum testinde opioid etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca dinorfinler rat korpus striatumunda dopamin salınımını inhibe ederler (Minamino ve ark 1981, Mulder ve ark 1984).

Farelerde in vitro pankreas langerhans adacık hücrelerinde yüksek doz glukozun (7-15 mM dozda, 24 saat boyunca) prodinorfin mRNA ve dinorfin A düzeylerini yükselttiği (Josefsen ve ark 1998), 6 mM glukoz varlığında ve $5.8x10^{-12}$ M - $5.8x10^{-9}$ M dozlarda dinorfin B'nin insülin salınımını artırdığı, daha yüksek dinorfin B dozlarında ve farklı glukoz düzeylerinde (2-20 mM) ise herhangi bir etkisinin görülmediği bildirilmektedir. Dinorfin B'nin bu etkilerinin μ ve δ antagonistleri tarafından bloke olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca dinorfin adacık hücrelerine $^{45}Ca^{+2}$ girişini ve hücre içi sAMP düzeyini artırmıştır (Green ve ark 1983).

2.1.3. Endorfinler

Endorfinlerin; α-endorfin (16 amino asitli), β-endorfin (31 aminoasitli) ve γ-endorfin (17 aminoasitli) olmak üzere 3 tipi vardır (Akar 1997).

2.1.4. Endomorfinler

İlk kez 1997 yılında sığır beyninden izole edilen endomorfinlerin endomorfin-1 (endo-1) ve endomorfin-2 (endo-2) olmak üzere 2 tipi vardır. Diğer opioid peptidlerin (enkefalinler, dinorfinler, endorfinler) amino (N-) terminallerinde yer alan ilk beş amino asit dizilimi birbirinin aynı iken, endomorfinlerin dizilimi farklıdır. Endo-1, Tyr-Pro-Trp-

Phe-NH2, Endo-2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH2 amino asit dizilimine sahiptir. Ratlarda i.c.v. [^{3}H]- tyr-pro'nun (endo-1 ve 2'nin amino terminal iki amino asiti) endo-1 ve 2 düzeylerini artırdığı belirlendiğinden, endomorfin sentezinde tyr-pro'in biyosentetik bir prekürsör olabileceği ileri sürülmektedir (Zadina ve ark 1997, Ronai ve ark 2006).

Endomorfinler sığırlarda talamus, hipotalamus striatum ve frontal korteks bölgelerinde immunreaktivite gösterir (Zadina ve ark 1997).

Endomorfinler μ-reseptörlerin selektif agonistidir ve ağrı kesici etkinlik gösterirler (Zadina ve ark 1997). Mizoguchi ve ark. (2001), fare spinal kordunda endo-1 ve endo-2'nin G-proteinleri aktive ettiğini ancak bu peptidlerin diğer μ-agonistlerinin G-proteinlerine olan etkinliğini azalttığından, μ reseptörlerin parsiyel agonisti olduklarını ileri sürmektedirler. Nevo ve ark. (2000), in vitro hamster ovaryum hücrelerinde endomorfinlerin üç tip adenil siklaz (I, II ve V) enzimlerine olan etkisini araştırmışlar ve akut ve kronik uygulamalarının farklı etkilere sebep olduğunu belirlemişlerdir. Adenil siklaz II'nin, akut uygulama ile uyarılırken, kronik uygulama ile inhibe olduğunu, adenil siklaz I ve V'in ise akut uygulama sonrasında inhibe olurken, kronik uygulama sonrasında aktive olduğunu bildirmişlerdir.

2.1.5. Diğer opioid etkili peptidler

Diğer opioid etkili peptidler sitokrofinler, β-kasomorfin, normorfin , hemorfin-4 ve hemorfin-5 olmak üzere 5'e ayrılmaktadır. Sitokrofinler, mitokondrial sitokrom b'den, hemorfin-4 ve 5 ise sığır hemoglobin molekülünden izole edilmişlerdir. Hemorfin-4 (tyr-pro-trp-thr) sığır hemoglobin molekülünün β-zincirinin 34-37., hemorfin-5 (tyr-pro-trp-thr-gln) ise 34-38. amino asit sekanslarıyla aynıdır (Brantl ve ark 1985-1986).

Opioid peptidler MSS (merkezi sinir sistemi) ve bazı periferal dokularda (omurilik, immun sistem hücreleri, sindirim kanalı) bulunan opioid reseptörlere bağlanarak ağrı kesici etkilerini ve diğer fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirirler (Kaya 1997).

2.2. Opioid Reseptörler

Günümüzde mü (μ), kappa (κ), delta (δ), epsilon (ε) (Kaya 1997), sigma (σ) (Wiesner ve Moss 1986), lambda (λ) (Gravel ve Sadee 1983, Kubik ve ark 1990) ve zeta (Z) (Zagon ve ark 1991) olmak üzere 7 tip opioid reseptörün varlığı belirlenmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Bazı opioid peptidler ve reseptörleri (+ : affinite, - : non-affinite) (Johnson ve Lambert 2002).

Ligand	μ	δ	κ	Nosiseptin
ß-endorfin	+++	+++	++	-
Leu-enk	+	+++	-	-
Met-enk	++	+++	-	-
Dinorfin A	++	+	+++	-
Endomorfin	+++	-	-	-
N/OFQ	-	-	-	+++

2.2.1. Opioid reseptörlerin bulundukları yerler

Opioid reseptörler MSS'de; limbik sistem ve omurilikte yüksek yoğunlukta bulunurlar. MSS'de opioid reseptörlerin dağılımı hayvan türlerine göre farklılık göstermektedir. Morfin gibi maddelere MSS uyarısıyla cevap veren kedi, at, keçi, koyun ve sığırlarda amigdala ve frontal kabuktaki (Limbik sistemin bölgeleri) opioid reseptörlerin sıklığı, MSS baskısıyla cevap verenlerdekinin (insan, maymun ve köpek) yaklaşık yarısı kadardır (Kaya 1997).

Wittert ve ark (1996), ratlarda μ, δ ile κ opioid reseptörlerin MSS ve perifer dokulardaki dağılımını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; hipotalamus ve serebral kortekste her üç reseptör yoğunluğunun benzer olduğu, serebellumda δ-reseptörleri bulunmazken, μ ve κ reseptörlerin bulunduğu, perifer dokulardan ince ve kalın bağırsak, adrenal bez, böbrek, akciğer, dalak, testis, ovaryum ve uterusta her üç reseptörün de farklı oranlarda, μ-reseptörlerin periferdeki organlardan en fazla dalakta yer aldığını bildirmişlerdir. Rat karaciğer, dalak, adrenal bez, vas deferens ve testisinde ß-end bağlayıcı

reseptörleri bulunmakta (Schulz ve ark 1981, Dave ve ark 1985), bunlardan vas deferenste bulunanların ε reseptörleri olduğu bildirilmektedir (Schulz ve ark 1981). Sprague Dawley ratlarda karaciğerde bulunan opioid reseptör tiplerinin μ, δ ve κ olduğu ve her üç reseptörün de birbirine yakın düzeylerde bulunduğu belirlenmiştir. Karaciğerde ve hepatositlerde belirlenen ß-end ve met-enkefalin immunreaktivite düzeylerinin beyne göre daha yüksek olduğu da aynı çalışmada gösterilmiştir. Çeşitli organ ve dokularda ß-end ve met-enkefalin immunreaktivite düzeyleri şu şekildedir; beyinde 38.5, karaciğerde 51, pankreasta 170, hipofizde 610, hepatositlerde 70.5 pmol/doku olarak belirlenirken, pmol/g yaş doku olarak ise beyinde 26.1, karaciğerde 6.1, pankreasda 212, hipofizde 59532, ve hepatositlerde 10.1 pmol/g yaş doku düzeylerinde olduğu saptanmıştır (Khawaja ve ark 1990).

Rat mide ve proksimal kolonunda μ ve κ reseptör expresyonunun diğer gastrointestinal bölgelere göre daha yüksek, beyinden ise daha düşük olduğu bildirilmektedir (Fickel ve ark 1997). Ratlarda immunohistokimyasal olarak gastrointestinal kanal boyunca μ ve κ opioid reseptörlerin bulunduğu, özellikle mide, ileum, proksimal ve distal kolonda yayılım gösterdikleri, reseptörlerin bu bölgelerde bulunan myenterik pleksus, sinir lifleri ve interstisyal Kajal hücrelerinde bulunduğu bildirilmiş, düz kas hücrelerinde ise ilgili reseptörlerin varlığı belirlenememiştir (Bagnol ve ark 1997).

İnsan deri sinir liflerinde μ-opioid reseptör 1A izoformunun varlığı belirlenmiştir. Boyama metodları ile μ-reseptörlerinin bir çok sinir lifinde akson boyunca seyrettiği, ayrıca derin ve yüzeysel retiküler dermis, papillar dermisin küçük sinirleri ve dermal epidermal birleşme bölgesinde bulunduğu, büyük sinir liflerinde ise aksonların neredeyse yarısının μ reseptörler için boya aldığı bildirilmiştir. Farklı vücut bölgelerinden alınan deri biyopsi örneklerinde (yüz, kafa, bacaklar, gövde, el ve ayak) μ reseptörlerin bulunduğu bölgeler aynı şekilde gözlenmiştir. Mu-reseptör 1B izoformunun beyinde ve spinal kordda varlığı gözlenirken, derideki sinir liflerinde varlığı saptanamamıştır (Stander ve ark 2002).

Fare makrofaj hücre hattı P388d1'de δ ve κ reseptörlerinin, ayrıca MOLT-4 (T-hücresi) ve IM-9 (B hücresi) hücre hatlarında opioid reseptörlerin varlığı belirlenmiştir (Carr ve ark 1989).

Opioid benzeri reseptör (ORL1) olarak adlandırılan reseptörler, G-proteinleri ailesine bağlıdır ve yapısal olarak % 49-50 oranında μ, δ ve κ reseptörlere benzerlik

gösterirler. Bu reseptörlerin farelerde MSS'nde limbik sistem, hipotalamus, serebral korteks ve dorsal rafe nükleide (raphe nuclei) ayrıca medulla spinaliste bulunduğu bildirilmekte ve merkezi fonksiyonlarının olabileceği ileri sürülmektedir. Non-selektif opioid agonisti etorfin, bu reseptörlere etkiyerek sAMP'yi inhibe etmektedir. ORL1 reseptörleri opiyatlar ve somatostatin ile uyarılabilmekte, ancak ORL1 reseptörlerinin klasik opioid etkilerden farklı etkiler de gösterebilmektedir (Mollereau ve ark 1994, Lachowicz ve ark 1995).

Adrenal medulla ve pankreasta opioid reseptörler bulunmaktadır. μ reseptörlerin sığırlarda tüm adrenal medullada yaygın ve az sayıda bulunduğu, δ reseptörlerin adrenal medullanın merkezinde noradrenalin içeren bölgede lokalize olduğu, κ reseptörlerin ise sinir yolları ve kromaffin hücrelerde bulunduğu bildirilmektedir (Bunn ve ark 1988). Sprague Dawley ratlarda pankreas langerhans adacıklarında μ, δ ve κ reseptörlerinin bulunduğu belirlenmiştir (Khawaja ve ark 1990). Delta reseptörleri bağırsaklardaki nöronlarda μ reseptörleriyle birlikte bulunurlar (Kaya 1997).

2.2.2. Opioid reseptör bağlanmasının fizyolojisi

Opioid peptidlerin reseptörlere bağlanması ortamın pH'sına bağımlılık gösterir; özgün şekilde bağlanma pH 7.4'de (7-8 arası) gerçekleşmektedir (Li 1981), pH 5'in altında ve 10'un üzerinde bağlanma oluşmaz (Kaya 1997). Peptidin reseptöre bağlanma bölgesinde anyonik bir grup bulunmakta ve bağlanma için peptidin amino grubunun protonize olması gerekmektedir. Alkali pH'da peptid deiyonize olmakta, asit pH'da ise reseptörün anyonik grubu protonize olmaktadır. Reseptöre bağlanmada iyonların etkileri de araştırılmış, Na iyonlarının (100 mM NaCl) agonist bağlanmasını % 40 oranında azalttığı, antagonistlerin bağlanmasını ise çok az düzeyde artırdığı veya etkilemediği bildirilmektedir. Mn, Mg, Ca gibi divalent iyonlar ise agonist bağlanmasını belirgin olarak artırırken, antagonist bağlanmasını çok az düzeyde etkilemektedir (Li 1981). Law ve ark (1979) ise, reseptöre bağlanmada Na ve diğer monovalent katyonlar, divalent katyonlar (Ca, Mg, Mn), GTP, tripsin, kimotripsin, fosfolipaz A_2'nin inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Agonist-reseptör kompleksi antagonist-reseptör kompleksine göre daha hidrofobik olmaktadır. Sülfidril grubu taşıyan maddeler, alkaloidler, enkefalinler ß-end'in reseptöre bağlanmasını belirgin olarak inhibe ettiğinden, peptidin taşıdığı sülfidril grubunun bağlanma bölgesine yakın olduğu sanılmaktadır (Li 1981).

2.2.3. Opioid reseptörlerin etkileri

Mu-reseptörlerin μ_1 ve μ_2 olarak bilinen iki alt tipi vardır. μ_1-reseptörleri morfin kodein vb opiyatlar ile endorfin ve enkefalinlerin beyin düzeyinde ağrı kesici etkilerine, μ_2-reseptörleri ise solunumun baskılanması, kusma, öfori ve bağımlılık yapıcı etkilere aracılık ederler. κ-reseptörler, opioidlerin omurilik düzeyindeki ağrı kesici, uyku doğurucu, disfori ve halüsinasyon yapıcı etkilerine, σ reseptörler opioidlerin MSS, kalp-damar ve solunum sistemine olan uyarıcı etkilerine ve δ reseptörler de, kalp-damar ve solunum sistemine yönelik baskılayıcı etkileri ile davranışlara olan etkilerine aracılık ederler. Delta reseptörlerin kan kaybı veya damar direncinin değişmesiyle ile ilgili dolaşım şokunun gelişmesinde önemli rol oynadıkları ve bu esnada salınan β-endorfinle uyarılarak kalp kasının kasılma gücünün zayıflamasına ve kan basıncının düşmesine sebep oldukları bildirilmektedir (Kaya 1997).

Opioid reseptörler hücre membranında bulunan G-proteinler aracılığı ile etkilerini gösterirler ve adenilat siklaz ile sıkı bir etkileşim içindedirler. G-proteinler, GTP varlığında adenilat siklazın etkinliğini baskılar veya uyarırlar. Adenilat siklazın stimülasyonu G_s (G-stimulatör), inhibisyonu ise G_i (G-inhibitör) aracılığı ile olmaktadır. Opioidlerin ilgili reseptörlere bağlanarak adenilat siklazı inhibe edici etkisi G_i proteinleri üzerinden olmakta ve bu etkinin oluşması için Mg ve guanozin nükleotidlere (GTP, GDP) ihtiyaç duyulmaktadır (Childers 1988). Mizoguchi ve ark (2001), ß-end'in rat spinal kordunda G-proteinlerini aktive ederek guanozin-5'-o-(3-[^{35}S]thio) trifosfat (GTP) bağlanmasını belirgin olarak artırdığını bildirmişlerdir. Koski ve Klee (1981), opiyatların ve opioid peptidlerin GTP'nin hidrolizini artırarak sAMP'yi inhibe ettiği bildirmektedirler.

Genel olarak opioid peptidler G-proteinlerle ilişkili olarak 3 şekilde etkilerini gösterirler:

1- Adenilat siklazı etkileyerek (Dave ve ark 1985, Koski ve Klee 1981)

2- K^+ ve Ca^{++} iyon kanallarını etkileyerek (Kaya 1997)

3- Fosfatidil-inositol döngüsünü etkileyerek (Williams ve Clouet 1982)

Dave ve ark. (1985), in vitro yapılan bir çalışmada karaciğerde ß-end bağlayan reseptörlerin sAMP düzeyini yükselttiğini bildirmektedirler. ß-end 0.5 x 10^{-10} M dozda in vitro karaciğer hücre membranlarında adenilat siklaz aktivitesini % 148 oranında artırmıştır. Ayrıca optimum bağlanmada magnezyum etkili olmuştur. ß-end'in karaciğerde

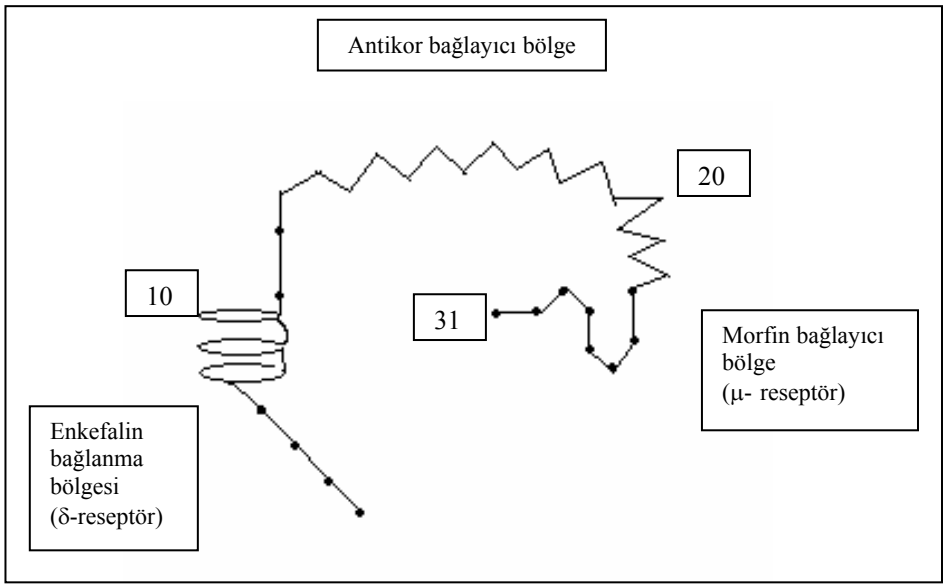
iki tip reseptöre bağlandığı, bunlardan birine yüksek, diğerine düşük affinite gösterdiği belirlenmiş, asetile olmayan ß-end, asetil ß-end (1-27), asetil ß-end (1-31) ve insan ß-lipotropin ile bağlanmanın % 80-100 oranında inhibe olduğu gözlenmiştir. Nalokson ve morfin ise karaciğere ß-end bağlanmasını inhibe edememiştir.

Opioidler sAMP üzerinden fosforilasyonu inhibe etmektedir. ß-endorfinin beyin hücre zarında bulunan 2 membran proteininin fosforilasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Ehrlich ve ark 1980). Ratlarda morfin, met-enkefalin, leu-enkefalin gibi maddelerin striatal sinaptik hücre membran proteinlerinin protein kinazlar tarafından fosforilasyonuna bifazik etkilerinin olduğu, opioid uygulamasını takiben ilk 1-5 dk içinde fosforilasyonun arttığı, 10-20 dk sonra ise fosforilasyonun hızlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (Williams ve Clouet 1981). Uzun süreli morfin alımında reseptörlerle ilgili tolerans gelişir, adenilat siklaz aktivitesi ve sAMP düzeyi bazal düzeye düşer, morfinin kesilmesini takiben tekrar adenilat siklaz aktivitesi yükselmeye başlar (Kaya 1997).

Johnson ve ark. (1994) μ-reseptörlerin G-proteinlere bağlı olarak fosfatidil-inositol döngüsünü inhibe ettiğini bildirirlerken, Narita ve ark. (2000), δ reseptörlerin fosfolipaz C ve fosfatidil-inositol döngüsünün stimüle ettiğini belirlemişlerdir.

Endojen opioidlerin fizyolojik antagonistleri bulunmaktadır. Kolesistokinin duodenum mukozasından salgılanan bir fizyolojik opiyat antagonistidir (Noyan 1996).

ß-end, opioid reseptörlerden μ, δ (Kubik ve ark 1990), σ (Wiesner ve Moss 1986) ve ε-reseptörlere (Xu ve ark 1992) ilgi göstermektedir. Beyinde ß-end bağlayan reseptörlerin striatum, talamus, amigdala, hipotalamus, septum, beyin kökü ve orta beyinde lokalize olduğu, serebellumda ise spesifik bağlanmaya rastlanılmadığı bildirilmiştir (Law ve ark 1979).



Şekil 2.1. ß-end'in tahmin edilen bağlanma bölgeleri (Rakamlar amino asit sayılarını vermektedir) (Li 1981).

2.2.4. Opioid antagonistleri

Nalokson, diprenorfin, levallorfan ve naltrekson tam opioid antagonistleri iken, nalorfin, nalbufin, pentazosin, siklazosin ve butorfanol kısmi antagonistlerdir. Nalokson, μ, κ ve σ reseptörlerinin her üçünün de tam antagonisti iken, nalorfin μ ve σ reseptörlerinin tam antagonisti, κ reseptörlerinin ise kısmi antagonistidir (Kaya 1997).

2.3. ß-endorfin

2.3.1. ß-endorfinin sentezi

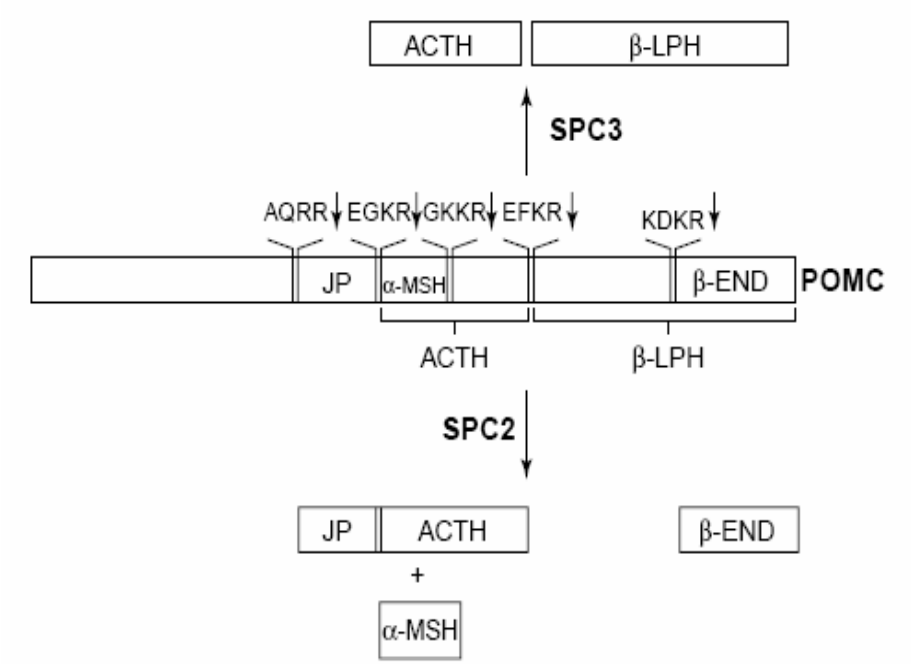
ß-end, 285 amino asitten kurulu bir makropeptid olan preopiomelanokortin (POMC)'den köken alır. POMC, merkezi olarak hipofizin ön ve ara lopları (Murray 1993), hipotalamus (Angelogianni ve ark 2000) ayrıca beynin diğer bazı bölgelerinde, periferal olarak ise gastrointestinal sistem, karaciğer, akciğer, böbrek, (Debold ve ark 1988), plasenta, ovaryumlar (Melner ve ark 1986), testisler (Fabbri ve Dufou 1988) adrenal medulla (Hsu ve ark 2002) ve immun sistem hücrelerinde (Murray ve ark 1993) sentezlenir. Öncelikle hipofiz ön lobundan sentezlenen POMC, adrenokortikotropik hormon (ACTH), ß-lipotropik hormon (β-LPH) ve ß-end'in prekürsör molekülü olarak kabul edilir. Bazı hayvanlarda (kurbağalar, sürüngenler, balıklar) ara hipofizde POMC'den α-MSH (melanosit stimule edici hormon), β-MSH, γ-MSH, CLIP (kortikotropin benzeri ara hipofiz peptidi) ve ß-end oluşturulur. İnsan ve bazı hayvan türü fötusunda hipofiz ara

lobu aktif olmasına karşın, yetişkinlerde rudimenterdir (Murray ve ark 1993, Yılmaz 1999). Ancak yetişkin ratlarda POMC, hipofizin hem ön hem de ara lobunda sentezlenebilmektedir (Acs ve ark 1997). Dişi Wistar ratlarda POMC, hipotalamusta doğumdan sonraki ilk 13. günde, ön hipofiz lobunda ilk 15. günde, ara lobda ise ilk 16. günde görülmeye başlar (Hindelang ve ark 1990). Ratlarda ß-end düzeyi postnatal olarak hipofizde değişime uğramaktadır; doğumdan sonra ß-end ara lop düzeyi sürekli olarak artarken ön lop düzeyi azalmaktadır (Allen ve ark 1984).

POMC ilişkili peptidler 3 grupta incelenmektedir;

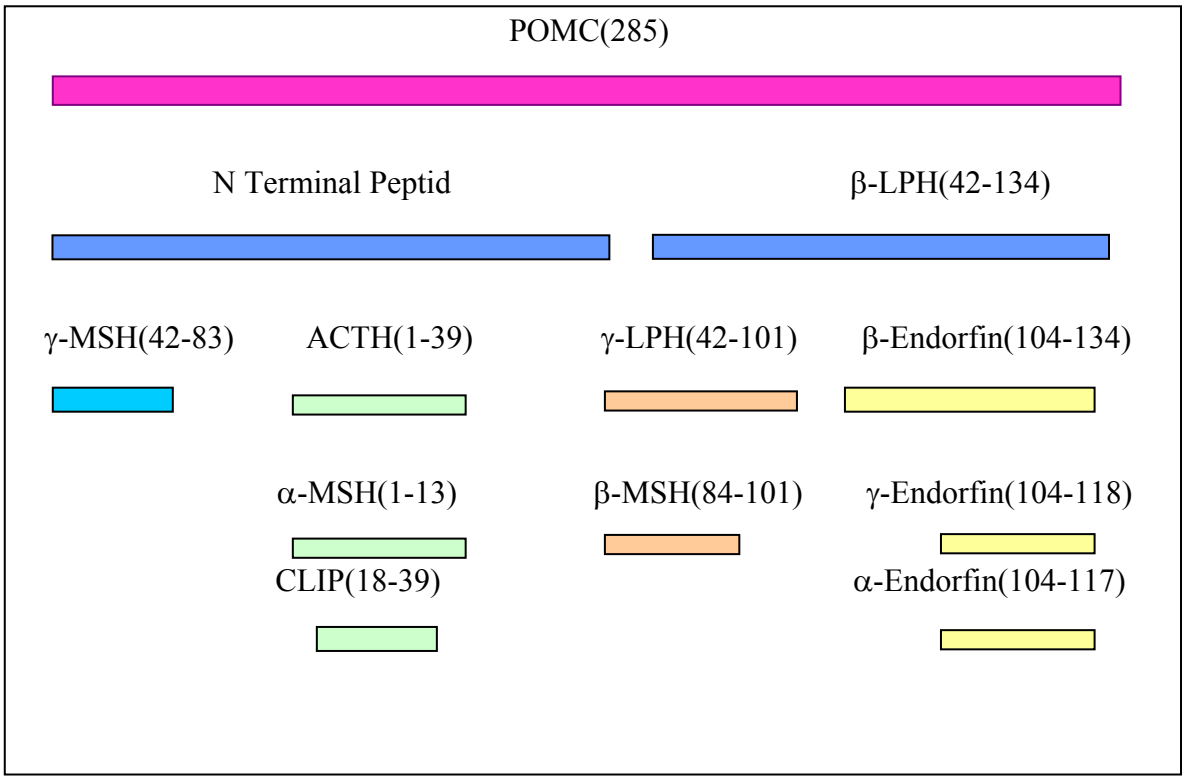
- α- MSH ve CLIP'i oluşturan ACTH
- γ- LPH, β- MSH ve ß-end'i oluşturan oluşturan β-LPH
- γ-MSH'yı içeren 76 aminoasitlik N-terminal peptid (Murray ve ark 1993) (Şekil 2.3).

Memeli MSS'inde POMC genel olarak subtilase-like pro-protein convertase (SPC2 ve SPC3) adı verilen endoproteolitik enzimler aracılığıyla ilgili peptidlerine ayrılır. SPC3 ile β- LPH ve ACTH, SPC2 ile de α-MSH ve ß-end oluşturulur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. POMC'nin SPC3 ve SPC2 enzimleri tarafından bölünmesi (Salzet ve ark 2000).

POMC'nin bölünmesi sırasında prehormon segmeni yarılır ve translasyondan sonra glikozilasyon, asetilasyon ve fosforilasyon aracılı modifikasyonlar gerçekleşir. Hem ön hem de ara loblarda ikinci yarılma ACTH ve β-LPH arasında oluşur, bunun sonucunda N terminal peptid oluşur. Bunu, $ACTH_{1-39}$'un N-terminal peptidden ayrılması izler; bundan sonra ön lopta ileri parçalanmalar meydana gelmez. Ara lopta $ACTH_{1-39,}$ α- MSH ve CLIP'e parçalanır; β-LPH da, γ- LPH ve ß-end'i oluşturmak üzere parçalanır. ß-end hipotalamusta asetile olmazken, hipofizde hızla asetile olarak aktivitiesini yaklaşık 1000 kat kaybeder. ß-end de α-endorfin ve γ–endorfin'i oluşturmak üzere C-terminalinde kesilip düzenlenmeye uğrar (Şekil 2.3). Periferal dokularda POMC'nin uğradığı işlemler ara loptakilere benzemektedir (Murray ve ark 1993).



Şekil 2.3. POMC ve ilgili peptidler (Murray ve ark 1993)

2.3.2. ß-endorfinin kimyasal yapı ve özellikleri

ß-endorfin genel olarak memeliler ve diğer omurgalılarda 31, sazan balıklarında (Cyprinus carpio) 33 aminoasitten kurulu yaklaşık 4000 dalton molekül ağırlığında, ratlarda ise 3500 dalton molekül ağırlığında bir polipeptidtir (Rubinstein ve ark 1977, Murray ve ark 1993, Yılmaz 1999, Van den Burg ve ark 2001). ß-end'in amino asit dizilimi türlere göre farklılık gösterir (Şekil 2.4 ve 2.5).

↱N terminal

NH_2–Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Gln-COOH-C terminal

Şekil 2.4. İnsan ß-end molekülü (Anonim 2007a)

↱N terminal

NH_2–Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Val-His-Lys-Lys-Gly-Gln-COOH-C terminal

Şekil 2.5. Rat ß-end molekülü (Anonim 2007a)

ß-endorfin'in biyolojik aktivitesi N ve C-terminallerinin bütünlüğüne bağlıdır. Asetilasyon veya 1-2 aminoasitin çıkarılması gibi N-terminalinde meydana gelen herhangi bir değişiklik opioid etkinin kaybolmasına sebep olur. ß-endorfin (1-31) potansiyel bir opioid iken asetile formu bu aktiviteden yoksundur. Tam bir opioid etkinlik için 31 amino asitine de ihtiyaç olduğu bildirilmektedir. ß-end'nin N ve C-terminal bölgelerinin farklı etkilerden sorumlu olduğu, N-terminal bölgenin etkileri nalokson tarafından bloke olurken, C-terminalinin ise naloksondan etkilenmediği ve ß-end'in non-opioid etkilerinin oluşmasında C-terminalinin rol aldığı belirtilmektedir (Li 1981, Sacerdote ve Panerai 1989, Owen ve ark 1997).

Pardridge ve ark. (1990), [^{125}I]ß-end'in ratlarda kan beyin bariyerini aşamadığını, Houghten ve ark. (1980), [^{3}H]ß-end'in ratlarda BOS'a (beyin omurilik sıvısı) geçtiğini

ancak beyin hemisferlerine ulaşamadığını bildirmişlerdir. Beyinde bulunan ß-end ve diğer opioid peptidlerin ise perifere geçtiği, bu esnada kan-beyin bariyerinin oluşumunda etkili bir protein olan p-glikoproteinin rol aldığı ileri sürülmektedir. Beyinde P-glikoprotein mRNA düzeyinin % 50 oranında azatılmasıyla, [^{125}I]-ß-end'nin i.c.v. verilmesini takiben kan düzeyi yaklaşık % 75 oranında azalmıştır. Ratlara i.c.v. [^{125}I]-ß-end, [^{125}I]-DAMGO (μ-agonisti), [^{125}I]-DPDPE (δ-agonisti) ve [^{125}I]-morfin uygulanmasında, kan DPDPE düzeyleri 5. dakikada en yüksek seviyeye ulaşırken, 15. dakikada normal plazma seviyelerine gerilemiştir. Morfin ve DAMGO (opioid analoğu) ise hızlı bir şekilde kana geçerek 2 saat boyunca yüksek düzeyde seyretmiştir. ß-end düzeyi diğerlerine göre daha geç (50-60. dk'larda) yükselmiştir (King ve ark 2001).

Yaşın ilerlemesiyle birlikte beyin ß-end düzeylerinin değiştiği belirtilmektedir. Barden ve ark. (1981), ratlarda bazı beyin nükleuslarında ß-end düzeyinin 24 aylık ratlarda 3 aylıklara göre ortalama % 50 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

2.3.3. ß-endorfin fragmanları ve etkileri

İnsan kanında ß-end'in 1-31 aminoasitlik kısmını içeren temel ß-end (1-31) ve bunun N-terminaline sahip ß-end (1-16), ß-end (1-17) ve ß-end (1-27) fragmanları, C terminaline sahip N-asetil ß-end (1-31) (N-terminalinin asetile olmasıyla oluşur) ve bunun ß-end (6-31), ß-end (28-31) fragmanları ve ß-end'in her iki terminalinden yoksun ß-end (2-27) fragmanı bulunmaktadır (Sacerdote ve Panerai 1989). Farelerde ß-end (1-27)'nin temel ß-end (1-31)'in ağrı kesici etkisini belirgin olarak düşürdüğü ve antagonistik bir etki yaptığı belirlenmiştir (Hammonds ve ark 1984). İn vitro insan monositleri üzerine ß-end'in kemotaksik etkisinin bulunduğu bildirilmiştir. ß-end'in N ve C-terminaline sahip fragmanları ile her iki terminalinden yoksun (2-27) fragmanı kullanılarak yapılan çalışmada (Sacerdote ve Panerai 1989), hem N terminali hem de C-terminalin kemotaksik etkisinin olduğu belirlenmiş, yalnızca N-terminal etkileri nalokson tarafından bloke olmuştur. Her iki terminalinden yoksun fragmanının ise etkisi belirlenememiştir. Bu sebeple ß-end'in immun sisteme N-terminali aracılığı ile olan etkilerinin dışında C-terminal etkilerinin (non-opioid) de olabileceği iddia edilmektedir.

2.3.4. ß-endorfinin bulunduğu yerler

ß-endorfin merkezi olarak beyin ve BOS'nda bulunduğu gibi, periferal olarak plazma, idrar (Sato ve ark 1987), deri (Stander ve ark 2002), tükrük (Pikula ve ark 1992),

snoviya (Kajii ve ark 2005), gözün lens, humor aqueous ve korneal epitelyumu (Tinsley ve ark 1988, Bender ve ark 2001), adrenal bez (Hsu ve ark 2002) ve timusun nöyroendokrin kompartmanında (Jevremovic ve ark 1991) bulunmaktadır.

ß-endorfin'in rat beyninde en fazla bulunduğu bölgeler, arkuat nükleus (arcuate nucleus), periakuaduktal grey (periacuaductal grey), parabrahial nükleus (parabrachial nucleus), paraventriküler nükleus (paraventriküler nucleus)'tur. Daha az oranda, nükleus traktus solitaryus (nucleus tractus solitarius), lateral retiküler nükleus, lateral hipotalamik bölge ve septumda bulunmaktadır (Akil ve ark 1984, Zangen ve ark 2002). Barna ve ark. (1998), kazlarda en yüksek immunreaktif-ß-end düzeyinin mediobazal hipotalamus ve paraventriküler nükleusta, en düşük düzeyin ise archistriatum ve lobus parolfaktoriusta bulunduğunu bildirmişlerdir. ß-end, met- ve leu-enkefalin antiserumlarının rat beyninde immunreaktiviteye sebep oldukları bölgelerin birbirinden farklı olduğu immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. ß-end için spesifik immunreaktivite gösteren hücrelerin özellikle bazal hipotalamus, diensefalon ve anterior ponsta bulunduğu, enkefalinlerin ise globus pallidus, amigdalanın santral nükleusu ve substansiya jelatinosa bölgelerinde lokalize olduğu belirlenmiştir (Bloom ve ark 1978)

Wintzen ve ark. (2001), insan deri biyopsilerinde öncelikle foliküler matriks keratinositleri ve ter kanalcıkları hücrelerinde ß-end varlığını belirlemişler, ancak epidermis kerotinositlerinde rastlanılmadığını bildirmişlerdir. Furkert ve ark. (1997), farelerde kıl gelişimi sırasında özellikle kıl uzaması döneminde deri ß-end düzeyinin yüksek, kıl foliküllerinin dinlenme döneminde ise düşük düzeyde olduğunu belirterek ß-end'in deri fizyolojisinin siklik gelişiminde rolünün olabileceğini iddia etmektedirler.

2.3.5. ß-endorfin salınımına etki eden faktörler

Vücutta ß-end salınımını etkileyen birçok iç ve dış faktör bulunmaktadır. ß-endorfin'in, ağrı oluşturucu etkenlerle salınarak vücudun ağrıya cevabında rol oynadığı bilinmektedir. Zangen ve ark. (1998), ratlarda ayak pençesine formalin (ağrı uyaranı) enjeksiyonu sonrasında arkuat nükleus ekstraselüler ß-end düzeyinin % 88 oranında arttığını belirlemişlerdir. ß-end, morfine göre 18 ila 33 kat daha etkili ağrı kesici etki gösterir (Loh ve ark 1976).

Egzersiz ß-end salınımını artırmaktadır. Erkek Wistar ratlarda 2.5 saat yüzmenin plazma ß-end düzeylerini bazal düzeye göre (9.8 fmol/ml) yaklaşık 11 kat (114 fmol/ml) artırdığı belirlenmiştir (Bouix ve ark 1996).

Akupunktur ß-end salınımını artırmaktadır. Farelerde ST36 akupunktur bölgesinin uyarılmasıyla dalak ve beyin ß-end düzeylerinin, ratlarda Zhongwan (CV12) bölgesinin uyarılmasıyla ise plazma ß-end düzeyinin belirgin olarak yükseldiği belirlenmiştir (Chang ve ark 1999, Hisamitsu ve ark 2002).

Opioidlerin tat alma duyusu, besin alımı ve sıvı tüketimi ile ilişkisinin olduğu ileri sürülmektedir. Yamamoto ve ark. (2000), susuz bırakılan ratlara su verilmesinden 60-90 dk sonra, BOS ve plazma β-endorfin düzeylerinin belirgin olarak arttığını, intragastrik uygulamada ise ß-end düzeyinin değişmediğini, sukroz ve sakarin gibi tatlı solusyonların da BOS ve plazma β-endorfin düzeyini artırdığını, bu sebeple β-endorfin salınımındaki artışın sadece plazma glukoz düzeyinin artmasıyla ilgili değil, dildeki tat alma reseptörlerinin uyarılmasıyla da ilgili olduğunu iddia etmektedirler.

Ödüllendirme merkezi olarak bilinen nükleus akümbens (nucleus accumbens)'te, yoğun olarak ß-end, dopamin ve serotonin bulunduğundan, bu 3 hormon arasında etkileşim olduğu sanılmaktadır. Zangen ve ark. (2002), Flinders sensitive line (FLS) depresiv ratlarda nükleus akümbensin serotonine cevabının değiştiğini bildirmişlerdir. Sağlıklı ratlarla FLS ratlar arasında nükleus akümbens ß-end düzeyleri arasında bir fark bulunamamış ancak, sağlıklılarda serotoninin ß-end üzerine artırıcı etkisi FLS'lerden daha fazla olmuştur. FLS ratlarda antidepresif ilaçlar, serotoninin ß-end'i artırıcı etkilerini güçlendirdiğinden, bunun antidepresif ilaçların etki mekanizmalarının açıklanmasında bir model olabileceği ileri sürülmektedir. Serotonerjik aktivitenin artması, hipofizden β-endorfin salınımını uyararak β-endorfinin plazma düzeyini artırmaktadır. Yaşlı hayvanlarda serotonerjik aktivitenin arttığı ve hipofiz β-endorfin düzeyinin yükselmesine sebep olduğu bildirilmektedir (Forman ve ark 1990). Koenig ve ark. (1987), ratlarda bir 5-HT_1 (serotonin) agonisti olan [^{3}H] 8-dihidroksi-2- di-n- propilamin tetralin (8-OH- DPAT) ve bir nonselektif 5-HT agonisti olan 6-kloro-2-(1-piperazinil) pirazin (MK-212)'nin plazma kortikosteron ve β-endorfin düzeylerine etkisini araştırmışlar; 0.03 mg/kg 8-OH-DPAT ve 0.3 mg/kg MK-212'nin etkisinin görülmediğini, dozun artışına bağlı olarak (DPAT için 0.1 ve 0.3 mg/kg, MK-212 için 1 ve 3 mg/kg dozlarda) plazma kortikosteron ve β-endorfin düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir.

Beyinde dopamin ile ß-end arasında ise negatif bir etkileşim bulunmaktadır. D_2 dopamin antagonisti sulpiride'in ratlarda hipofiz ara lob β-endorfin salınımını önemli düzeyde artırdığı, ilacın kesilmesini takiben β-endorfin düzeyinin normale döndüğü

belirlendiğinden, melanotrop hücrelerde β-endorfin sekresyonunun dopaminerjik inhibitör regülasyonun kontrolü altında olabileceği iddia edilmektedir (Acs ve ark 1997).

Ratlarda merkezi etkili kolinomimetik ilaçların ve kolinesteraz inhibitörlerinin hipotalamo-hipofizer sistemi aktive ederek plazma ACTH ve β-endorfin düzeyinde artışa sebep olduğu bildirilmektedir (Savcı ve ark 1996). Aynı araştırıcılar, ratlarda 50, 100 ve 150 μg (i.c.v.) kolinin sebep olduğu plazma β-endorfin ve ACTH seviyelerindeki artışın 10. dk'da görüldüğünü, 40-60 dk sonra ise düzeylerin bazal seviyeye gerilediğini gözlemlemişlerdir. Kolinin bu etkileri nikotinik reseptör blokörü mekamilamin tarafından bloke olurken, muskarinik reseptör blokörü atropinden etkilenmemiştir. Hipotalamo-hipofizer sistemin kolinerjik innervasyonu tanımlanmış ve bu sistemde asetilkolin reseptörlerinin lokalize olduğu keşfedilmiştir. Bundan dolayı kolinin, plazma ACTH ve β-endorfin konsantrasyonlarını, "santral nikotinik asetilkolin reseptörlerini" aktive ederek artırdığı ileri sürülmektedir. Acs ve ark (1997) asetilkolinin, 2-5 günlük rat hipofiz ara lobundan β-endorfin salınımını uyardığını, 10-21 günlük ve yetişkinlerin ise asetilkoline cevap vermediğini gözlemlemiş, bu sebeple hipofiz ara lop β-endorfin salınımının başlangıçta kolinerjik olduğunu, yaşın ilerlemesiyle bu regülasyonun ortadan kalktığını ileri sürmüşlerdir. ß-end düzeylerini artıran bir diğer madde de asetilkolinesteraz inhibitörü somandır. Ratlarda 80 μg/kg (subkutan) somanın plazma ACTH, β-endorfin ve kortizol düzeylerini belirgin olarak yükselttiği belirlenmiştir (Fletcher ve ark 1989).

ß-end, büyüme hormonu sekresyonunu opioid reseptörler (μ, δ ve κ) aracılığı ile artırır (Janik ve ark 1994). İnsan ß-end (1-31) uygulanan ratlarda büyüme hormonu salınımı artmış, ß-end (1-27) ise ß-end (1-31)'in bu etkisini doza bağı olarak inhibe etmiştir (Collado-Escobar ve ark 1986).

Ratlarda kafein ve diazepam (i.p.) birlikte uygulandığında beyin korteksi, hipotalamus ve orta beyinde ß-end düzeylerini yükseltirken, diazepam, tek başına uygulandığında beyin korteksi ve hipotalamusda, kafein ise yalnız beyin korteksinde artışa sebep olur (Khalil ve Soliman 1997).

Melatoninin ağrı kesici etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (Shavali ve ark 2005), in vitro sığır pinelositlerine μ agonisti DAMGO, δ agonisti DPDPE, κ agonisti U69593 ve ORL1 agonisti nosiseptinin bağlanmaları incelenmiş, pinelositlerde δ ve μ reseptörlerinin varlığı belirlenirken, κ ve ORL1 reseptörlerinin bulunmadığı gözlemlenmiş ve melatoninin opioid reseptörlerle ilişkili olmadığı ileri sürülmüştür. Ayrıca in vitro

melatoninin fare hipofiz bezi hücrelerinde ß-end sekresyonunu artırdığı belirlendiğinden melatoninin ağrı kesici etkinliğini opioid reseptörlere bağlanarak değil, ß-end sekresyonunu artırarak gerçekleştirdiği iddia edilmiştir.

Ratlarda 75 mg/kg dozda STZ uygulamasından 4 hafta sonra ara ve ön hipofiz lobu POMC mRNA düzeyi belirgin olarak azalmış, ß-end düzeyi ara lobda belirgin olarak azalırken, ön lobda değişmemiştir (Cheung ve Tang 1999).

2.3.6. ß-endorfinin yıkımlanması

ß-end serbest olarak düşük miktarlarda (%3) idrar ve safra ile atılır. İntravenöz uygulamalarda ß-end kısa sürede transkapillar diffüzyon yoluyla interstisyel sıvıya geçer ve plazma miktarı hızla azalır (Sato ve ark 1987).

Ratlarda trisyumla işaretli spesifik aktivitesi 50 Ci/mmol (8.000.000 cpm) ß-end'in plazma yarılanma ömrünün yaklaşık 45 dk. olduğu bildirilmektedir (Hougten ve ark 1980). Plazmada bulunan bir proteinaz (veya proteinazlar) aracılığı ile ß-end öncelikle 19. ve 20. amino asitleri arasından hidrolize edilerek, 1-19 ve 20-31 amino asitlik fragmanlara ayrılır, daha sonra 1-19'luk bölüm, 1-2, 3-19'lu fragmanlara, 20-31'lik bölüm ise 20-28, 29-31'li fragmanlara ayrılır. ß-end'in proteinazlar tarafından bölünmesi, bir serin proteaz inhibitörü olan fenil metil sülfonil ve EDTA tarafından inhibe edilir. Ayrıca Zn^{+2} iyonları da enzimi inhibe ederken Mg^{+2} iyonları enzim aktivitesini artırır. Bu sebeple ß-end ölçümü yapılacak örneklere serin proteinaz inhibitörleri ve EDTA eklenmesinin analizlerin doğruluğu açısından önemli olduğu belirtilmektedir (Sandin ve ark 1998). ß-end'in plazmada daha küçük fragmanlarına parçalanma süreci kronik strese bağlı olarak artar. Young ve ark. (1989), plazma ß-end yarılanma süresiyle ilgili yaptıkları çalışmada, kronik ayak şoku (foothshock) stresi uygulanan ratlardan alınan kan örneklerinde [^{3}H]ß-end'in in vitro plazma yarılanma ömrünün 58 dk'dan 30 dk'ya düştüğünü belirlemişlerdir. Aynı çalışmada kontrol grubu ß-end'in EDTA'lı plazmalarda yarılanma ömrünün 58 dk, heparinli plazmalarda ise 29 dk olarak belirlenmiş ve EDTA'nın plazmada ß-end'nin yıkımlanma sürecini geciktirdiği ortaya konmuştur.

2.3.7. ß-endorfinin preopiomelanokortin peptidleriyle İlişkisi

ß-end, ACTH ve β-lipotropin (β-LPH) POMC'den köken alan peptidlerdir. Sağlıklı ratlarda kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli bir bölge olan nükleus preoptikus medianusta (nucleus preopticus medianus, POMe) β-end ve

ACTH immunreaktivite gösteren akson varikoziteleri bulunduğu ve bu iki peptidin POMe'da bulunan sinirlerin perikaryonunda ve terminal bölgelerinden salındığı bildirilmektedir (Kawano ve Masuko 2000).

ACTH, hipotalamik CRH tarafından uyarılan ve böbrek üstü bezi korteksinde kortikosteroidlerin sentezini uyaran bir hormondur. Akut streste artan hipotalamik CRH, POMC türevi peptidler olan ß-end, ACTH gibi hormonların hipofizden salınımını artırmaktadır**.** Govoni ve ark. (1984), insanlarda plazma ß-end/ß-LPH-immunreaktivite ve kortizol arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğunu, plazma ß-end düzeyi yüksek olan bireylerde kortizol düzeyinin de yüksek olduğunu gözlemlemiş ve ß-end ile ß-LPH'in adrenal korteks hormon metabolizması kontrolünde rol alabileceğini ifade etmişlerdir.

Gebelik ve doğum süresince üreme hormonlarının yanısıra stres hormon düzeyleri de değişir. Osawa ve ark. (1998), ineklerde gebeliğin 270. günü, doğuma iki gün kala, amnion kesesinin yırtılması ve doğum esnasında, doğumdan 12 ve 24 saat sonra plazma ß-end ve kortizol düzeylerinin yükseldiğini, normal doğum yapanlarda en yüksek düzeylerin amnion kesesinin yırtılması anında, güç doğum yapanlarda ise doğum esnasında olduğunu belirlemişlerdir. Normal doğum yapanlarda, doğumdan 12-24 saat sonra iki hormon düzeyi arasında yüksek bir korelasyon saptanamamasına karşın, güç doğum yapanlarda her iki hormon seviyesi yüksek bulunmuştur. Bu durum güç doğumun ayrıca bir stres faktörü olmasıyla açıklanmıştır. Panerai ve ark. (1983), kadınlarda gebelik süresince plazma ß-end düzeyinin gebe olmayanlara göre önemli düzeyde yüksek olduğunu, β-LPH düzeyinin değişmediğini, doğum esnasında ise β-LPH yükselirken, ß-end'in değişmediğini belirlemişlerdir.

Harte ve ark. (1995), egzersiz (koşu) ve meditasyonun plazma CRH ve ß-end düzeylerini etkilediğini, 1 saatlik koşunun plazma ß-end ve CRH düzeylerini belirgin olarak artırdığını, 1 saatlik meditasyonun ise CRH düzeyini iki katına çıkarmasına karşılık ß-end'de önemli bir artışa sebep olmadığını bildirmişlerdir. Bu sebeple egzersizde ß-end düzeyindeki artışın sadece CRH'dan kaynaklanmadığı, başka faktörlerin de (kateşolaminler, vazopressin) etkili olabileceği iddia edilmiştir.

Birnberg ve ark. (1983), ratlarda bilateral adrenolektomi sonrası hipofizin ön lob POMC gen ekspresyonu ile plazma ACTH ve ß-end düzeylerinin yükseldiğini, deksametazon uygulamasınının bu artışı engellediğini, bu sebeple glikokortikoidlerin hem POMC gen ekspresyonunu hem de ACTH salınımını azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca

hipofiz ara lobu ve hipotalamusta adrenolektomi ve glukokortikoidlerin POMC gen ekspresyonunda önemli bir etkisi görülmemiştir. Glukokortikoidlerin hipofizdeki negatif etkilerini sadece ön lopta gerçekleştirdiği, ara loba etkilerinin olmadığı Eberwine ve Roberts (1984) tarafından da bildirilmiştir; ratlara intraperitoneal 4 günlük deksametazon uygulamasıyla hipofiz ön lobunda POMC gen transkripsiyonu 2.5 kat azalırken ara lopda değişmemiştir.

Scavo ve ark. (1988), obez bireylerde plazma ACTH ve ß-LPH düzeylerinin sağlıklılarla aynı, ß-end düzeyinin ise yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu durumu POMC'nin enzimatik yıkılımındaki farklılıktan veya dolaşımdaki β-endorfinin ön hipofiz dışında başka bir kaynaktan köken alabileceği ile açıklamışlardır.

Yamauchi ve ark. (1997), ratlarda i.c.v. ß-end'in plazma ACTH, epinefrin ve norepinefrin düzeylerini doza bağlı olarak artırdığını, anti-CRH serumunun ß-end'in ACTH'ya etkisini inhibe ettiğini, ancak epinefrin ve norepinefrine etkilerini inhibe etmediğini gözlemlemişlerdir. Beyin noradrenerjik nöronlar ve reseptörleri ile opioiderjik nöronlar ve reseptörlerinin birlikte lokalize olduğu (Goodman ve ark 1980) ve β-endorfinin norepinefrin sentezini, kaudal dorsomedial medulladaki A2 noradrenerjik nucleus hücrelerinde bulunan μ-reseptörleri aracılığı ile baskıladığı bildirilmektedir (Carr 1997).

Sağlıklı bireylere 1 μg/kg/dk ß-end infüzyonuyla plazma ACTH ve kortizol düzeylerinin ilk 30 ve 60. dk'larda hızla düştüğü, ilerleyen sürelerde (120., 180. ve 210. dk) sağlıklılardan düşük seyretmekle birlikte yükseldiği belirlenmiştir (Taylor ve ark 1983).

Aynı prekürsör molekülden sentezlendiği bilinen her iki peptidin (ACTH ve ß-end) sentezlerinin kontrolü farklı olabilmektedir. Erken epileptik ensefalopatili bebek spazmında, BOS'da normal ß-end düzeyine karşın, düşük ACTH (Facchinetti ve ark 1985), alkoliklerde düşük hipotalamik ß-end düzeyine karşın, yüksek ACTH düzeyleri (Genazzani ve ark 1982), hipotalamik hücrelerin birbirinden bağımsız olarak ß-end ve ACTH sentezlediği belirlenmiştir (Lolait ve ark 1983).

2.3.8. ß-endorfinin immun sistem ile ilişkisi

İmmun sistem hücrelerinde ß-end varlığının belirlenmesiyle ß-end'nin yangı sırasında ağrı kesici etkinliğinden dolayı ortamda bulunduğu düşünülmüş ancak yapılan çalışmalarda ß-end'nin immun sistem hücrelerinin aktivitesine pozitif etkilerinin olduğu

saptanmış ve ß-end'nin immun sistem ile sinir sistem arasında nöromodülatör görevlerinin yanı sıra immun sistem hücrelerine direk veya indirek etkilerinin de olduğu belirlenmiştir (Gilman ve ark 1982, Kowalski 1997, Pasnik ve ark 1999).

Kowalski (1997), farelerde ß-end, met-enkefalin, löy-enkefalin, proenkefalin ve dinorfin (1-17) gibi opioidlerin i.p. tek doz veya 14 gün süreyle tekrarlanan dozlarda uygulanmasının, dalak doğal katil (Natural Killer) hücrelerinin aktivitesini artırdığını ancak monosit/makrofajları etkilemediğini, etkinin doza bağlı olarak değiştiğini; örneğin ß-end'nin 1 μg dozunun etkili olurken, 20 μg dozunun etkili olmadığını gözlemlemişlerdir.

Granülosit, lenfosit ve monositlerde bulunan endorfinlerin, her üç hücre tipindeki düzeyleri erkeklerde dişilere göre belirgin olarak yüksektir (Csaba ve ark 2003). Tüm granülosit tiplerinde ß-end varlığı saptanmış ve in vitro ß-end ilavesinde hücrelerin ß-end içeriğinin arttığı belirlenmiştir (Csaba ve ark 2002).

Bazı indükleyici maddeler ile (fMLP gibi) kemotaksik ve kemilüminesans aktivitesi uyarılan nötrofillerde (polimorf nükleer nötrofil, PMN) CD11a, CD11b, CD18 ve CD 16 moleküllerinin ekspresyonuna ß-end ve met-enkefalinin etkileri araştırılmış, fizyolojik dozlarda (10^{-8} ve 10^{-6} M) kemotaksik ve kemilüminesans aktivitesinin önemli düzeyde arttığı, yüksek dozlarda ise (10^{-4} ve 10^{-3} M) yalnız kemilüminesans aktivitesinin azaldığı belirlenmiş ve fizyolojik şartlarda ß-endin immun sistemi stimule ederken, yüksek dozlarının inhibitör etki yapabileceği ileri sürülmüştür (Pasnik ve ark 1999).

İnsan T-lenfositlerinde β-endorfin için non-opioid reseptörlerin de varlığı bildirilmektedir (Navolotskaya ve ark 2001). Mitojenik bir madde olan konkanavalin A (conA) tarafından uyarılan dalak T-lenfositlerinin proliferatif aktivitesi ß-end tarafından naloksonla geri dönüşümsüz olarak artarken, uyarılmamış T-lenfositlerine ß-end'in etkisi görülmemiştir (Gilman ve ark 1982). Van der Bergh ve ark. (1993), C-terminali aktif olan ß-end (1-31), ß-end (6-31) ve ß-end (18-31)'in in vitro rat T-lenfosit proliferasyonunu artırdığını, ancak yalnız N terminali aktif olan ß-end'in etkisiz olduğunu bildirmektedirler. Perifer mononükleer hücrelerde ise ß-end'nin etkilerinin molekülün her iki terminali aracılığıyla da olduğu ve naloksonun sadece N-terminal etkilerini bloke ettiği bildirilmektedir (Sacerdote ve Panerai 1989).

İnsan fetal ve neonatal timus hücre sitoplazma ve membranlarında ß-end varlığı gösterilmiş, ß-end'in timoma (Fare EL4 hattı) hücre yüzeyine non-opioid reseptörler aracılığı ile bağlandığı belirlenmiştir (Schweigerer ve ark 1985, Jevremovic ve ark 1991).

2.3.9. ß-endorfinin üreme sistemi ile ilişkisi

Üreme sistemi organlarında ß-end ve diğer opioid peptidlerin varlığı belirlenmiş (Sanders ve ark 1990) ve üreme sistemi fonksiyonlarında opoidlerin etkileri araştırılmıştır. Rat ovaryum granülosa hücreleri, antral folikül, interstisyel kompartman ve korpus luteumda POMC mRNA içeren hücreler bulunur. İn vitro ve in vivo LH, andrestenoidione ve dihidrotestosterone (DHT)'un rat granülosa hücreleri POMC mRNA düzeyini artırması, foliküler büyüme ve korpus luteum oluşumu sırasında POMC mRNA içeren hücre sayısının artması, gonadotropinlerin ve androjenlerin opoid peptid sentezinde etkili olabileceğini düşündürmektedir (Melner ve ark 1986, Sanders ve ark 1990). Ayrıca maymun ve ratlarda overiektomi sonrasında hipofiz-portal kan β-endorfin düzeyi düşmekte, östradiol ve progesteron uygulamasını takiben yükselmektedir (Wardlaw ve ark 1982, Sarkar ve Yen 1985).

ß-end LH hormonu salınımını baskılamaktadır. Overiektomize ratlarda beynin üçüncü ventrikülüne enjekte edilen β-endorfin, hipofiz LH mRNA ve LH düzeyi ile plazma LH düzeyini düşürür. (Wiesner ve ark 1984, Gajewska ve ark 2000). Maymunlarda POMC salınımını uyaran CRH (kortikotropin releasing hormone), LH ve FSH'nın pulzatif salınımını nalokson ile geri dönüşümlü olarak baskılar (Gindoff ve Ferin 1987). Laatikainen ve ark. (1985) kadınlarda menstrual siklus boyunca en yüksek plazma β-endorfin düzeyini süklusun ortasında, LH pikinden 1-2 gün sonra belirlemişler ve gonadotropinlerin ß-end salınımında rol alabileceğini ileri sürmüşlerdir. Son yıllarda insan diensefalonunda ß-end ve LHRH immunreaktif nöronal bölgelerin birbirine yakın seyrettiği ve etkileşim içinde olduğu belirlenmiş, ß-end ve LHRH kontanktlarının gonadal faaliyetler için önemli olabileceği ileri sürülmüştür (Dudas ve Merchenthaler 2004). Menstrual siklus süresince LH'nın naloksona verdiği cevap değişmektedir. Nalokson kadınlarda menstrual siklusun luteal fazında (luteal progesteron düzeylerinin yüksek olduğu) dolaşımdaki LH'yı yükseltirken, foliküler fazda etki göstermemektedir (Snowden ve ark 1984).

ß-end, plazma prolaktin düzeylerini yükseltmektedir. Overiektomize ratlarda beynin üçüncü ventrikülüne enjekte edilen ß-end, plazma prolaktin düzeylerini artırır (Wiesner ve ark 1984). Ratlarda ayak şoku (footshock) ile oluşturulan stres plazma prolaktin düzeyini yükseltmiş ve ß-end antiserumu stresin prolaktine olan etkisini azaltmıştır (Petraglia ve ark 1987).

Östrojenin, arkuat nükleusta dejenerasyona yol açtığı iddia edilmektedir. Ratlarda, estradiol valerate'ın (EV) hipotalamik ß-end düzeylerini azalttığı ve ß-end salınımı yapan sinir hücrelerinde kayıplara sebep olduğu belirlenmiştir. Kronik (8 hafta) vit E + EV uygulaması ile ß-end düzeyleri kontrol grup ile benzer olurken, yalnızca vit E uygulaması ile ß-end düzeyi kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Östrojenin ß-end üreten sinir hücrelerinde serbest radikallere dönüşerek etkidiği düşünülmektedir. Ösradiol, hücre içinde katekol östrojene ardından da yerel peroksidaz pozitif astrositlerde serbest radikallere dönüşmektedir. Vit E'nin hipotalamus arkuat nükleusunda ß-end üreten hücreleri östrojenden kaynaklanan nörotoksik etkiden veya diğer serbest radikallerin etkisinden koruduğu ileri sürülmektedir (Desjardins ve ark 1992).

2.4. Diyabetes Mellitus ve ß-endorfin ile İlişkisi

2.4.1. Pankreas

Karın boşluğunda bulunan pankreasın endokrin ve ekzokrin bölümleri bulunur. Ekzokrin bölüm asinus hücrelerinde sindirim için gerekli özel enzimler sentezlenir. Bu enzimlerden önemlileri lipaz, amilaz, tripsin, kimotripsin, karboksipeptidazlar, elastazlar, proteazlar ve nükleazlardır (Tanyolaç 1999). Alınan besinin türü pankreastan salgılanan enzimlerin içeriğini değiştirebilir. Yüksek karbonhidrat ve düşük yağ ile beslenen ratlarda, pankreastan salgılanan amilaz artarken lipaz azalmaktadır (Brobst 1997). İnsülin de bu bölgedeki enzim düzeylerini etkileyebilmektedir. Sekretinle uyarılan ekzokrin bölüm sentroasiner hücrelerince, enzimden yoksun bikarbonattan zengin bir salgı salınarak ince bağırsağa verilir. Pankreatik kanallarda bulunan goblet hücreleri de mukus salgılayarak kanal hücrelerinin bikarbonattan veya salgılanan enzimlerden zarar görmesini engeller. Pankreasın endokrin bölümünü A, B, C, D ve F hücrelerden oluşan Langerhans adacıkları oluşturur. Adacıkların periferinde yer alan hücreler (Alfa veya A hücreleri) daha çok asidofil özelliktedir. Bu hücreler glukagon salgılarken, bazofil hücreler (Beta veya B hücreleri) ise insülin ve gastrin hormonlarını salgılar. Alfa ve beta hücrelerinin sekretorik aktivitesi otonom sinir sistemince düzenlenir. C hücreleri Alfa ve Beta hücrelerinin granülleri boşalmış olanlarıdır. Çok az sayıda olan ve granülleri anilin mavisi ile boyanan D hücreleri somatostatin salgılarlar. Pankreatid polipeptid hücreleri olarak da adlandırılan F ve D1 hücreleri ise gastrinin antagonisti bir etkiyle midenin HCl yapımını durduran bir polipeptid salgılarlar (Akar 1997, Brobst 1997, Tanyolaç 1999).

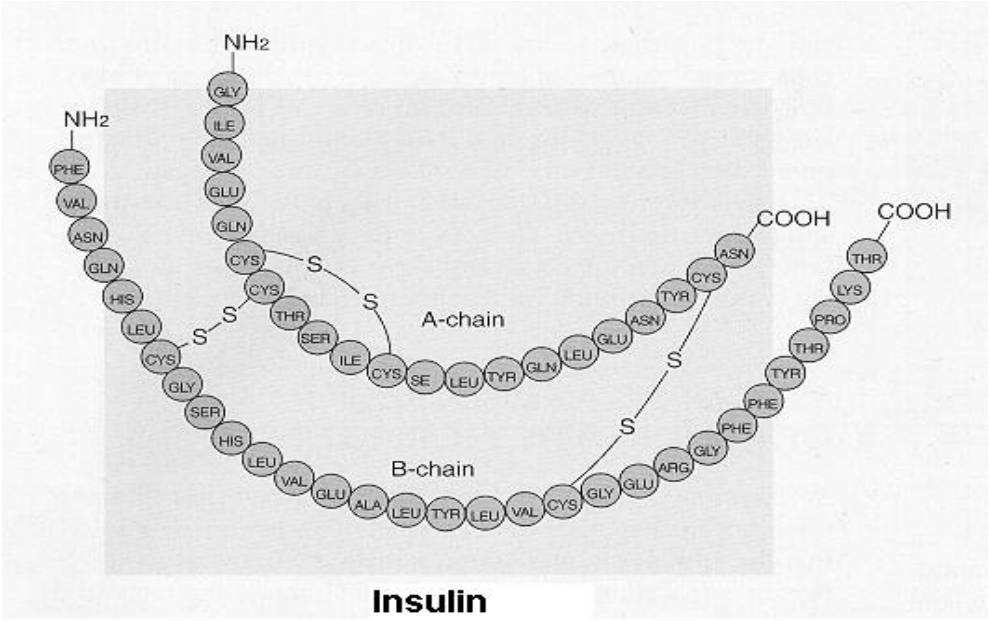
2.4.2. İnsülin

Pankreasın karbonhidrat metabolizması için önemi, ilk kez 1889 yılında pankreotomik köpeklerde öldürücü diyabet şekillenmesiyle ortaya konuldu (Kaya 1993). İlk kez 1922 yılında, pankreas Langerhans adacıklarında bulunan ve kan şekerini düzenleyen bir hormonun varlığı belirlenerek buna iç ada anlamına gelen insuladan esinlenerek insülin adı verildi. 1949 yılında Sanger tarafından insülinin disülfit köprüleriyle birbirine bağlı iki amino asit zincirinden oluştuğu ortaya konuldu (Yılmaz 1999).

2.4.3. İnsülinin yapı ve sentezi

İnsülin kimyasal yapısı türlere göre farklılık göstermektedir. İnsanda yaklaşık 6000 dalton molekül ağırlığında olan insülin, 21 amino asitlik A ve 30 amino asitlik B polipeptid zincirlerinden oluşmaktadır. Bu iki peptid birbirine iki disülfit bağı ile bağlıdır, A zinciri üzerinde sistin amino asitleri arasında yer alan bir iç disülfit köprüsü de bulunmaktadır (Akar 1997, Yılmaz 1999).

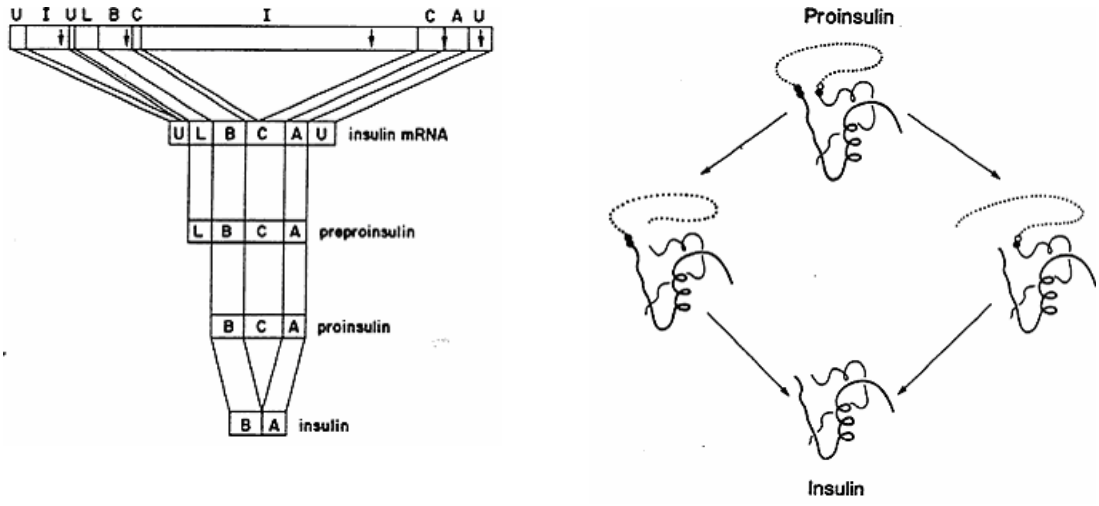
Domuz, köpek ve balina insülinleri birbirine çok benzer. Sığır, koyun, at ve balina insülinlerindeki farklılık A zincirindeki 8. 9. ve 10. amino asitlerde görülür (Yılmaz 1999). Farelerde A zincirindeki bir tek amino asit farklılığından ileri gelen iki farklı insülin vardır. Bazı balık türlerinde ise A ve B zincirlerindeki farklılıklardan kaynaklanan birden fazla insülin türü bulunur (Yenson 1988). Tavşan insülini B zincirinin 30. amino asiti serin iken, insanlarda treonin, domuz, balina ve köpeklerde ise alanindir. B zincirindeki bu sonuncu amino asit kolaylıkla peptidaz etkisiyle ayrılabilir, ancak bu ayrılma molekülün biyolojik etkinliğini değiştirmez. İnsülinin etkinliği amino asit dizilimlerindeki farklılıklardan ziyade disülfit bağlarından kaynaklanır. Bu nedenle domuz insülinini insan insülinine benzeyen etkin bir yapıya dönüştürmek mümkündür. A ve B zinciri birbirinden ayrıldığı zaman ise insülin etkinliğini yitirir (Yılmaz 1999).



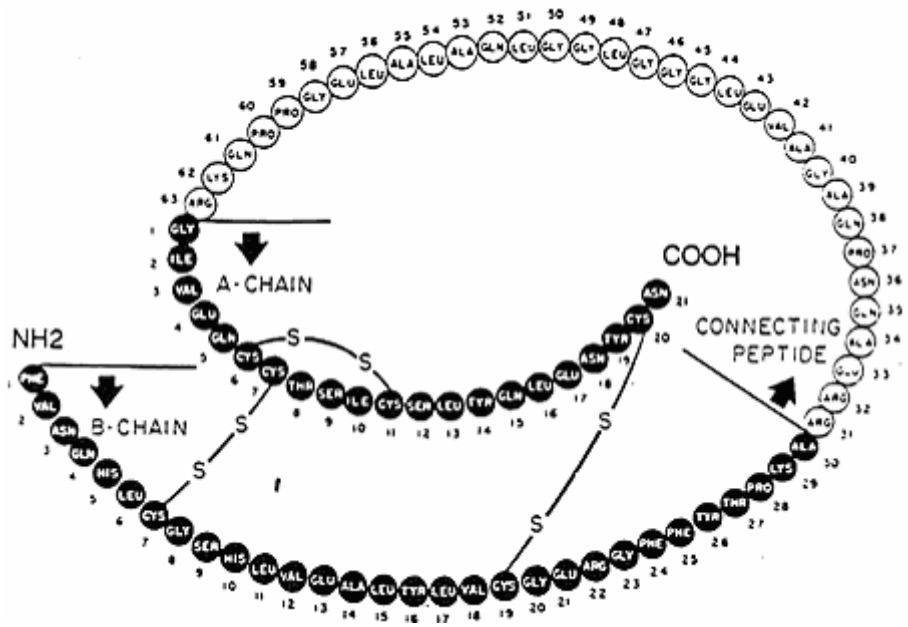
Şekil 2.6. İnsan insülin molekülü (Anonim 2006c)

İnsülin geni 11. kromozom üzerindedir (Üstdal 2005). Beta-hücrelerinin ribozomlarında mRNA aracılığı ile önce tek polipeptid zinciri gelişir ve bundan preproinsülin üretilir. Molekül ağırlığı 12000 dalton olan preproinsülin zincirinde A, B ve C peptid ile pre-peptid bölümleri bulunur. Preproinsülin, amino asit kalıntılarından bir kısmını endoplazmik retikulumda yitirir, disülfit bağları kurulmasıyla birbiri üzerine kıvrılarak katlanır. Bu oluşum, üzerinde üç disülfit bağı bulunan, türlere göre değişik sayıda amino asit içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşan ve yaklaşık 9000 dalton molekül ağırlığındaki proinsülindir. Proinsülin golgi aygıtına taşınır ve burada zincirin bir kısmı kopar (C peptid) ve yaklaşık 6000 dalton molekül ağırlıklı insüline dönüşür. İnsülin burada zarla çevrili veziküller halinde paketlenir ve veziküller içinde çinkoya bağlı olarak pro-insülin hekzameri olarak depolanır (Şekil 2.9, Anonim 2006d). Bu veziküller, granüler mikroflament (MT-MF) sistemi aracılığı ile sitoplazmik membrana gelerek membranla kaynaşır (Akar 1997, Yılmaz 1999).

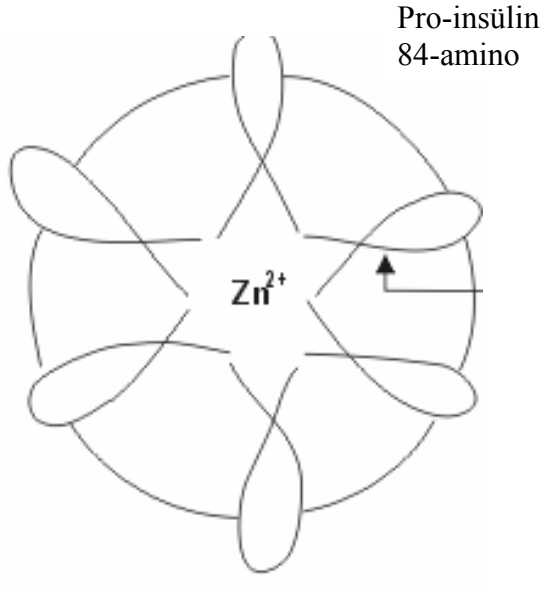
İnsülin geni



Şekil 2.7. İnsan insülininin sentez aşamaları (Pitman ve ark 2004).



Şekil 2.8. Domuz proinsülin molekülü (Anonim 2004)



Şekil 2.9. İnsülinin depo formu (Anonim 2004)

2.4.4. İnsülinin salınımı, taşınması ve yıkımlanması

İnsülin salınımını başta glukoz olmak üzere fruktoz, mannoz, riboz, aminoasitler, yağ asitleri, mide bağırsak hormonları, çeşitli besin maddeleri ve nörötransmitterler uyarmaktadır (Tablo 2.2). Glukozun uyarıcı etkileri Şekil 2.10.A ve B'de gösterilmiştir; kan glukoz düzeyi normalin üzerine çıktığında D-glukoz Langerhans adacıkları beta hücre zarlarında bulunan glikoreseptörlere bağlanır, adenilat siklaz etkinleşir ve ATP'den sAMP oluşumu başlatılır. Oluşan sAMP, hem ekstraselüler Ca'un hücre içerisine girişini hem de organellerden sitoplazmaya Ca çıkışını artırarak sitoplazmik Ca düzeylerini yükseltir. Ca iyonları, mikrotubuler-mikroflament sistemindeki kontraktil elemanları etkin hale getirerek insülinin ve biyolojik olarak etkin olmayan C peptidi veziküllerinin hücre zarına taşınarak (Ca iyonları ikincil haberi olarak görev yapar) ekzositoz ile interstisyel sıvıya çıkarılmasını ve kılcal damarlar aracılığı ile dolaşım kanına karışmasını sağlar. Galaktoz, D-ksiloz ve L-arabinozun hücre içine girmesi her ne kadar insülin tarafından kolaylaştırılsa da bu şekerler insülin salınımını uyaramazlar (Akar 1997, Yılmaz 1999).

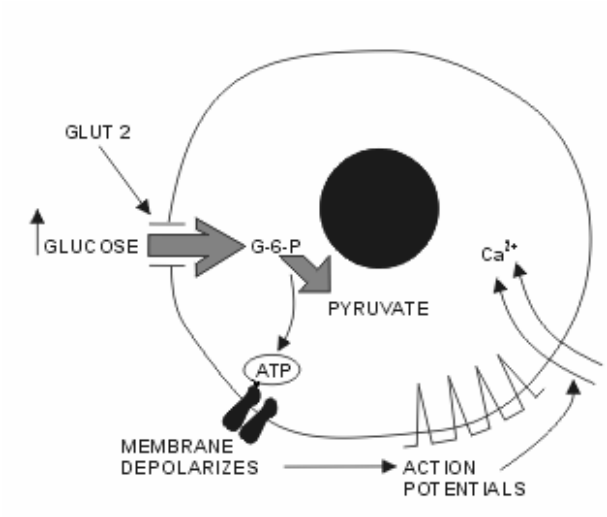
Kan glukoz düzeyinin yükselmesinden 30 saniye sonra beta-hücrelerinden insülin salınmakta ve kanda 3-4 dk kalabilmektedir (Akar 1997). Memelilerde pulzatif salınım gösteren insülinin salınım periyodunun ratlarda 13.3 dk. olduğu belirlenmiştir (Chou ve ark 1991). Pankreastan salgılanan insülinin içinde % 5-20 oranında insülinin yirmide bir

etkinliğe sahip proinsülin de bulunur. Bir insülin ünitesi aç bir tavşanın kan şekerini 1.2 mg/ml'den 0.45 mg/ml'ye düşüren insülin miktarıdır. Hayvan türleri arasında insülin yapısı bakımından bazı farklılıklar bulunmakla beraber, etkinlik yönünden farklılık yoktur. Bir mg insülin etkinlik yönünden 22-27 (24) ünitedir. Salgılanan insülinin önemli bir kısmı serbest halde, az bir kısmı da kan ve lenf dolaşımında proteinlere bağlı halde taşınır (Akar 1997). İnsülinin plazma yarı ömrü insanlarda yaklaşık 5-8 (Yılmaz 1999), koyunlarda 12-14 (Kaya 1993), Zucker ratlarda 3.7-5.2 (226-314 sn) (Canas ve ark 1995) ve Wistar ratlarda 9 dk olarak bildirilmektedir (Jones ve ark 1984). Damar içi yolla verilen insülinin önemli bir kısmı karaciğer ve kaslarda tutulur. Yıkımlanması ise karaciğer ve böbrekte gerçekleşir. Böbrekte atılma sırasında hormonun az bir kısmı geri emilir (Akar 1997). İnsülinin karaciğer ve böbrekte bulunan glutatyon-insülin trans-hidrogenaz enzimi ile yıkımlandığı bilinmektedir. Enzim, A ve B zincirlerini bağlayan disülfit köprülerini indirgeyerek etkisini gösterir. Burada glutatyon koenzim olarak görev yapar (Yenson 1988).

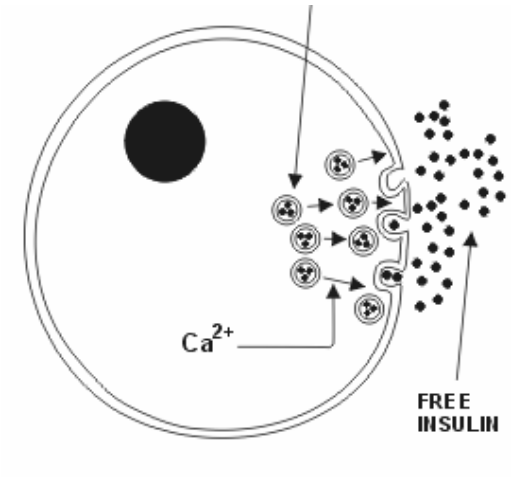
Beta-hücresinde insülin salınımı (Şekil 2.10):

ATP, ATP'ye duyarlı K kanallarına bağlanır, bu kanalları kapatarak membranın depolarize olmasını sağlar (Şekil 2.10.A). Ca hücre içine girerek insülinin hücre dışına salıverilmesi sağlanır (Şekil 2.10.B).

A



B



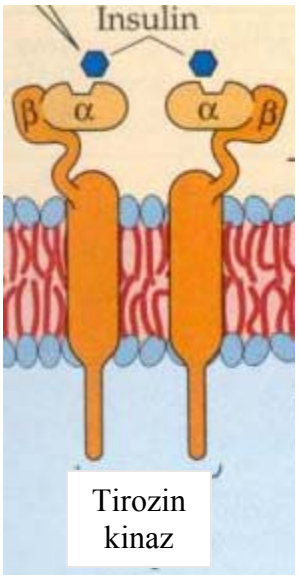
Şekil 2.10. Beta-hücresinde insülinin salınımı (Anonim 2006d).

Tablo 2.2. İnsülin salınımı uyaran ve baskılayan etkenler (Yenson 1988, Yılmaz 1999).

Uyaranlar	Baskılayanlar
– Glukoz	– Somatostaitn
– Fruktoz, mannoz, riboz	– 2-deoksiglukoz
– Aminoasitler	– Mannoheptuloz
– Yağ asitleri (asetoasetat)	– Alfa adrenerjik uyaranlar
– Alfa-adrenerjik blokörler	– Ca kanal blokörleri
– Mide-bağırsak hormonları (insülinotrop maddeler olarak kabul edilen gastrin, sektretin, pankreozimin, kolesistokinin ve diğerleri)	– Alloksan
	– Streptozotosin
	– İnsülin
– ACTH, kortizol, östradiol, progesteron, büyüme hormonu, tiroksin	– Pankreasa gelen sempatik sinirlerin uyarılması
– Asetilkolin	
– sAMP ve sAMP oluşturan çeşitli etmenler	
– Teofilin	
– Pankreasa gelen parasempatik sinirlerin (nervus vagus) uyarılması	

2.4.5. İnsülinin reseptörleri ve etki mekanizması

Çizgili kas, kalp kası, fibroblastlar, yağ ve meme bezi hücreleri gibi insüline duyarlı hücre zarlarında molekül ağırlığı yaklaşık 34000 dalton olan insüline özgü reseptörler bulunur. İnsülin reseptörleri vücut dokularında farklı sayılarda bulunmaktadır. Yağ ve karaciğer doku hücresinde yaklaşık 300.000 adet iken alyuvarda 40 adettir. Serbest insülin reseptörünün yarı ömrü yaklaşık 7 saattir. Reseptör üzerinde iki alfa, iki beta alt birimi bulunur (Şekil 2.11). İnsülin disülfit köprüleriyle birbirine bağlı olan ve hücrenin dış yüzeyinde bulunan alfa alt birimine bağlanır. Disülfit köprüleriyle alfa birimlerine bağlı olan Beta-alt birimi zarın içine gömülüdür ve hücre içine taşan bölümleri serin ya da tirozin kinaz etkinliği gösterir. İnsülin hormonu ilgili reseptörünün alfa alt birimine bağlanmasıyla, serin veya tirozin kinaz enzim aktivitesini artırarak reseptörün beta-alt biriminde bulunan serin veya tirozine fosfor bağlanmasına (fosforilasyon) neden olur. Bu olay için tek fosfat kaynağı ATP'dir (Akar 1997, Yılmaz 1999).



Şekil 2.11. İnsülin reseptörü (Anonim 2007b).

Glukozun hücreye girişinde genel olarak insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan olmak üzere iki sistem vardır. Karaciğer, beyin, sinir hücreleri, bağırsak epitel hücreleri, böbrek tubul hücreleri, alyuvarlar, retina ve eşey bezleri germinal epitel hücrelerine glukoz girişi doğrudan insüline bağımlı değildir. İnsülin bu hücrelerde hekzokinaz, glikojen sentetaz enzimlerini aktive, lipaz enzimini ise inhibe ederek hücre içi glukoz kullanımını artırır. İnsülin, öncelikle karaciğer, kas ve yağ doku hücrelerinde karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasına anabolizan olarak etkir (Yılmaz 1999).

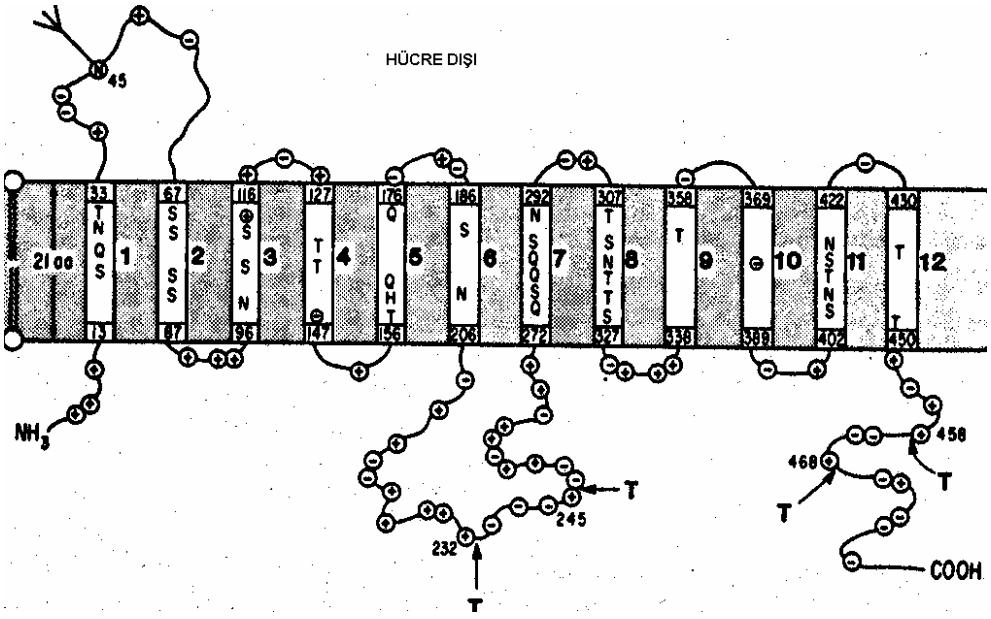
İnsülin glikoneogenezisi engeller (fosfoenol piruvat kinazın konsantrasyonunu düşürerek), keton cisimlerinin oluşumunu azaltır, aminoasitlerin proteinlere dönüşümünü ise uyarır. Protein yapımını artırması özellikle uzun süreli etkilerine örnektir. İnsülin asetil-CoA'nın ve NADPH'ın üretimini destekleyerek ve hormona duyarlı lipoprotein lipazı da inhibe ederek lipogenezi uyarır (Üstdal 2005).

2.4.6. Glukozun hücreye girişi ve glukoz transport (GLUT) proteinleri

Glukoz, tüm hücrelerde bulunan ve glukoz taşıyıcı proteinler adı verilen (GLUT) taşıyıcı proteinler aracılığı ile ekstraselüler ortamdan intraselüler ortama taşınır.

Günümüzde GLUT proteinlerinin 12 farklı tipinin bulunduğu belirlenmiş ve bunların ilk 5'inin fonksiyonları ayrıntılı olarak ortaya konulabilmiştir (Tablo 2.3). Hücre içerisinde sentezlenen taşıyıcı protein, hücre zarına geldiğinde, yapısal bir değişikliğe uğrar. Glukoz, taşıyıcı proteinin hücre dışındaki bölgesine bağlandıktan sonra bu bölümün

yönü sitoplazmaya döner ve glukoz buradan ayrılarak hücre içine geçer (Yılmaz 1999). Plazma membranlarına yakın bulunan GLUT proteinlerinin 12 sarmalı bulunmaktadır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. GLUT proteinlerinin hücre membranı üzerindeki yapısal durumu (Mueckler ve ark 1985).

Tablo 2.3. GLUT Proteinleri (Pessin ve Bell 1992, Anonim 2006b).

GLUT sistemi	En fazla bulunduğu bölge	Fonksiyonu
A- Na bağımlı glukoz taşıyıcı protein	İnce bağırsak, böbrek, bir çok hücre	Besinlerle alınan glukozun aktif emilimi, böbrekte filtre edilmiş glukozun proksimal tubullerden geri emilimi
B- Kolaylaştırılmış glukoz taşıyıcı protein 1- GLUT1	Plasenta, beyin, böbrek, kolon, eritrosit, kas, yağ hücresi	Glukozun hücrelere girişi, kan-doku bariyerinden glukoz geçişi
2- GLUT2	Karaciğer, pankreas beta-hücreleri, ince bağırsaklar, böbrek, hipotalamus	Glukozun hepatositlere girişi ve salınımı, beta-hücreleri glukoz sensörü, bağırsaklarda ve böbreklerde absorbe edilen glukozun bazolateral bölgeye salınımı, fruktoz girişi
3- GLUT3	İnsanlarda bir çok dokuda: beyin, plasenta ve böbrek, diğer türlerde en yüksek oranda beyin, testisler	İnsanlarda hücrelere bazal glukoz girişinin diğer türlerde beyine glukoz girişi
4- GLUT4	İskelet ve kalp kası, kahverengi ve beyaz yağ doku	İnsülin-bağımlı glukoz girişi
5- GLUT5	İnce bağırsağın mukozal zarı, jejenum, sperm	İnce bağırsaklardan glukoz girişi, hücrelere fruktoz girişi

GLUT1 ve 3: Karaciğer ve pankreas beta-hücreleri dışında kalan tüm hücrelerde bulunurlar. Bu proteinlerin glukoza olan Km'i 1mM olduğundan (normal kan glukoz değeri 4-8 mM) bazal glukoz taşınmasından sorumludur (Anonim 2003). Rat eritrositlerinden izole edilen GLUT 1'in 492 amino asitten kurulduğu ve % 97'den daha yüksek oranda insan eritrosit GLUT1 proteinine benzediği belirlenmiştir (Birnbaum ve ark 1986).

GLUT2: Karaciğer ve pankreas beta-hücrelerinde bulunur ve glukoza olan Km'i 15-20 mM'dır. Bu sebeple karaciğer ve pankreasa glukoz girişi daha çok yüksek kan glukoz

düzeyleriyle ilişkilidir (Anonim 2003). Suzue ve ark (1989), fare karaciğerinde 523 amino asitten kurulu GLUT proteini izole etmişler ve bunun rat ve insan GLUT2 proteini ile

% 82 - % 95 oranında benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

GLUT4: Yağ hücreleri, iskelet ve kalp kası hücrelerinde bulunan, 509 amino asitlik, 45000-50000 dalton molekül ağırlığında, glukoza Km'i 5 mM olan, insüline duyarlı taşıyıcı bir proteindir (Klip ve ark 1983, James ve ark 1988, Fukumoto ve ark 1989, Anonim 2003). Rat yağ dokusunda insülinin sitokatalasin B'nin glukoz taşıyıcı proteine bağlanmasını artırdığı belirlenerek GLUT4'ün glukoz girişini regüle ettiği ortaya konmuştur (Wardzala ve ark 1978). GLUT4 proteininin eritrosit, beyin, böbrek, jejenum ve karaciğerde bulunan GLUT proteinlerinden farklı olduğu bildirilmektedir (James ve ark 1988). Aynı araştırıcılar (James ve ark 1988), GLUT4 mRNA düzeyinin kahverengi-beyaz yağ doku, kalp ve iskelet kasında fazla miktarda bulunduğunu, beyin ve karaciğerde ise bulunmadığını bildirmektedirler. İskelet kasında GLUT proteinin lokalizasyonunun plazma membranına çok yakın olduğu belirlenmiştir (Wang 1987).

GLUT5: İnce bağırsak mukozal hücrelerinde bulunur, Na'a bağımlı glukoz girişi ile bağırsak hücresine alınan glukozun portal dolaşıma geçişinden sorumludur (Anonim 2003). Fruktoz taşıyıcı protein olarak da bilinen GLUT5, insan kas hücreleri (Kristiansen ve ark 1997) ve beyin mikroglial hücrelerinde de bulunmaktadır (Payne ve ark 1997).

GLUT6: İlk kez rat beyni, periferal lökositler ve dalakta varlığı belirlenen, önceleri GLUT9 olarak adlandırılan ancak daha sonra GLUT6 olarak kabul edilen glukoz taşıyıcı bir proteindir (Doege ve ark 2000b).

GLUT7: İlk kez rat karaciğerinden elde edilen, GLUT2 ile % 68 oranında benzerlik gösteren, 528 amino asitten kurulu GLUT7 proteini, diğer GLUT proteinlerinden farklı olarak endoplazmik retükuluma yakın bulunduğundan endoplazmik retikulum GLUT proteini olarak da adlandırılmaktadır (Waddell ve ark 1992).

GLUT8 (GLUTX1): İlk kez ratlarda belirlenen 478 amino asitten kurulu, GLUT1-5 proteinleri ile % 29-32 oranında benzerlik gösteren GLUT8, GLUTX1 adı da verilen taşıyıcı bir proteindir. En yüksek oranda testislerde bulunan ve östrojen uygulamasıyla mRNA düzeyleri azalan GLUT8, daha az oranlarda iskelet ve kalp kası, ince bağırsaklar, beyin, adrenal bezler, dalak, kahverengi yağ dokusu ve akciğerde bulunur (Doege ve ark

2000a, Ibberson ve ark 2000). Carayannopoulos ve ark (2000), GLUT8'in insüline duyarlı bir protein olduğunu, fare blastositlerinde insüline bağımlı glukoz taşınmasında görev aldığını bildirmektedirler.

GLUT10: GLUT10 geni ilk kez insanlarda tip II diyabet ile ilişkisi bilinen 20. kromozom üzerinde tanımlandığından GLUT10'un insülin rezistansı ile ilişkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (McVie-Wylie ve ark 2001).

GLUT11: İskelet ve kalp kasında bulunan, fruktoz transport proteini olan GLUT5 ile % 41.7 oranında benzerlik gösteren bir proteindir. GLUT11'in glukoz taşıyıcı aktivitesi fruktoz tarafından inhibe olur. GLUT proteinleri içinde en fazla GLUT5'e benzemesi ve fruktoz ile inhibisyonu sebebiyle fruktoz taşıyıcı bir protein de olduğu sanılmaktadır (Doege ve ark 2001).

GLUT12: GLUT12 proteini 617 amino asit içeren, ilk kez MCF-7 meme kanseri hücrelerinden elde edilen bir proteindir. İskelet kası, yağ ve ince bağırsak hücrelerinde bulunur. GLUT12'nin genomik organizasyonu GLUT10 ile benzerlik gösterir, ancak GLUT1-5 den farklıdır, amino asit sekansı yönünden GLUT4 ile % 29, GLUT 10 ile % 40 oranında benzerdir. İmmunofloresans metodlarıyla, insülin yokluğunda hücre çekirdeği etrafında bulunduğu belirlenen GLUT12 proteininin GLUT4 ve GLUT8'den sonra insüline duyarlı bir diğer glukoz taşıyıcı protein olduğu ileri sürülmektedir (Rogers ve ark 2002).

İnsülinin GLUT proteinlerine direkt ve indirekt düzenleyici etkileri vardır. İnsülinin, ratlarda kas hücrelerine [soleus, extensor digitorum longus (EDL), flexor digitorum brevis (FDB) ve epitrochlearis kasları] 2-deoksi glukozun girişini GLUT4 proteini ile ilgili olarak artırdığı bildirilmektedir (Henriksen ve ark 1990). Aynı araştırmada, GLUT4 proteininin kas lif tipleriyle ilgili olabileceği ileri sürülmektedir. İlgili Kas lif tipleri (epitrohlearis: % 15 tip I - % 20 tip IIa - % 65 tipIIb, soleus: % 84 tip I - %16 tip IIa - %0 tipIIb, EDL: % 3 tip I - % 57 tip IIa - % 40 tipIIb, FDB: % 7 tip I - % 92 tip IIa - %1 tipIIb) birbirinden farklıdır. İnsülin ve kontraksiyonun ayrı ayrı ve birlikte etkileri karşılaştırıldığında, 2-deoksi glukoz girişi insülinle en fazla soleus kasında daha sonra sırasıyla FDB, EDL ve epitrohlearis kaslarında artarken, kontraksiyonla ise en fazla artış FDB kasında daha sonra sırasıyla EDL, soleus ve epitrohlearis kaslarında gözlenmiştir. İnsülin ve kontraksiyon birlikte uygulandığında ise etki güçlenmiştir. GLUT4 protein düzeyi yününden de kaslarda farklılık vardır; GLUT4 en fazla FDB, daha sonra sırasıyla soleus, EDL ve epitrohlearis kaslarında bulunmaktadır. Klip ve ark (1990), Sprague-

Dawley ratların arka bacak kas hücrelerine insülinin glukoz girişini 5 kat artırdığını, ayrıca GLUT sistemlerinin (GLUT4) intraselüler membran fraksiyonlarından plazma membranına geçişini artırdığını bildirmişlerdir. Ratlarda, arka bacak kaslarında insülinin sitoplazmik membran GLUT4 düzeyini 2 kat artırırken, glukoz girişini 3 kat artırdığı, mikrozomal membran GLUT miktarını ise belirgin olarak azalttığı belirlenmiştir (Hirshman ve ark 1990).

Kas GLUT proteinleri artışına yalnız insülinin değil, egzersizin de etki yapabileceği ileri sürülmektedir. Altı hafta boyunca egzersiz (koşu) yaptırılan ratlarda, plantar kas GLUT düzeyleri % 60 oranında artarken soleus kasta önemli bir değişiklik belirlenemediğinden, egzersizin GLUT proteinleri yönünden her kası aynı oranda etkilemediği iddia edilmektedir (Rodnick ve ark 1990). İnsülin ve egzersizin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada (Douen ve ark 1990), ratlarda hem insülin hem de egzersizin iskelet kası plazma membran GLUT4 protein düzeyini yükselttiği, insülinin aynı zamanda intraselüler GLUT4 düzeyini azalttığı, egzersizin değiştirmediği, GLUT1 protein düzeyinin ise her iki durumda da değişmediği ortaya konmuştur (Douen ve ark 1990). Obez ratlarda ise gastroknemius kaslarında GLUT4 protein düzeylerinin, egzersizin etkisiyle, 1.7-2.3 kat arttığı belirlenmiş, bu sebeple diyabette egzersizin insülin duyarlılığını artırdığı sonucuna varılmıştır (Friedman ve ark 1990).

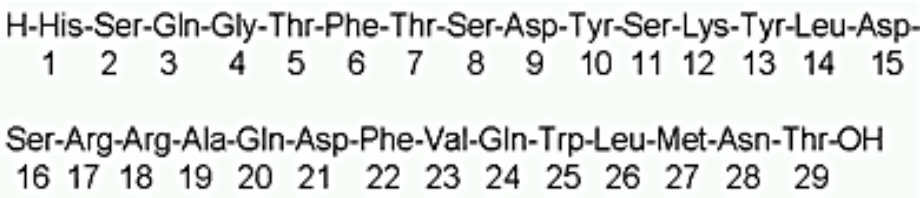
Ratlara STZ uygulamasını takip eden 7. günde hindquarter kas hücresi subselüler ve sitoplazmik membran GLUT4 düzeyinde azalma ile birlikte, hücreye glukoz girişinde % 50-70'lik düşme gözlenmiş, bu sebeple insülin noksanlığı ile oluşan diyabette kas hücresine glukoz girişinden GLUT4 proteinlerinin sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (Klip ve ark 1990). STZ-diyabetik rat karaciğerinde GLUT2 protein düzeylerinin arttığı ve insülin uygulamasının bu artışı engellediği ortaya konulmuştur (Oka ve ark 1990).

Yağ dokuda GLUT4'ün insüline duyarlılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada (Sivitz ve ark 1989), sağlıklı ratlarda açlığın GLUT4 mRNA düzeylerini azalttığı, gıda alımı ile birlikte GLUT4 mRNA düzeylerinin arttığı ve bu artıştan insülinin sorumlu olduğu, STZ-diyabetiklerde ise GLUT4 mRNA düzeylerinin kontrola göre 10 kat azaldığı, insülin uygulamasının diyabetiklerde GLUT4 mRNA düzeylerini 18 kat artırdığı belirlenmiş, GLUT1 mRNA düzeylerinde bütün uygulamalarda belirgin bir fark görülmemiştir. Hem açlık hem de diyabette GLUT4 düzeyinin azalmasının insülinsizlikten kaynaklandığı, kan glukoz düzeylerinin GLUT4 proteinlerine direkt bir etkisinin olmadığı ve insülinin GLUT4 protein genini etkilediği sonucuna varılmıştır.

Çeşitli etkenlerle insülin noksanlığı veya insüline direnç gelişiminde glukozun hücre içine girişi ve kullanımının aksamasıyla Diyabetes Mellitus veya Şeker Hastalığı adı verilen metabolik bozukluk meydana gelmektedir.

2.4.7. Glukagon

İlk kez 1923 yılında varlığı belirlenen glukagon, pankreasın Alfa hücrelerinde yapılan, 29 aminoasitlik tek bir polipetid zincirinden kurulu, 3500 dalton molekül ağırlığında bir hormondur. Glukagonun türlere göre değişmediği, insan, sığır, domuz tavşan ve rat glukagon yapısının aynı olduğu kabul edilmektedir. Glukagona yapısal ve fonksiyonal olarak benzerlik gösteren bir başka hormon olarak da enteroglukagon ya da glisentin gösterilmektedir. Bu hormon hipoglisemide bağırsak hücrelerinde yapılır (Yılmaz 1999, Anonim 2005).

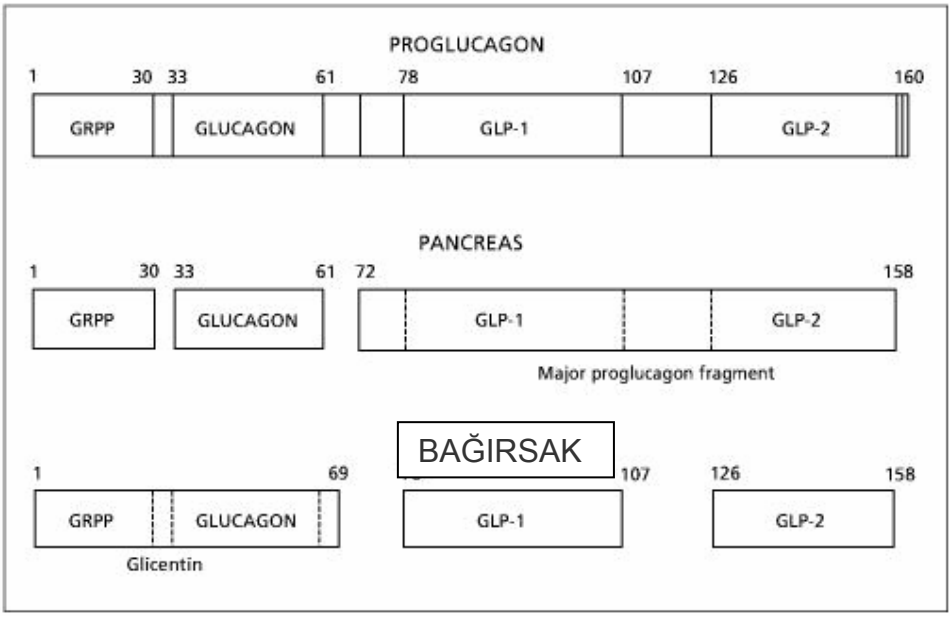


Şekil 2.13. Glukagon molekülü (Anonim 2005).

2.4.7.1. Glukagonun yapısı, sentezi, salınımı ve taşınması

Pankreas langerhans adacıkları alfa hücrelerinde önce molekül ağırlığı 18000 dalton olan preproglukagon, daha sonra bundan 12000 daltonluk proglukagon oluşturulur. Proglukagon da 3500 dalton molekül ağırlıklı aktif glukagona dönüştürülerek hücrelerin granüllerinde depolanır. Plazmadaki glukagonun heterojen bir dağılım gösterdiği, >9000, 3500 ve 2000 daltonluk parçalarının bulunduğu kromotografik olarak belirlenmiş, ancak bunlar içinde biyolojik olarak aktif olanın 3500 dalton molekül ağırlıktaki glukagon olduğu bildirilmiştir. 9000 daltonluk parçanın 3500 daltonluktan daha az aktif olduğu ve tripsinin etkisiyle 3500 daltonluk parçaya dönüştürüldüğü, ayrıca 2000 daltonluk parçanın bir yıkılma ürünü olabileceği ileri sürülmektedir. Kan glukoz düzeyinin azalması (insanda 60 mg/dl) veya diğer uyarıcı faktörler ile depo glukagon serbest kalır ve eksositoz yoluyla portal dolaşıma karışır. Glukagon kanda taşıyıcı bir proteine bağlanmadan taşınır ve plazma yarı ömrü insanda yaklaşık 5 - 10 dakikadır. Glukagon karaciğer, böbrekler gibi

ilgili reseptörlerinin bulunduğu hücre zarlarında yıkımlanır, % 1'inden az bir kısmı da idrarla atılır (Yılmaz 1999, Anonim 2005, Anonim 2006a).



Şekil 2.14. Glukagonun pankreas ve bağırsaklarda posttranslasyonal işlenmesi (Anonim 2007c).

Öncelikle kan glukozunun düşmesi, proteinden zengin beslenme sonrasında amino asitlerden özellikle alanin, arjinin, serin, glisin, sistin ve treoninin kandaki düzeyinin artması glukagon salınımını güçlü bir şekilde uyarır. Ayrıca trigliseridler, glikokortikoidler, katekolaminler, büyüme hormonu, sekretin dışındaki mide-bağırsak hormonları, teofilin, sempatik sinirlerin uyarılması, beta-adrenerjik reseptörlerin uyarılması, sAMP ve stres durumları da glukagon salınımını artırmaktadır. Glukoz, ketonlar, serbest yağ asitleri, somatostatin, fenition, alfa-etkili sempatomimetik ilaçlar, insülin, gama amino bütirik asit ve sekretin ise glukagon yapımını azaltır (Yılmaz 1999).

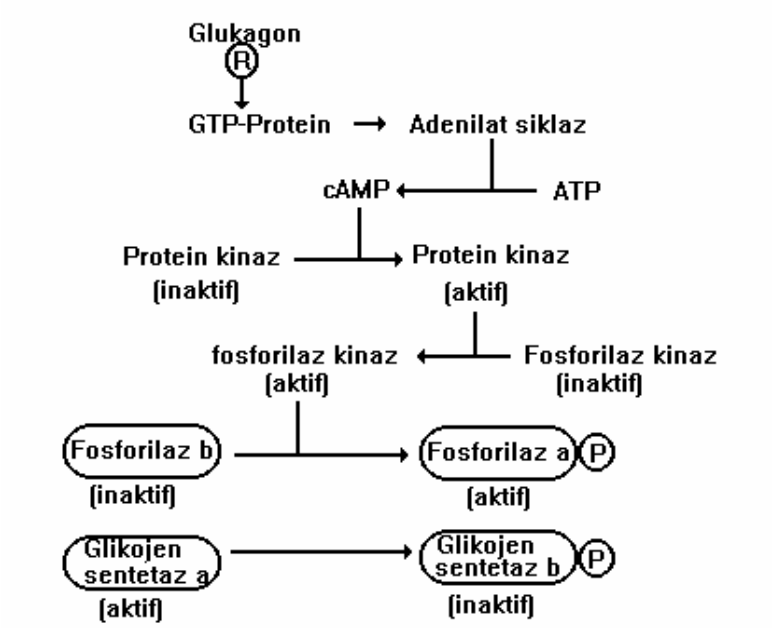
Arjinin amino asitinin alfa hücrelerinde sitoplazmik Ca^{+2}'u yükselttiği, glukozun ise % 30 oranında düşürdüğü bu sebeple glukagon salınımının uyarılmasında sitoplazmik Ca'un da etkili olduğu ileri sürülmüştür (Johansson ve ark 1987).

2.4.7.2. Glukagon reseptörleri

Karaciğer, yağ dokusu ve pankreas adacık hücrelerinde protein yapısında, yaklaşık 19000 dalton molekül ağırlığında olan glukagona spesifik reseptörler bulunur (Yılmaz 1999). Glukagon reseptörü G-proteine bağlı reseptörler grubundan olup glukagon benzeri peptid-1, sekretin gibi peptidlerin reseptörlerinin de içinde bulunduğu reseptörler grubundandır. Glukagonun reseptöre bağlanmasında reseptörün N-terminalinin 126-137.-206-209. amino asitlerinin rol aldığı bildirilmektedir (Tam 1999).

2.4.7.3. Glukagonun etkileri

Glukagon adrenalin gibi kısa süreli etki eden bir hormondur. Kan glukozu yükseltici etkisini öncelikle karaciğer hücrelerinde glikogenolizisi ve glikoneogenezisi artırarak gerçekleştirir. Glukagonun karaciğerdeki ilgili reseptörüne bağlanmasıyla adenilat siklaz etkinleşerek sAMP düzeyi yükselir. sAMP protein kinazı, protein kinaz da fosforilazı aktive eder. Aktif fosforilaz kinaz, glukozu glikojen molekülünden glukoz-1-fosfat olarak ayırır, fosfataz enzimi de glukoz-1-fosfattan fosfatı ayırarak glukozu serbest hale geçirir ve ekstraselüler ortama verilmesini sağlar, böylece kan glukoz düzeyi birkaç dk. içerisinde yükseltilir (Şekil 2.15). Ayrıca glukagon glikoneogenetik yolla glukoz yapımını artırarak da kan glukoz düzeyinin yükselmesine katkı sağlar. Glukagon ilgili reseptörlerinin bulunduğu yağ hücrelerinde lipazı aktifleştirerek yağların yıkılımını artırır. Bunun sonucunda dolaşımdaki yağ asidi miktarı artar. Glukagonun bir diğer önemli etkisi de karaciğerde keton cisimleri sentezini artırmasıdır (Yenson 1988, Yılmaz 1999).



Şekil 2.15. Glukagonun etki mekanizması (Serpek 2000).

2.4.8. Diyabetes mellitus

Diyabetes mellitus Tip I ve Tip II ve diğer diyabet tipleri olarak 3'e ayrılır. Tip I diyabet pankreasın beta-hücrelerinde immuniteye bağımlı veya idiopatik olarak hasar şekillenerek abzolut insülin yetersizliği ile karakterizedir. Tip II diyabet ise yeterli düzeyde insülin bulunmasına karşın insülinin reseptörlerine olan affinitesinin azalmasıyla insüline direnç şekillenmesi sonucu oluşur ve relatif insülin yetersizliği ile karakterizedir (Yılmaz 1999, Watkins 2003).

2.4.8.1. Tip I diyabet

Tip I Diyabet öncelikle gençlerde (15-30 yaş arası) akut bir şekilde ortaya çıkan, genetik ve çevresel etkilerle pankreasın beta-hücrelerinde antikor gelişimi ve insülitisle karakterize olan diyabet tipidir. Genetik olarak şekillenen tipte, beta-hücreleri hasarının yaşamın ilk zamanlarında başladığı iddia edilmektedir. Pankreasta glutamik asit dekarboksilaz (GAD), tirozin fosfataz (TF) gibi bazı proteinlere karşı da antikor gelişerek Tip I diyabetin oluşumuna katkı sağladığı sanılmaktadır. İmmunsupresif uygulamalar hastalığın gelişimini önlemede kullanılabilirse de rutin uygulamalarda istenmeyen sonuçlara sebep olabilmektedir. Çevresel etkilerden en önemlileri viruslardır. Hayvanlarda virus ile deneysel olarak oluşturulan şeker hastalığında pankreasda lenfositlerin, kanda ise

beta-hücrelerine karşı antikorların arttığı görülmektedir (Yılmaz 1999, Watkins 2003). Deneysel diyabet insülin salınımını bloke eden maddelerle (D-mannoheptuloz, 2-deoksiglukoz, alloksan ve STZ) oluşturulabilmektedir. D-mannoheptuloz ve 2-deoksiglukoz kısa süreler için insülin salınımını bloke ederek geçici, alloksan ve STZ ise pankreasın beta-hücrelerinde dejenerasyon ve atrofiye sebep olarak kalıcı diyabet oluştururlar (Tiftik 1996).

STZ'nin Streptomyces achromogenes tarafından sentezlenen N-metil nitrozokarbamil glukozamin yapısında (Hinz ve ark 1973) bir madde olduğu, pankreas beta-hücrelerinde poli adenin difosfo riboz sentetaz aktivitesini artırarak ilgili hücre DNA'sını parçaladığı, aynı zamanda NAD düzeylerini azaltarak dejenerasyonlara yol açtığı, bu etkileriyle proinsülin sentezini bloke ederek insülin noksanlığı ile karakterize Tip I diyabeti oluşturduğu bildirilmektedir (Masiello ve ark 1981, Yamamoto ve ark 1981). STZ yapısında bir mol glukoz bulunduğundan pankreas beta-hücrelerine yüksek affinite gösterir. Ratlara intravenöz ^{14}C-STZ uygulamasından 1 saat sonra STZ'nin en fazla karaciğer ve böbrekte, daha az oranda da pankreasta biriktiği belirlenmiş, ancak en yüksek oranda pankreas proteinlerine bağlandığı gözlenmiştir (Masiello ve ark 1981). Yamamoto ve Okamoto (1980), rat pankreas hücrelerinde in vitro STZ'nin proinsülin içeriğini azalttığını, bir poli(ADP) riboz sentetaz inhibitörü olan pikolinamid'in ise STZ'nin proinsülin sentezi blokajını kaldırdığını belirlemişlerdir. Farelerde 5 gün süreyle i.p. yolla 40 mg/kg STZ uygulamasını takiben, adacık hücrelerindeki değişimler incelenmiş (Li ve ark 2000), çalışmanın 7. gününden itibaren insülitisin ve hipergliseminin görüldüğü ve beta-hücrelerinin degranüle olduğu, 14. günde insülitisin arttığı ve beta-hücrelerinin adacık içerisinde neredeyse tamamen atrofiye olduğu, alfa-hücrelerinin ise genişleme göstererek tüm adacık hücrelerine oranla 2-3 kat arttığı gözlenmiştir.

2.4.8.2. Tip II diyabet

Sinsi bir seyir göstererek uzun yıllar sonra ortaya çıkan, yetişkin tip şeker hastalığı olarak da adlandırılan Tip II diyabet, sebepleri kesin olarak bilinmemekle birlikte şişmanlık, adacık damar sklerozunun geliştiği yaşlılık, ikiden fazla gebelikler, ağır çalışmalar, büyüme hormonu, kortizon, glukagon, epinefrin ve tiroid hormonlarının fazlalığı, pankreatitis, pankreatomi, Kuşing Sendromu, Akromegali, beyin tümörleri gibi durumlarda ortaya çıkabilen metabolik bir bozukluktur. Ayrıca, insülinin yapısı, salınımı ve reseptörlerinde mutasyonlara yol açan etkenler de bozukluğun oluşumunda rol alırlar.

Langerhans adacık hücre defektine bağlı olarak azalan insülin salınımı yanı sıra insülinin periferdeki etkinliği de azalmaktadır. Relatif insülin yetersizliğinin geliştiği obez kişiler tip II diyabet oluşumuna çok duyarlı olduklarından obezitenin insülin direnci şekillenmesinin başlıca sebebi olduğu iddia edilmektedir (Yılmaz 1999, Watkins 2003).

Mogensen (2002), Tip II diyabet risk grubunu öncelikle 45 yaş üstü ve altı olarak ikiye ayırmakta, 45 yaş altı risk grubunu ise obez, 4 kg üstünde bebek doğumu yapanlar, hipertansiyonlular, HDL düzeyleri düşük ve trigliserid düzeyleri yüksek olanlar olarak sınıflandırmaktadır.

2.4.8.3. Diğer diyabet tipleri

Mitokondrial diayabet: Mitokondrial A3243G DNA mutasyonuyla meydana gelen, anneden çocuğa geçen ve özellikle zayıf kişilerde görülen bu tip diyabette mikrovasküler komplikasyonlar şekillenmektedir (Watkins 2003).

Alimenter Diyabet: Şekerli besinlerin fazla miktarda, uzun süreli alınmasıyla bu tür diyabet oluşabilmektedir.

Renal Diyabet: Genellikle irsi olan böbrek tubul epitellerindeki bozuklukla ilişkili olarak glukozun geri emiliminin azalmasından kaynaklanan bir diyabet tipidir.

Florizin Diyabeti: Florizin böbrek tubullerinde glukozun hücre içi fosforilasyonunu engeller.

Gebelik Diyabeti: Gebelikte insüline duyarlılığın azalmasıyla gelişen geçici bir diyabet durumudur.

İnsülin Diyabeti: Uzun süreli insülin alınmasıyla şekillenen beta-hücre atrofisinden kaynaklanan diyabet tipidir.

Açlık Diyabeti: Uzun süreli açlıkta insülin salınımının azalmasıyla şekillenen bir bozukluktur (Yılmaz 1999).

2.4.9. ß-endorfinin diyabetes mellitus ile ilişkisi

Günümüzde özellikle Tip II Diyabetin tedavisi etkin bir şekilde yapılamamaktadır. Kanda yeterli insülin bulunmasına karşın, glukozun hücrelere girişi yeterli düzeyde gerçekleşememekte ve kan glukoz düzeyleri yükselmektedir. Bu hastalara ß-end

düzeylerinde artışa yol açan egzersiz önerilmekte ve egzersizin kan glukoz düzeylerini düşürdüğü iddia edilmektedir (Bouix ve ark 1996).

Pankresta ß-end bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. ß-end, pankreas langerhans adacıklarına etkiyerek plazma glukoz, insülin ve glukagon düzeylerini değiştirmektedir (Watkins ve ark 1980, Khawaja ve ark 1990).

ß-end'in karbonhidrat metabolizmasına etkileri hayvanın türüne, verilme yoluna ve dozuna göre değişmektedir. Sağlıklı ratlarda ß-end'in 0.05 mg/kg/saat dozunda 90 dk infüzyonu sonucunda plazma insülin, glukoz ve glukagon düzeylerinin önemli düzeyde etkilenmediği belirlenmiştir (Jamurtas ve ark 2001). STZ-diyabetik ratlarda ise bir μ-agonisti olan loperamid 17.6 μg/kg dozda plazma glukoz düzeyini 425 mg/dl'den 370 mg/dl'ye düşürmüştür. Sağlıklılarda ise aynı dozda loperamid herhangi bir değişime sebep olmamıştır. Liu ve ark. (1999a), STZ'li ratlarda sentetik insan ß-end'in i.v. 12.8 μg/kg dozda uygulanması sonrası 15. ve 20. dk'larda plazma glukoz düzeylerinin 0. dk glukoz düzeylerine göre önemli düzeyde düştüğünü gözlemlemişlerdir.

Tip II diyabetik bireylerde 2.5 mg i.v. bolus ß-end uygulamasından 7.5 dakika sonra insülin ve glukagon düzeylerinin yükseldiği, glukoz düzeylerinin ise düştüğü belirlenmiştir (Reid ve ark 1984).

ß-end'in in vitro kas hücrelerine glukoz girişini artırdığı (Evans ve ark 1997), ß-end gibi bir μ-agonisti olan loperamidin in vitro STZ-diyabetik rat soleus kasına glukoz girişini önemli düzeyde (%51) artırdığı (Liu ve ark 1999b) bildirilmiştir.

ß-end'in ratlarda kan glukoz düzeylerini düşürdüğü ileri sürülen çalışmada (Liu ve ark 1999a) insan ß-end'i kullanılmış ancak peptid yapısında olan bu maddenin türler arasındaki farklılığı dikkate alınmamış, ayrıca in vivo çalışmalarda (Hsu ve ark 2002, Liu ve ark 1999a) plazma ß-end, insülin ve glukagon düzeyleri ile glukoz arasındaki ilişki ortaya konulmamıtırş. Bu çalışmada i.p rat ß-end'nin sağlıklı ve STZ-diyabetik ratlarda plazma ß-end, glukoz, insülin ve glukagon düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Araştırmada hayvan materyali olarak 11-12 haftalık, 150-250 g canlı ağırlıklı, 117 adet erkek Sprague-Dawley ırkı rat kullanıldı. Ratlar adaptasyon amacıyla 2 hafta süreyle 21^0C ± 2'de, 14:10 saat aydınlık-karanlık siklusunda, standart rat yemi (Purina, Kanada) (Tablo 4) ve su ile *ad libitum* beslendi. Ratlar adaptasyon ve araştırma süresince 240-250 cm^2 alanda bir rat olacak şekilde, yonga talaşı altlıklı ve polikarbonat kafeslerde (Tecniplast, İtalya) barındırıldı (Harkness ve Wagner 1995).

Tablo 3.1. Purina rat yemi bileşimi

Yem Bileşimi	Miktar	%	Birim
Kuru Madde	en az	88.0	
Ham Protein	en az	23.0	
Ham Selüloz	en çok	5.0	
Ham Kül	en çok	8.0	
HCL'de Çöz. Kül	en çok	1.0	
Kalsiyum	en az-en çok	1-1.3	
Fosfor	en az	0.9	
Sodyum	en az-en çok	0.5-0.6	
NaCl	en çok	1.0	
Lizin	en az	1.35	
Metiyonin	en az	0.45	
Sistin	en az	0.35	
Vit. A	en az	15.000	IU/kg
Vit. D	en az	3.300	IU/kg
Vit. E	en az	40	mg/kg
Vit.B2	en az	5	IU/kg
Vit. B12	en az	20	mcg/kg
Vit. K3	en az	5	mg/kg
Metabolik Enerji	en az	3100	kcal/kg

3.2. Metot

Streptozotosin-diyabet oluşturmak amacıyla canlı ağırlıkları birbirine yakın 75 adet rata taze olarak çözündürülen STZ (Katalog no: S0130, Sigma-Aldrich Co.) (pH 4.5, 0.1 M sitrat buffer içinde) 60 mg/kg tek dozda intraperitonal (i.p) yolla verildi ve hayvanlar gözlem altına alındı. İki hafta sonra polifaji ile polidipsi görülen ve kan glukoz düzeyi 250

mg/dl'nin (GlukoDr, Allmedicus Co. Ltd., Kore) üstünde olan 42 adet rat çalışmada kullanılmak üzere seçildi (Liu ve ark 2001, Cheng ve ark 2003, Bae ve ark 2005).

Sağlıklı ve STZ-diyabetiklerde kontrol ve deneme gruplarını oluşturmak için hayvanların kuyruk venasından alınan kan örnekleirnde glukoz düzeyleri belirlendi. Ortalama glukoz düzeyleri eşit olacak şekilde hayvanlar 6'şarlı gruplara ayrılarak numaralandırıldı.

Sağlıklı grup; Sağlıklı Kontrol (SK, n=18), Sağlıklı Deneme 1 (SD1, n=12) ve Sağlıklı Deneme 2 (SD2, n=12) gruplarına, SK grubu da 6'şarlı 3 gruba, SD1 ve SD2 grupları ise 6'şarlı 2 gruba ayrıldı.

Sağlıklı Kontrol (SK) grubunu oluşturan 18 ratın ilk 6'sından başlangıç değerlerini belirlemek amacıyla anestezi sonrası intrakardiak (i.c.) yolla kan örnekleri (1.5 ml) alındı. 12 adet rata ise, anestezi sonrası plasebo fizyolojik tuzlu su (FTS) (0.2 ml/200 g) i.p. yolla verildi, 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk'da i.c. yolla kan örnekleri alındı.

Sağlıklı Deneme 1 (SD1) grubunu oluşturan 12 rata 25 μg/kg β-endorfin (0.2 ml/200 g, FTS içinde) (Katalog: H-2814.0500, Bachem AG, İsviçre) (Matsumara ve ark 1984) i.p yolla (King ve ark 1979) verildi, 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk'da i.c. yolla kan örnekleri alındı. Sağlıklı Deneme 2 (SD2) 12 rata 50 μg/kg β-endorfin (0.2 ml/200 g, FTS içinde) i.p. yolla verildi, 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk'da i.c. yolla kan örnekleri alındı (Tablo 3.2).

STZ-Diyabetik grup; STZ-Diyabet kontrol (STZ-DK, n=18), STZ-Diyabet Deneme 1 (STZ-DD1, n=12) ve STZ-Diyabet Deneme 2 (STZ-DD2, n=12) gruplarına ayrıldı. STZ-DK grubu 6'şarlı 3 gruba, STZ-DD1 ve STZ- DD2 grubu ise 6'şarlı 2 gruba ayrıldı.

STZ-Diyabet kontrol (STZ-DK) grubunu oluşturan 18 ratın ilk 6'sından başlangıç değerlerini belirlemek amacıyla anestezi sonrası i.c. yolla kan örnekleri (1.5 ml) alındı. 12 adet rata ise anestezi sonrası plasebo FTS (0.2 ml/200 g) i.p. yolla verildi, 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk'da i.c. yolla kan örnekleri alındı.

STZ-Diyabet Deneme 1 (STZ-DD1) grubunu oluşturan 12 rata 25 μg/kg β-endorfin (0.2 ml/200 g, FTS içinde) i.p. yolla verildi ve 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk i.c. yolla kan örnekleri alındı. STZ-Diyabet Deneme 2 (STZ-DD2) grubunu oluşturan 12 rata 50 μg/kg β-endorfin (0.2 ml/200 g, FTS içinde) i.p. yolla verildi ve 6'sından 15., diğer 6'sından da 30. dk i.c. yolla kan örnekleri alındı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2'de gruplar ve denek sayıları verilmiştir.

Tablo 3.2. Gruplar ve denek sayıları

Gruplar	0. dk	15.dk	30. dk
SK	n=6	n=6	n=6
SD1 (25 μg/kg ß-end)	-	n=6	n=6
SD2 (50 μg/kg ß-end)	-	n=6	n=6
STZD- K grubu	n=6	n=6	n=6
STZ-DD1 (25 μg/kg ß-end)	-	n=6	n=6
STZ-DD2 (50 μg/kg ß-end)	-	n=6	n=6

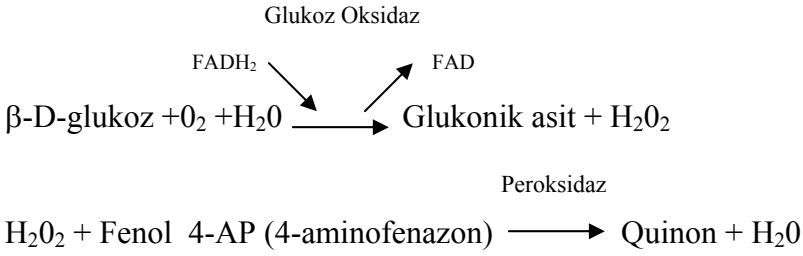
3.3. Örnekleme ve Analiz

Hayvanlar, insülin, glukoz (Cardoso ve ark 2005) ve ß-end (Helman ve ark 1983, Way ve ark 1984) düzeylerini etkilemeyen thiopental (40 mg/kg canlı ağırlık, Pental Sodium, İ.E. Ulagay İlaç San., İstanbul,Türkiye) ile anestezi edildi. Kan örnekleri glukozun alyuvarlar tarafından kullanımını engelleyen NaF (Merck) (1 mg/ml kan), EDTA (Merck) (1-2 mg/ml kan) ve proteaz inhibitörü aprotinin (500 KIU/ml, Katalog: A4529, Sigma-Aldrich Co.) bulunan polietilen tüplere alındı, $+4^0$ C'de 1600 g'de 15 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrımlandı (Bright ve ark 1983, Guigliano ve ark 1992, Liu ve ark 1999a, Yamada ve ark 2002). Plazma glukoz düzeyleri glukoz oksidaz metoduna göre (Spinreact SA, Glucose LQ, İspanya) spektrofotometrik olarak belirlendi ve diğer ölçümler için plazmalar -80^0 C'de saklandı.

Plazma Glukoz Düzeyleri

Glukoz düzeyleri, spektrofotometrik olarak (UV 2100 UV-VIS Recording Spectrophotometer Shimadzu, Japonya) glukoz oksidaz metoduna göre çalışan Spinreact Glukoz kiti (İspanya) ile belirlendi.

Prensip:



Hesaplama:

(Örnek Absorbansı/Standart Absorbansı) x Standart Konsantrasyonu = mg/dl glukoz

Plazma İnsülin Düzeyleri

Rat insülinine spesifik Linco RIA kiti (Research, Missouri, USA) ile plazma insülin düzeyleri belirlendi.

Prensip:

Hormon analizinde, işaretli hormon (tracer) (^{125}I-insülin) spesifik antikoruna bağlanabilmek için işaretlenmemiş hormon ile yarışır. Antikora bağlı tracer oranı, ortamdaki hormon (plazmada veya standartta bulunan) miktarı ile ters orantılıdır. Antikora bağlanmamış tracerlar ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra, antikora bağlı tracer miktarının gamma sayacında (Mini-Assay, tip: 6-20, Seri no: 01764, İngiltere) okunmasıyla örnekteki hormon miktarı belirlenir. Hormon miktarının hesaplanması aynı prensipten hareketle oluşturulan standart eğri aracılığı ile yapılır.

Kit İçeriği:

1- Assay Buffer: Fosfosalin (0.05 M, pH 7.4), EDTA (0.025 M), sodyum azid (% 0.08), bovine serum albumin (BSA, %1 RIA grade).

2- Antiserum: Assay buffer içinde kobay anti-rat serumu.

3- HPLC ile saflaştırılmış, ^{125}I bağlı insülin (spesifik aktivite 367 μCi/ μg), liyofilize.

4- İşaretli hormonu hidrate edici buffer: Kobay IgG.

5- Standartlar: Standart buffer içinde saf rat insülini (0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 ng/ml).

6- Kalite kontrolleri: Assay buffer içinde saf rat insülini.

7- Presipitasyon reagent: Fosfosalin (0.05 M), EDTA (0.025 M) ve sodyum azid (% 0.08) içerisinde Keçi anti kobay-IgG serumu, PEG (%3) ve triton X-100 (% 0.05).

Hesaplama:

Gamma sayacında NSB (non-spesifik bağlanma), Bo (Total Bağlanma), standart ve örnek cpm'leri belirlendi. Örnek ve standartlar çift örnek çalışıldı.

NSB, tüm değerlerden (Örnek, standart, Bo) çıkarıldıktan sonra ham değerler hesaplandı.

%B/Bo (% bağlanma) = (Örnek veya Standard / Bo) X 100

Yüzde (%) değerleriyle log/log grafik kağıdında çizilen standart eğrisinden örneklerdeki insülin düzeyleri belirlendi. Kitte metodun intra ve interassay katsayıları 0.5 ng/ml için sırasıyla %2.2 ve %8.9, kit hassasiyeti de 0.1-10 ng/ml olarak verilmektedir.

Plazma Glukagon Düzeyleri

Pankreatik glukagona spesifik bir kit olan Linco (Research, Missouri, USA) ile plazma glukagon analizleri yapıldı.

Prensip:

Hormon analizinde, işaretli hormon (tracer) (^{125}I-glukagon) spesifik antikoruna bağlanabilmek için işaretlenmemiş hormon ile yarışır. Antikora bağlı tracer oranı, ortamdaki hormon (plazmada veya standartta bulunan) miktarı ile ters orantılıdır. Antikora bağlanmamış tracerlar ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra, antikora bağlı tracer miktarının gamma sayacında (Mini-Assay, tip: 6-20, Seri no: 01764, İngiltere) belirlenmesiyle örnekteki hormon miktarı hesaplanır. Hormon düzeylerinin hesaplanması aynı prensipten hareketle oluşturulan standart eğri aracılığı ile yapılır.

Kit İçeriği:

1- Assay Buffer: Glisin (0.2 M, pH 8.8), EDTA (0.03 M), sodyum azid (% 0.08), BSA (% 1, RIA grade).

2- Assay buffer içinde glukagon antikoru: Kobay anti-glukagon serumu.

3- HPLC ile saflaştırılmış ^{125}I bağlı glukagon (spesifik aktivite 603 μCi/ μg), liyofilize.

4- İşaretli hormonu hidrate edici buffer: Glisin içeren assay buffer.

5- Assay buffer içinde standartlar: Saf rekombinant glukagon (20, 50, 100, 200, 400 pg/ml).

6- Kalite kontrolleri: Assay buffer içinde saflaştırılmış rekombinant glukagon.

7- Presipitasyon reagent: Fosfosalin (0.05 M), EDTA (0.025 M) ve sodyum azid (0.08 %) içerisinde Keçi anti-kobay IgG serumu, PEG (%3) ve triton X-100 (% 0.05).

Hesaplama:

Gamma sayacında NSB (non-spesifik bağlanma), Bo (Total Bağlanma), standart ve örnek cpm'leri belirlendi. Örnek ve standartlar çift örnek çalışıldı.

NSB, tüm değerlerden (Örnek, standart, Bo) çıkarıldıktan sonra ham değerler hesaplandı.

%B/Bo (% bağlanma) = (Örnek veya Standard / Bo) X 100

Yüzde (%) değerleriyle log/log grafik kağıdında çizilen standart eğrisinden örneklerdeki glukagon düzeyleri belirlendi. Kitte metodun, intra ve interassay katsayıları 60 pg/ml için sırasıyla % 6.8 ve % 13.5, kit hassasiyeti 20-400 pg/ml olarak verilmektedir.

Plazma ß-endorfin Düzeyleri

Rat ß-end'nine spesifik olan Phoenix (Pharmaceuticals, Inc. Belmont, California) kiti kullanılarak plazma ß-end düzeyleri belirlendi.

Prensip:

Hormon analizinde, işaretli hormon (tracer) (^{125}I-ß-end) spesifik antikoruna bağlanabilmek için işaretlenmemiş hormon ile yarışır. Antikora bağlı tracer oranı, ortamdaki hormon (plazmada veya standartta bulunan) miktarı ile ters orantılıdır. Antikora bağlanmamış tracerlar ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra, antikora bağlı tracer miktarının gamma sayacında (Mini-Assay, tip: 6-20, Seri no: 01764, İngiltere) belirlenmesiyle

örnekteki hormon miktarı belirlenir. Hormon miktarının hesaplanması aynı prensipten hareketle oluşturulan standart eğri aracılığı ile yapılır.

Kit İçeriği:

1- RIA Buffer

2- Standart peptid: 12.8 μg/kg

3- Hormona spesifik tavşan antiserumu (liyofilize)

4- ^{125}I-ß-end, 1.5 μCi (liyofilize)

5- Keçi anti tavşan IgG serumu (liyofilize)

6- Tavşan serumu

Hesaplama:

Gamma sayacında NSB (non-spesifik bağlanma), Bo (Total Bağlanma), standart ve örnek cpm'leri belirlendi. Örnek ve standartlar çift örnek çalışıldı. NSB, tüm değerlerden (Örnek, standart, Bo) çıkarıldıktan sonra ham değerler hesaplandı.

%B/Bo (% bağlanma) = (Örnek veya Standard / Bo) X 100

Yüzde (%) değerleriyle semi-log grafik kağıdında çizilen standart eğrisinden örneklerdeki ß-end düzeyleri belirlendi. Kit hassasiyeti 10-1280 pg/ml'dir.

3.4. İstatistik

Gruplar arasındaki farkları değerlendirmede ANOVA ve Duncan, diyabetik ve sağlıklılar arasındaki farkları değerlendirmede Student's t-test kullanıldı. ß-end değerleri log 10'a çevrildikten sonra Duncan ve t-testleri uygulandı.

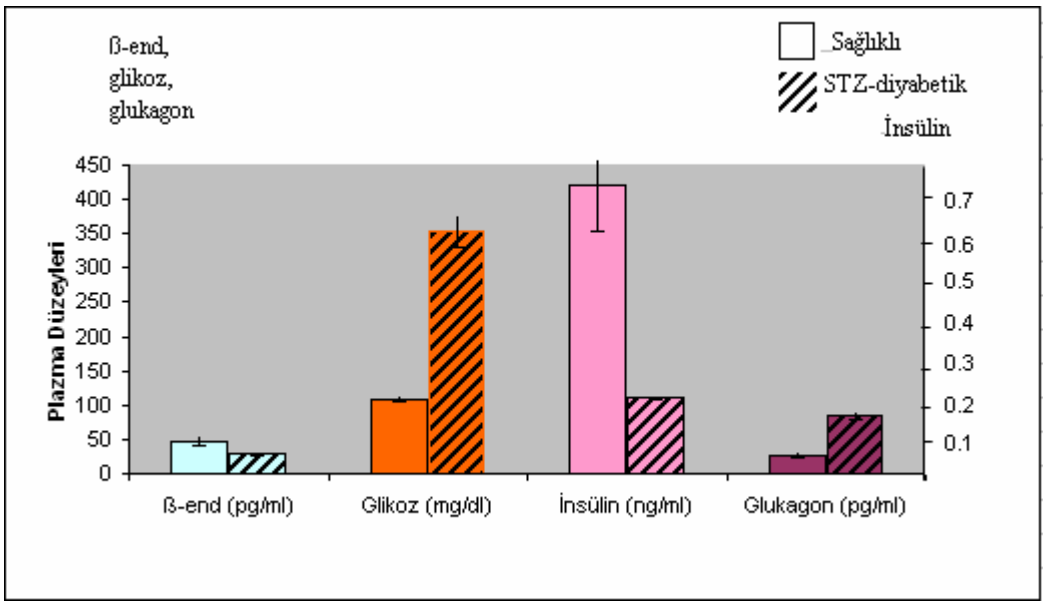
4. BULGULAR

STZ diyabetik kontrol gruplarında plazma glukoz ve glukagon düzeylerinin sağlıklı kontrol gruplarına göre belirgin olarak yükseldiği ($p<0.001$), insülin düzeylerinin ise düştüğü ($p<0.001$) tesbit edildiğinden ratlarda STZ uygulamasını takiben Deneysel Tip I diyabet modelinin oluştuğu kabul edildi (Tablo 4.1, Grafik 4.1).

Tablo 4.1. Sağlıklı (n=6) ve STZ diyabetik (n=6) kontrol gruplarında başlangıç kan parametreleri,

Parametre	Sağlıklı ($\bar{X} \pm SH$)	STZ-diyabetik ($\bar{X} \pm SH$)	p
ß-end (pg/ml)	48.17 ± 6.06	28.83 ± 3.27	*
Glukoz (mg/dl)	108.83 ± 3.79	354.00 ± 23.85	***
İnsülin (ng/ml)	0.726 ± 0.021	0.237 ± 0.044	***
Glukagon (pg/ml)	27.67 ± 5.23	83.83 ± 5.75	***

*p<0.05, ***p<0.001



Grafik 4.1. Sağlıklı ve STZ-diyabetik ratlarda kan parametreleri

STZ uygulamasından 14 gün sonra rat canlı ağırlıklarının belirgin olarak ($p<0.001$) düştüğü (205.0 ± 10.7 - 163.0 ± 12.1 g) gözlendi. Sağlıklılarda ise canlı ağırlık yönünden önemli bir fark (161.17 ± 3.43 g - 164.50 ± 4.66 g) belirlenemedi ($p>0.05$).

Uygulamadan kaynaklanan stresin kan parametrelerine etkileri SK ve STZ-DK gruplarında farklılıklar göstermektedir (Tablo 4.2 - 4.3). SK gruplarında ß-end düzeyleri zamanla düşerken ($p<0.05$), STZ-DK'lerde ise bu düşme ancak 30. dk'da görüldü ($p>0.05$). Plazma glukoz ve insülin düzeyleri SK'larda zamanla azalırken, diyabetiklerde arttığı ($p>0.05$) belirlendi. Diğer yandan plazma glukagon düzeylerinin sağlıklılarda zamanla artarken, diyabetiklerde ise azaldığı ($p>0.05$) (Tablo 4.2 - 4.3) tespit edildi.

Kontrol ve deneme gruplarında i.p. ß-end uygulamalarının plazma ß-end, glukoz, insülin ve glukagon düzeylerine etkileri Tablo 4.2 ve 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Sağlıklı ratlarda ß-end'in kan parametrelerine etkileri (her grup için, n=6)

SAĞLIKLI	ß-end (pg/ml)	Glukoz (mg/dl)	İnsülin (ng/ml)	Glukagon (pg/ml)
	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)
SK 0.dk	48.17 ± 6.06 ^{d}	108.83± 3.79 ^{a}	0.726 ± 0.021	27.67 ± 5.23 ^{ab}
SK 15. dk	10.30 ± 1.38 ^{e}	104.33 ± 4.55 ^{ab}	0.595 ± 0.079	30.67 ± 1.80 ^{ab}
SK 30. dk	16.50 ± 4.15 ^{e}	97.30 ± 5.43 ^{ab}	0.572 ± 0.061	33.50 ± 3.21 ^{ab}
SD1 15. dk	696.67 ± 119.68 ^{b}	106.83 ± 4.90 ^{a}	0.703 ± 0.054	28.00 ± 4.08 ^{ab}
SD1 30. dk	357.50 ± 9.66 ^{c}	95.67 ± 4.12 ^{ab}	0.712 ± 0.042	39.17 ± 6.59 ^{a}
SD2 15. dk	2000.00 ± 77.46 ^{a}	102.50 ± 3.78 ^{ab}	0.760 ± 0.013	25.83 ± 3.43 ^{b}
SD2 30. dk	1750.00 ± 157.06 ^{a}	89.67 ± 1.98 ^{b}	0.640 ± 0.035	26.17 ± 0.87 ^{ab}
	p<0.05	p<0.05	p>0.05	p<0.05

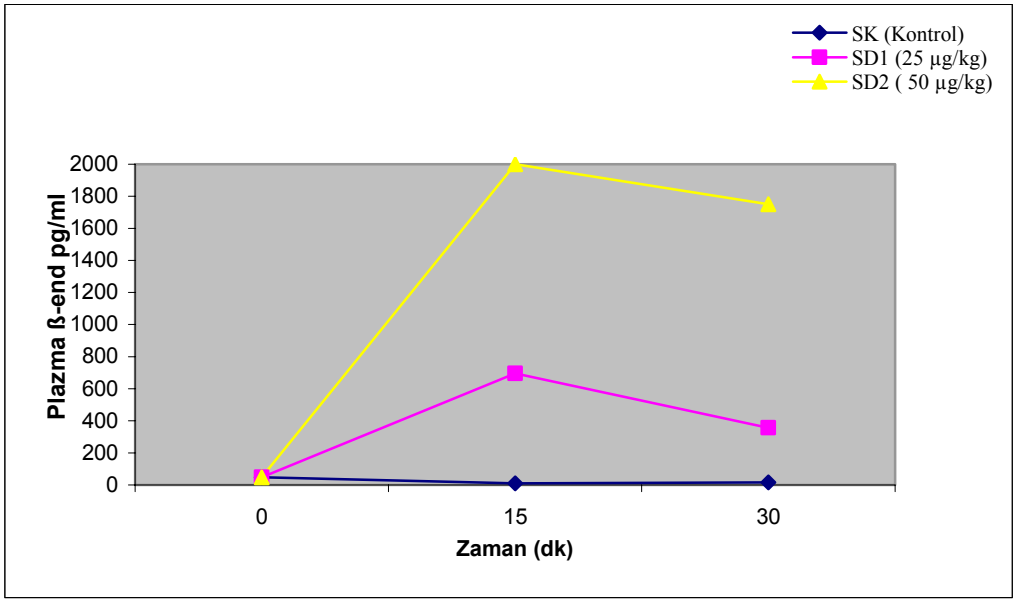
a-e:Aynı sütunda bulunan farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir.

Tablo 4.3. STZ-diyabetik ratlarda ß-end'in kan parametrelerine etkileri (her grup için, n=6)

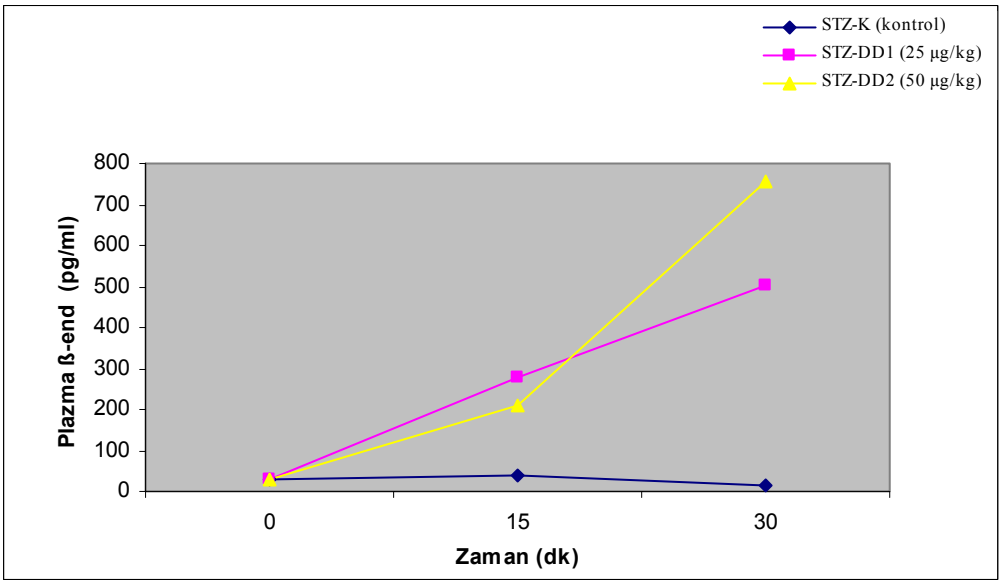
STZ	ß-end (pg/ml)	Glukoz (mg/dl)	İnsülin (ng/ml)	Glukagon (pg/ml)
	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)	($\bar{X}$ ± SH)
STZ-DK 0.dk	28.83 ± 3.27 ^{cd}	354.00± 23.85 ^{c}	0.237± 0.044	83.83 ± 5.75 ^{a}
STZ-DK 15. dk	37.33 ± 9.27 ^{cd}	395.83 ± 9.50 ^{b}	0.295 ± 0.056	76.00 ± 4.48 ^{abc}
STZ-DK 30. dk	16.17 ± 2.33 ^{d}	427.83 ± 9.18 ^{ab}	0.295± 0.049	64.00 ± 4.09^{bc}
STZ-DD1 15. dk	280.00 ± 124.00 ^{abc}	416.60 ± 9.93 ^{ab}	0.238 ± 0.046	78.33 ± 4.54 ^{ab}
STZ-DD1 30. dk	503.33 ± 201.19 ^{ab}	452.33 ± 13.28 ^{a}	0.205 ± 0.025	75.12 ± 6.40 ^{abc}
STZ-DD2 15. dk	207.50 ± 126.72 ^{bcd}	422.67 ± 8.83 ^{ab}	0.346 ± 0.058	60.00 ± 6.20 ^{c}
STZ-DD2 30. dk	758.50 ± 246.27 ^{a}	399.83 ± 8.65 ^{b}	0.285 ± 0.033	58.33 ± 7.82 ^{c}
	p<0.05	p<0.05	p>0.05	p<0.05

a-d: Aynı sütunda bulunan farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir.

SD1 ve SD2 gruplarında ß-end uygulamasını takiben 15. dk ß-end düzeyleri doza bağlı olarak yükselirken, 30. dk'larda ise 15. dk'ya göre düşme gözlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.2, Grafik 4.2). STZ-DD1 ve DD2 gruplarında ise ß-end uygulamasını takiben 15. dk'da plazma ß-end düzeylerinin daha az oranda yükseldiği ve yükselmenin 30. dk'da da devam ettiği gözlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.3, Grafik 4.3).

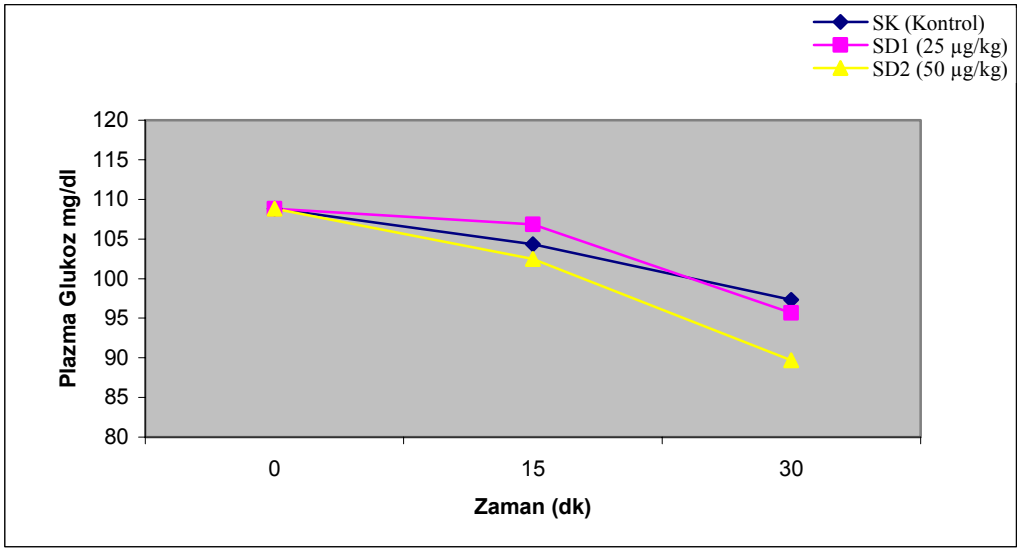


Grafik 4.2. Sağlıklılarda ß-end uygulamalarının plazma ß-end düzeylerine etkileri.

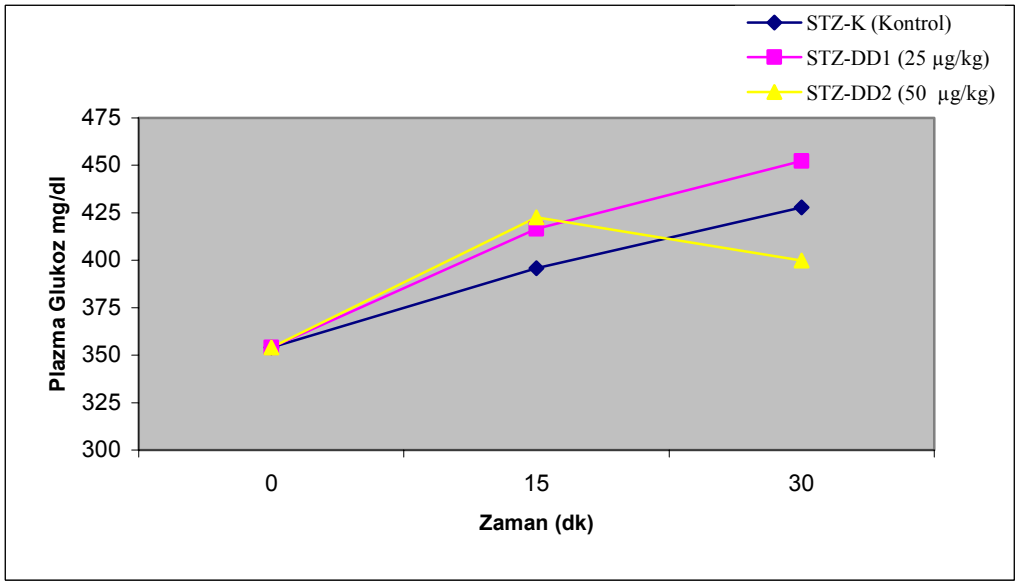


Grafik 4.3. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma ß-end düzeylerine etkileri.

Sağlıklılarda plazma glukoz düzeyleri normal sınırlar içerisinde olmakla beraber, SD2 grubunun 30. dk glukoz düzeyleri başlangıç düzeylerine göre düşmüştür ($p<0.05$) (Tablo 4.2, Grafik 4.4). STZ-diyabetiklerde ise STZ-DD2 grubu 30. dk glukoz düzeyleri STZ-DD1 grubu 30. dk'ya göre önemli düzeyde düşük ($p<0.05$) bulunmuştur (Tablo 4.3, Grafik 4.5).

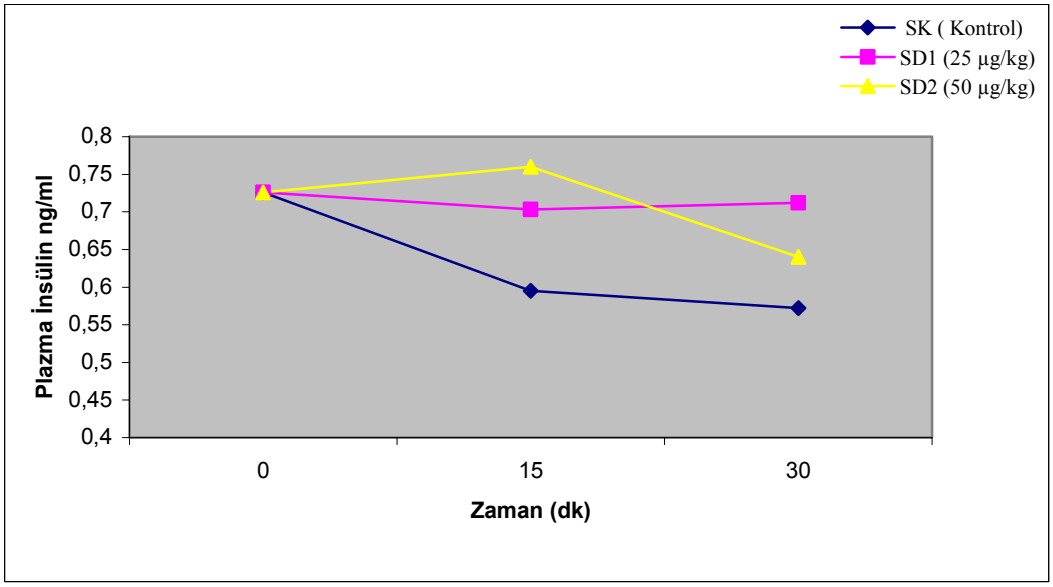


Grafik 4.4. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukoz düzeylerine etkileri.

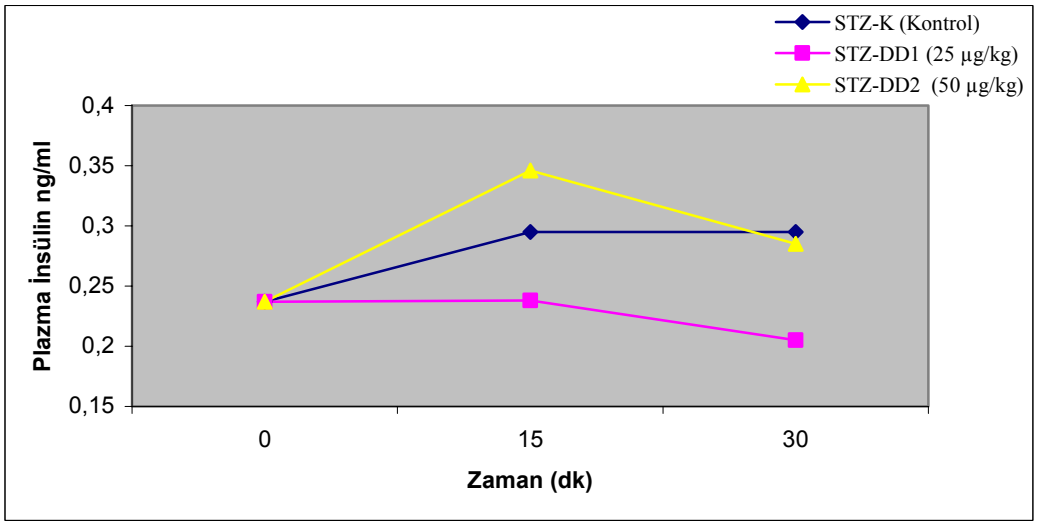


Grafik 4.5. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukoz düzeylerine etkileri.

SD1 ve SD2 gruplarında plazma insülin düzeyleri arasında istatistiki olarak önemli olmamakla beraber SK'ya göre yükselme gözlendi ($p>0.05$) (Tablo 4.2, Grafik 4.6). STZ-diyabetiklerde ise plazma insülin düzeyleri sağlıklılara göre oldukça düşük ($p<0.001$) bulundu (Tablo 4.1, Grafik 4.1) ve STZ-DD1 ve STZ-DD2 grupları arasında insülin düzeyleri yönünden bir fark ($p>0.05$) gözlenmedi (Tablo 4.3, Grafik 4.7).

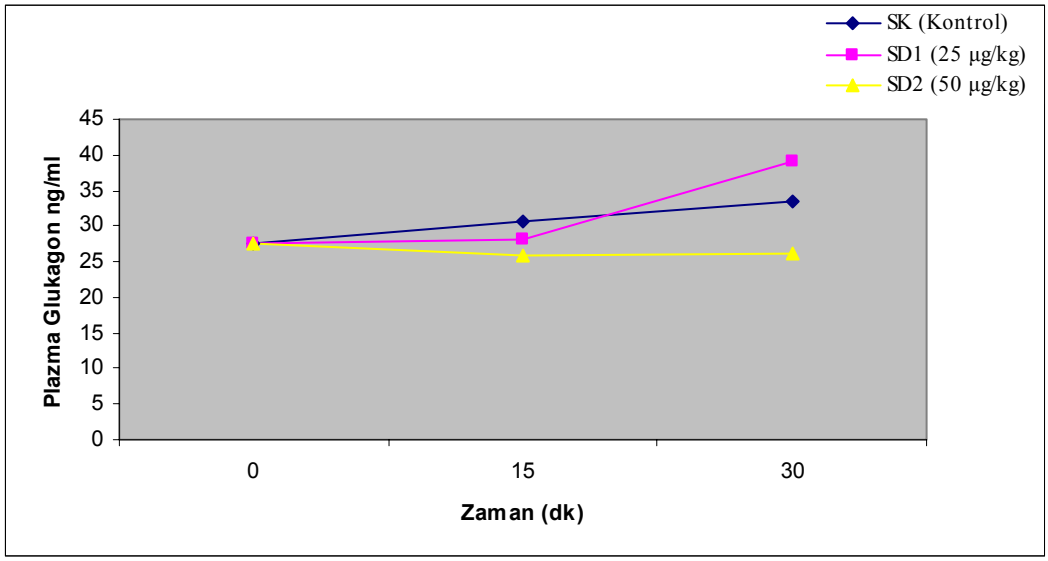


Grafik 4.6. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma insülin düzeylerine etkileri.

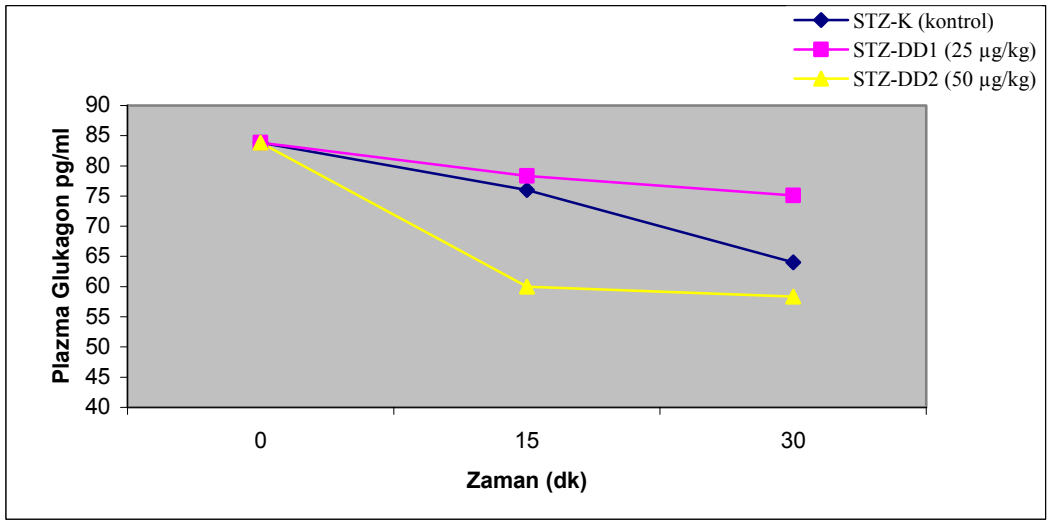


Grafik 4.7. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma insülin düzeylerine etkileri.

Plazma glukagon düzeyleri sağlıklı gruplarda normal sınırlarda gözlenirken, STZ-diyabetiklerde ise belirgin olarak yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.1, Grafik 4.1). STZ-DD1 grubu 15. dk glukagon düzeylerinin, STZ-DD2 grubu 15. dk'ya göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$) (Tablo 4.2 - 4.3, Grafik 4.8 – 4.9).



Grafik 4.8. Sağlıklı ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukagon düzeylerine etkileri.



Grafik 4.9. STZ-diyabetik ratlarda ß-end uygulamalarının plazma glukagon düzeylerine etkileri.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Öncelikli olarak hipofizde daha az oranda ise hipotalamus, adrenal medulla gibi dokularda sentezlenen, ağrı kesici etkinliğinin yanısıra birçok fizyolojik fonksiyonu da olan ß-end'in, reseptörlerinin bulunduğu pankreasla ilgili önemli fonksiyonlarının olabileceği ileri sürülmüştür (Watkins ve ark 1980, Khawaja ve ark 1990). Sunulan bu çalışmada, sağlıklı ve STZ-diyabetik ratlarda ß-end'in glukoz düzeylerine etkinliğinin araştırılması amacıyla iki farklı dozda i.p rat ß-end'i uygulanarak, plazma ß-end, glukoz, insülin ve glukagon düzeylerindeki değişimler izlendi.

Liu ve ark (1999a), soğuk stresi ve ß-end'in kan glukoz düzeylerine etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, sağlıklı ve STZ-diyabetik (i.v., 60 mg/kg dozda sitrat buffer içinde, uygulama sonrası 4 hafta sonra) Wistar ratlarda femoral ven ß-end düzeylerinin sırasıyla 43.2 pg/ml ve 49 pg/ml olduğunu, Forman ve ark (1985, 1986) ise STZ diyabetik ratlarda hipofiz ara lob, hipotalamus ve plazma ß-end düzeylerinin sağlıklılara göre düşük olduğunu ($p<0.05$), Locatelli ve ark (1986) da erkek STZ-diyabetik Sprague-Dawley ratlarda plazma ß-end düzeylerinin istatistiki önemi olmamakla birlikte sağlıklılara göre düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Sunulan çalışmada, SK ve STZD-K grubu başlangıç ß-end düzeyleri (48.17 ± 6.06 - 28.83 ± 3.27 pg/ml) (Tablo 4.1, Grafik 4.1) Liu ve ark. (1999a)'nın sağlıklılarda bildirdikleri değerlerle uyumlu, STZ-diyabetiklerdekinden ise düşük olmakla birlikte Forman ve ark. (1985, 1986) ile Locatelli ve ark. (1986)'nın bildirdikleri değerlerle uyumlu bulundu.

Sato ve ark. (1987), sağlıklı Wistar-Kyoto ırkı ratlarda ß-end'in dolaşıma geçtikten sonra plazmada enzimatik parçalanmaya uğradığını ve kapillar damarlardan diffüze olarak dokular arası sıvıya geçtiğini, Hougten ve ark. (1980), Long Evans ırkı ratlarda ß-end'in plazma yarılanma süresinin yaklaşık 45 dk, Young ve ark. (1989) ise in vitro yaptıkları çalışmalarında ß-end'in EDTA'lı plazmada yarılanma süresinin 58 dk olduğunu bildirmektedirler. Strese bağlı olarak plazma ß-end düzeylerinin yükseldiği bildirilmektedir (Kelso ve ark 1984). Sunulan çalışmada, SK grubu 15. ve 30. dk'larında plazma ß-end düzeylerinin 0. dk'ya göre önemli düzeyde düştüğü belirlendi ($p<0.05$, Tablo 4.2). STZ-diyabetiklerde ise bu düşüş 30. dk'da görüldü (28.83 ± 3.27 - 16.17 ± 2.33 pg/ml) ($p>0.05$, Tablo 4.3). Bu durum, başlangıçta strese bağlı olarak artan ß-end'in zaman içerisinde düşmüş olabileceği şeklinde değerlendirilebilir.

Sağlıklı ratlarda i.v bolus ß-end uygulamasının plazma ß-end düzeylerine etkileriyle ilgili çalışmaya rastlanılamamış, ancak ratlarda ß-end infüzyonunun uygulamadan hemen sonra plazma ß-end düzeylerini yaklaşık 2.5 kat yükselttiği bildirilmiştir (Fatouros ve ark 1997). Sunulan çalışmada, 15. dk'da 696.67 ± 119.68 pg/ml olan SD1 plazma ß-end düzeylerinin 30. dk'da 357.50 ± 9.66 g/ml'ye ($p<0.05$), SD2 plazma ß-end düzeylerinin de 2000.00 ± 77.46 pg/ml'den 1750.00 ± 157.06 pg/ml'ye ($p>0.05$) düştüğü gözlendi (Tablo 4.2, Grafik 4.2). Bu durum, sağlıklılarda i.p ß-end emiliminin doz artışıyla ilgili olarak artması, buna karşın yıkılım oranının azalması şeklinde yorumlanabilirken, azalma sebebinin ß-end'in intraselüler sıvıya geçmesi ve proteazlar tarafından yıkımlanma kapasitesinin sınırlı olmasıyla açıklanabilir.

STZ-diyabetik ratlarda i.p ß-end emilimi ve kan düzeyleriyle ilgili çalışmaya rastlanılamamıştır. Ancak STZ diyabetik ratlarda bazı emilim ve dağılımların değiştiği, Vit D_3 ve Ca'un bağırsaktan emilimlerinin azaldığı ve plasentadan yavruya Ca geçişinin bloke olduğu bildirilmiştir (Ohara 2000). Çalışmada STZ-DD1-2 gruplarında plazma ß-end düzeyleri doza bağlı olarak artmasına karşın, artış oranı SD1-2'ye göre oldukça düşük bulunmuştur. Buna ilaveten SD1-2'lerin ß-end düzeyleri 30. dk'da düşerken, STZ-DD1-2 gruplarında ise yükselme devam etmesine karşın düzeyler SD1-2'nin 30. dk düzeylerine ulaşamamaktadır (Grafik 4.2 - 4.3). STZ-DD1-2 15. dk ß-end düzeyleri, birbirine oldukça yakınken (280.00 ± 124 – 207.50 ± 126.72 pg/ml) 30. dk düzeyleri STZ-DD1 grubunda 503.33 ± 201.19, STZ-DD2 grubunda 758.50 ± 246.27 pg/ml olarak belirlendi. Sunulan çalışmada, STZ-diyabetik ratlarda i.p ß-end emiliminin sağlıklılara göre daha yavaş olması diyabetiklerde dehidrasyon, canlı ağırlık kaybı, doku hasarı ve/veya streptozotosinin etkilerinden kaynaklanabilir. STZ-DD1-2'lerde 30.dk ß-end düzeylerinin yine de SD1-2'lerin 15. dk düzeylerine ulaşamaması, emilimin azalarak devam ettiğini, sağlıklılara göre yarılanma süresinin uzadığını gösterebilir (Grafik 4.2 – 4.3).

Sağlıklı erkek Sprague-Dawley ratlarda plazma glukoz düzeylerinin 116 ± 4 mg/dl (Locatelli ve ark 1986), 128 ± 5.4 mg/dl (6.8 ± 0.3 mM) (Sato ve ark 1996) olduğu bildirilmektedir. STZ-diyabetik ratlarda ise plazma glukoz düzeyleri sağlıklılara göre oldukça yüksektir. STZ-diyabetik Sprague-Dawley ratlarda (STZ - 60 mg/kg uygulamasından 5 gün sonra) dekapitasyonla alınan kan örneklerinde glukoz düzeylerinin 420 ± 40 mg/dl (Locatelli ve ark 1986), 8 haftalık erkek Wistar ratlarda (60 mg/kg STZ uygulamasını takiben 4 hafta sonra) pentobarbital anestezisi altında kuyruktan alınan kan örneklerinde 429 ± 4.4 mg/dl (Liu ve ark 1999b), 12-14 haftalık erkek Wistar-Kyoto

ratlarda (35 mg/kg STZ uygulamasından 2 gün sonra) 275.4 ± 14.4 mg/dl (15.3 ± 0.8 mM) olarak bildirilmektedir (Sato ve ark 1996). Sunulan çalışmada adı geçen araştırmacıların bulgularıyla uyumlu olarak SK grubu plazma glukoz düzeyleri 108.83 ± 3.79 mg/dl iken STZ grubununki 354.00 ± 23.85 mg/dl olarak belirlendi.

ß-end'in normal kan glukoz düzeylerine etkileriyle ilgili çalışmalarda; 8 haftalık erkek Wistar ratlarda ß-end gibi bir μ-agonisti olan loperamidin kan glukoz düzeylerini değiştirmediği (Liu ve ark 1999b), 20 haftalık erkek farelerde 1 mg/kg i.p. sentetik insan ß-end'i, plazma glukozunu önemli düzeyde değiştirmezken, uygulamanın ilk 15 dk'sında hafifçe düşürdüğü belirlenmiştir (Khawaja ve Green 1991). Sağlıklı bireylerde i.v. bolus ß-end'in doza bağlı olarak plazma glukoz düzeylerini yükselttiği (Guigliano ve ark 1987), ß-end infüzyonunun ise değiştirmediği (Guigliano ve ark 1992) bildirilmektedir. Sunulan çalışmada, SK plazma glukoz düzeylerinin referans aralıklarında olduğu, istatistiki önem göstermemekle birlikte SD1 ve SD2 gruplarında Khawaja ve ark (1990)'ın farelerde elde ettiği bulgularla uyumlu olarak ß-end'in her iki dozunda da plazma glukoz düzeylerinin çok az oranda düştüğü görüldü (Tablo 4.2, Grafik 4.4).

ß-end'in yüksek kan glukoz düzeylerine etkileriyle ilgili; Liu ve ark. (1999a), sham uygulaması yapmaksızın, 8-9 haftalık STZ-diyabetik (60 mg/kg, uygulamadan 4 hafta sonra) erkek Wistar ratlarda, 12.8 μg/kg dozda i.v. sentetik insan ß-end'in 15. ve 20. dk'larda plazma glukoz düzeylerini başlangıç glukoz düzeylerine göre önemli düzeyde düşürdüğünü (15.dk'da 475 mg/dl'den 430 mg/dl'ye, 20.dk'da 475 mg/dl'den 450 mg/dl'ye), 20. dk'dan itibaren tekrar başlangıç düzeylerine yükselttiğini bildirmektedirler. Aynı araştırıcılar (Liu ve ark 1999b) in vivo ve in vitro yaptıkları çalışmalarda, ß-end gibi bir μ-agonisti olan loperamidin (17.6 μg/kg, i.v) in vivo 30. dk plazma glukoz düzeylerini 425 mg/dl'den 370 mg/dl'ye düşürdüğünü ($p<0.05$), düşmenin in vitro STZ diyabetik soleus kasına glukoz girişinin önemli düzeyde artmasından (% 51 oranında) kaynaklandığını gözlemlemişlerdir. Serotoninin kan glukoz düzeylerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Chi ve ark 2007) 0.3 mg/kg i.p. serotoninin STZ-diyabetik (60 mg/kg) Wistar ratlarda, insülin düzeyleri değişmeksizin, plazma ß-end ve soleus kas glikojen düzeylerini artırdığı, plazma glukoz düzeylerini ise düşürdüğü ($p<0.05$), bu sebeple glukoz düzeylerindeki düşmenin insülinden bağımsız olarak ß-end'den kaynaklandığı bildirilmektedir. Sunulan çalışmada STZ grupları 15. dk glukoz düzeyleri her üçünde de yükselmesine karşın, STZ-DD2 grubunda 30. dk glukoz düzeyleri 15. dk düzeylerine göre azalmıştır (Grafik 5). Başlangıç glukoz düzeyleri 30. dk'daki STZD-K ve

STZ-DD2 ile karşılaştırıldığında, STZD-K glukoz düzeyi % 20.6 oranında artarken (354.00 – 427.83 mg/dl), STZ-DD2 grubunda ise % 12.7'lik bir artış (354.00 – 399. 83) gözlenmekle birlikte STZD-K grubundaki artış oranı dikkate alındığında STZ-DD2 grubundaki artışın % 7.9 oranında daha az olduğu görülmektedir. Grupların 15. dk ile 30. dk glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında, STZ-DD2 30. dk glukoz düzeyleri 15. dk'ya göre (422.67 - 399.83 mg/dl) (Tablo 4.3, Grafik 5) % 5.4 oranında düştü, STZD-K grubundaki (395.83 – 427.83 mg/dl) % 8.08'lik artışla karşılaştırıldığında STZ-DD2 grubundaki düşüş anlamlı görülebilir.

ß-end'in etkileri, uygunlama yolu, kandaki konsantrasyonu, kan glukoz düzeyleri ve hayvan türlerine göre farklılık göstermektedir. Yetişkin, erkek Sprague-Dawley ratlarda intrasisternal (anestezisiz) 25.12 pg (7.25 nmol) ß-end'in, merkezi sempatik sistemi etkileyerek adrenal medulladan epinefrin salınımını kontrol ettiği ve plazma glukoz düzeylerini yükselttiği ($p<0.05$) (97.2 – 147.6 mg/dl) ileri sürülmektedir (Loon 1981). İnsanlarda ß-end'in insülin ve glukagon salınımına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Guigliano ve ark 1987), i.v. 0.05 ve 0.5 mg dozlarda insan ß-end'i, plazma insülin ve glukagon düzeylerini 10. ve 70. dk'da maksimum düzeye yükseltirken, kan glukoz düzeylerindeki yükselme 30. ve 90. dk'da görülmüş, glukoz düzeylerindeki artışa ß-end'in glukagon düzeylerini artırıcı etkisinin yol açtığı ileri sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada (Radosevich ve ark 1984), 18-25 kg canlı ağırlıklı 17 mongreal (melez) köpekte, sentetik insan ß-end'inin (0.2 mg/kg) 3 saat süreli infüzyonu, plazma glukoz düzeylerini % 25 oranında düşürürken, ß-end + glukozun birlikte infüzyonunda ise % 45'lik bir düşme gözlenmiştir. ß-end, tek başına veya glukozla birlikte verilmesinde insülin ve glukagon düzeylerini etkilememiştir. ß-end'in kan glikoz düzeylerini, insülinden bağımsız bir şekilde, kas hücrelerine glikoz girişini artırarak düşürebileceği iddia edilmektedir (Evans ve ark 1997, Liu ve ark 1999a). Evans ve ark (1997), yetişkin dişi farelerde phrenic sinir ile birlikte çıkarılan diyafram kasının elektriksel stimülasyonu (Her 1.5 sn'de 30 Hz'lik 20 puls) ile ß-end'in kas hücrelerine 2-[^{3}H]-glukoz girişini artırdığını belirlemişlerdir. ß-end'in 10^{-12}, 10^{-11}, 10^{-10}, 10^{-8} ve 10^{-7} M düzeyleri kontrakte kasa 2-[^{3}H]-glukoz girişini farklı düzeylerde etkilerken, 10^{-11} M ß-end'in kontrole göre glukoz girişini yaklaşık 4 kat artırdığı, buna karşın kontrakte olmayan kasta ise maksimal etkinin 10^{-8} M ß-end düzeyinde meydana geldiği belirlenmiş, kontrakte ve kontrakte olmayan kasın ß-end'e duyarlılığının farklı olduğu, ß-end'in kontrakte kasa glikoz girişini daha düşük M konsantrasyonlarda gerçekleştirdiği bildirilmiştir. STZ-diyabetik ratlarda ise Liu ve ark.

(1999a) loperamidin in vitro soleus kas hücrelerine glukoz girişini belirgin olarak artırdığını bildirmektedirler. Kas kontraksiyonunun artışına neden olan egzersizlerde ß-end (Bouix ve ark 1996, Fatouros ve ark 1997) ve epinefrin (Watt ve Hargreaves 2002) düzeylerinin yükseldiği bildirilmektedir. Dolayısıyla epinefrin tarafından artırılan glukozun hücrelere girişinin insüline takviye olarak artırılabileceği düşünülmektedir. Sunulan çalışmada plazma insülin düzeyleri değişmeksizin, STZ-DD2 30. dk glukoz düzeylerinin STZ-DD1 30. dk'ya oranla düşük ($p<0.05$) olduğu belirlendi (Tablo 4.3).

Sağlıklı ratlarda plazma insülin düzeyleriyle ilgili olarak; Sivitz ve ark. (1989), Sprague-Dawley ratlardan metoksifluran anestezisi ile i.c. yolla heparinize tüplere alınan kan örneklerinde insülin düzeylerini (Linco kit) 0.64 ± 0.018 ng/ml olarak bildirmişlerdir. Heparinli tüplere alınan kanda ß-end'in yarılanma ömrü EDTA'lı tüplerdekine göre daha düşüktür (Young ve ark 1989). Sunulan çalışmada 0.726 ± 0.021 ng/ml olarak belirlenen SK başlangıç insülin düzeylerinin adı geçen araştırıcıların (Young ve ark 1989) belirttiği değerlerden hafif yüksek olduğu gözlenmekte, yüksekliğin ise kan alma tüplerine ß-end'in yıkılımını engelleyen bir proteaz inhibitörü (aprotinin) ve EDTA'dan kaynaklandığı düşünülmektedir. STZ-diyabetik ratlarda ise plazma insülin düzeyleri sağlıklılara göre oldukça düşüktür. 10-11 haftalık Sprague-Dawley ratlara i.p 125 mg/kg STZ uygulamasından 2 gün sonra plazma insülin düzeylerinin 0.03 ± 0.003 ng/ml olduğu, 12-14 haftalık, erkek Wistar-Kyoto ratlarda, RIA metodu ile belirlenen insülin düzeylerinin sağlıklılarda STZ-diyabetiklere göre (35mg/kg, uygulamadan 2 gün sonra) yaklaşık 2 kat yüksek olduğu belirlenmiştir (Sato ve ark 1996). STZ-diyabetik kontrol grubu insülin düzeyleri 0.237 ± 0.044 ng/ml olarak belirlenen bu çalışmadaki değerlerle araştırıcıların (Sato ve ark 1996, Sivitz ve ark 1998) bulgularının farklılık göstermesi, STZ dozundan kaynaklanabilir.

Sağlıklı erkek ratlarda ß-end'in 0.05 mg/kg/saat dozunda 90 dk süreyle infüzyonunun plazma insülin, glukoz ve glukagon düzeylerini değiştirmediği (Jamurtas ve ark 2001), insanlarda, 4.5 ng/kg/dk dozda 120 dk süreyle sentetik insan ß-end'i infüzyonuyla, plazma insülin, glukagon ve glukoz düzeylerinde farklı zaman aralıklarında (0., 30., 60., 0., 120. ve 150. dk) önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir (Guigliano ve ark 1992). 22-30 yaşlarında 8 bireyde yapılan diğer bir çalışmada (Guigliano ve ark 1987) i.v. bolus 0.05 ve 0.5 mg dozlarda insan ß-end uygulaması sonucu plazma insülin düzeyleri her iki dozda da uygulamanın 10. ve 70. dk'sında pik yaparak yükseldiği (+0.29 ng/ml veya +7 μU/ml 10. dk'da) bildirilmiştir. Tip II diyabetik 3 bireyde 2.5 mg i.v.

ß-end'in, 7.5 dk. sonra insülin düzeyini yükselttiği ($p<0.05$) ve 60 dk sonra insülinin bazal seviyelere gerilemeye başladığı belirlenmiştir (Reid ve ark 1984). Sunulan çalışmada, sağlıklı ratlarda Jamurtas ve ark. (2001)'ın bulgularıyla uyumlu olarak plazma insülin düzeylerinin istatistiksel olarak değişmediği, ancak ß-end'in her iki dozunda plazma insülin düzeylerinin 15. ve 30. dk'larda hafifçe yükseldiği ($p>0.05$) belirlendi (Tablo 4.2, Grafik 4.6).

Sunulan çalışmada, STZ-DD1 ve STZ-DD2 grupları plazma insülin düzeylerinin istatistiki olarak değişmediği belirlendi (Tablo 4.3). STZ-diyabetiklerde ß-end'in plazma insülin düzeylerine etkileriyle ilgili çalışmaya rastlanılamadı ancak, STZ pankreas beta-hücrelerini tahrip eden bir maddedir ve ß-end'in STZ-diyabetik ratlarda pankreas adacık hücrelerine etkisiz olma ihtimali yüksek görünmektedir.

ß-end'in sağlıklı ratlarda ve bireylerde plazma glukagon düzeylerine etkileri araştırılmış, diyabetik ratlarda ß-end'in glukagona etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Fatouros ve ark. (1997), sağlıklı Wistar ratlarda dekapitasyon sonrası EDTA'lı tüplere alınan kanda glukagon düzeylerini (ICN RIA kit) 100-200 pg/ml, Chang ve ark. (1999), Sprague-Dawley ratlarda, pentobarbital anestezisi altında kuyruk venasından heparinli tüplere alınan kanda glukagon düzeylerini (Linco kit) 28.9 ± 3.0 pg/ml olarak bildirmektedirler. Sunulan çalışmada aynı kit ile çalışmış olan Chang ve ark (1999)'ın bildirdikleriyle uyumlu olarak SK başlangıç glukagon düzeylerinin 27.67 ± 5.23 pg/ml olduğu belirlendi.

STZ-diyabetik ratlarda glukagon düzeylerinin sağlıklılara göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Chang ve ark 1999, Hemmings ve Spafford 2000). STZ-diyabetik, 8-10 haftalık erkek Wistar (60 mg/kg dozda, 3 gün açlık sonrası) ratlarda glukagon düzeyleri 42.8 ± 4.2 pg/ml olarak bildirilmektedir (Chang ve ark 1999). Erkek Wistar ratlarda juguler venaya katater yerleştirilerek anestezisiz alınan kan örneklerinde, plazma glukagon düzeyleri (Linco kit) 75 - 85 pg/ml düzeylerinde, 30 saat aç bırakılanlarda ise yaklaşık 56-67 pg/ml düzeylerinde belirlenmiştir (Ruiter ve ark 2003). Farelerde düşük dozda STZ (40 mg/kg) 5 gün süreyle uygulanmış, devam eden 28 gün boyunca pankreas adacıkları incelenmiş, 28. günde beta-hücrelerinin adacık içerisinde hemen hemen tamamının atrofiye olduğu, alfa-hücrelerinin ise genişleme göstererek 2-3 kat daha fazla yer kapladığı belirlenmiştir. Alfa hücreleri normalde adacıkların periferinde yerleşiktir, ancak STZ-

uygulamasını takiben, 14. günde insülitisle birlikte bazı alfa hücrelerinin merkezde de bulunduğu gözlenmiştir. Adacıkların morfometrik analizlerinde 21. günde adacıklarda bulunan alfa-hücrelerinin tüm adacık hücrelerine oranının 2-3 kat arttığı belirlenmiştir (Li ve ark 2000). Sunulan çalışmada plazma glukagon düzeyleri diyabetiklerde 83.83 ± 5.75 olarak belirlendi (Tablo 4.1, Grafik 4.1). Bu çalışmada diyabetiklerdeki plazma glukagon düzeylerinin sağlıklılara göre yüksek ($p<0.001$) olması alfa-hücrelerinin genişleme göstermesiyle ilişkili olabilir. Ayrıca Chang ve ark. (1999)'ın STZ-diyabetiklerde bildirdiği değerin farklı olması aç bırakma süresiyle ilgisi olabilir. Ruiter ve ark. (2003), sağlıklılarda aç bırakma süresinin uzamasıyla plazma glukagon düzeylerinin azaldığını bildirmektedirler.

250-300 g canlı ağırlıklı erkek Wistar ratlarda eter anestezisi altında i.v. 5 μg/100 g sentetik insan ß-end'i, uygulamadan 10 dk sonra glukagon düzeylerini yükseltmiştir (184-350 pg/ml, $p<0.001$) (Matsumara ve ark 1984). Erkek, 275-300 g canlı ağırlıklı Sprague-Dawley ratlarda 7-8 saat açlık sonrasında i.v. ß-end'in (0.05 mg/kg bolus + 0.05 mg/kg/saat infüzyon) plazma glukagon düzeylerini 120 dakikalık takipte etkilemediği belirlenmiştir (Fatouros ve ark 1997). Sağlıklı ratlarda ß-end infüzyonunun glukagon düzeylerini değiştirmediği Jamurtas ve ark. (2001) tarafından da bildirilmiş, ancak istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte bir artış (212 - 227 pg/ml) gözlenmiştir. 20-41 yaş arası, 10 kişide ß-end'in i.v. 4.5 ng/kg/dk dozunda 120 dk infüzyon sonucunda plazma glukagon düzeyleri takip edilmiş; ß-end'in glukagon düzeylerini önemli düzeyde değiştirmediği ancak 120 dk boyunca 0. dk'ya (başlangıç) göre karşılaştırıldığında hafif bir yükselmeye sebep olduğu belirlenmiştir (Guigliano ve ark 1992). Bir diğer çalışmada 200-250 g canlı ağırlıklı Wistar ratlara 1 gece açlık sonrasında morfin infüzyonu (2 dk süresince, 10 mg/kg dozda, i.v.) sonrasında plazma glukagon düzeylerinin 15. dk'da azaldığı belirlenmiştir (13 - 6 pmol/L) ($p<0.05$). Ancak aç bırakılmayan (ad libitum) ratlara aynı dozda uygulanan morfin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde glukagonun yükselmesini sağlamıştır ($p<0.05$). Bu bulgulara göre morfinin glukagona etkilerinin beslenme düzeyiyle ilgili olduğu sonucuna varılmıştır (Johansen ve ark 1993).

Sunulan çalışmada plazma glukagon düzeylerinde istatistiki önemli bir değişiklik olmamasına karşın, SD1 grubunda 15. dk plazma glukagon düzeyleri hafifçe düşerken (30.67-28.00 pg/ml) 30. dk'da yükselmiş (33.50- 39.17 pg/ml) ($p>0.05$), SD2 15. ve 30. dk'larda ise düşmüştür ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

Diyabetik ratlarda ß-end'in plazma glukagonuna etkileriyle ilgili çalışmaya rastlanılamamıştır. Wistar ratlarda Zhongwan akupointe elektroakupunktur sonrasında plazma ß-end ve insülin düzeylerinin yükseldiği, glukagon düzeylerinin sağlıklılarda ve diyabetiklerde etkilenmediği, akupunktur sonrasında endojen ß-end düzeylerinin artışına bağlı olarak insülinin arttığı, ancak glukagonun etkilenmediği ileri sürülmüştür (Chang ve ark 1999). Tip II diyabetik bireylerde i.v. 2.5 mg ß-end uygulaması sonrasında plazma glukagon düzeylerinin uygulamanın 7. dk'sında yükseldiği, 60 dk sonra ise tekrar bazal seviyelere indiği görülmüştür (Reid ve ark 1984). 22-30 yaşlarında 8 kişide yapılan diğer bir çalışmada (Guigliano ve ark 1987), i.v. 0.05 ve 0.5 mg dozlarda insan ß-end'i uygulaması sonucu plazma glukagon düzeyleri 10. ve 70. dk'larda pik yaparak yükselmiştir. Sunulan çalışmada STZ-DD2 15. dk plazma glukagon düzeylerinin STZ-DD1 15. dk glukagon düzeylerinden önemli düzeyde ($p<0.05$) düşük olduğu belirlendi (Tablo 4.3).

Bu çalışmada, sağlıklı ve STZ-diyabetiklerde insülin düzeylerinde gruplar arasında fark görülmemesine karşın, STZ-diyabetik ratlarda insülin düzeyleri (0.237 ± 0.044 ng/ml) sağlıklılara (0.726 ± 0.021 ng/ml) göre oldukça düşük ($p<0.001$), glukagon düzeyleri ise STZ-diyabetiklerde yüksek (83.83 ± 5.75 pg/ml), sağlıklılarda düşük (26.67 ± 5.23 pg/ml) ($p<0.001$) bulundu (Tablo 4.1, Grafik 4.1). STZ-diyabetiklerde insülin düzeylerinin sağlıklılara göre düşük olmasının ($p<0.001$) nedeni, STZ'nin (60 mg/kg, i.p) pankreas Langerhans adacıkları beta-hücrelerini tahrip ederek insülin yapımını engellemesidir (Yamamoto ve ark 1981, Masiello ve ark 1981). STZ-DD2 grubu 30. dk glukoz düzeylerinin STZ-DD1 grubu 30. dk glukoz düzeylerine göre önemli düzeyde düşük olduğu ($p<0.05$) gözlenirken (Tablo 4.3, Grafik 5), insülin düzeylerinde önemli bir fark gözlenemedi ($p>0.05$). STZ-DD1-2 grupları 15. dk ß-end (280.00 ± 124.00 – 207.50 ± 126.72 pg/ml) ($p>0.05$) ve glukoz (416.60 ± 9.93 – 422.67 ± 8.83 mg/dl) ($p>0.05$) düzeyleri birbirine yakın olmasına karşın, STZ-DD1 grubu 30. dk ß-end düzeyleri 503.33 ± 201.19 iken, STZ-DD2 grubu 30. dk ß-end düzeyleri 758.50 ± 246. 27 olarak belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 4.3). STZ deneme gruplarında, verilen ß-end dozlarıyla ilişkili olarak, plazma ß-end düzeylerinin artmasına karşın, en yüksek artış STZ-DD2 grubu 30. dk'da gözlendi. STZ-DD1 grubu 30. dk ß-end düzeyinde (503.33 ± 201.19), plazma glukoz düzeyinin değişmediği, STZ-DD2 grubu 30. dk ß-end düzeyindeki yükselmeyle (758.50 ± 246. 27 pg/ml) (Grafik 4.3) birlikte glukoz düzeyinde düşme ($p<0.05$) (Tablo 4.3) gözlendi. Bu sonuçlara göre STZ-diyabetiklerde Liu ve ark. (1999a) ile Chi ve ark.

(2007)'ın ileri sürdüğü gibi yüksek ß-end'in insülinden bağımsız olarak kan glukoz düzeylerini düşürdüğü söylenebilir.

Sonuç: İntraperitoneal ß-end uygulamasının sağlıklılarda plazma ß-end düzeylerini daha fazla oranda artırdığı, yüksek plazma ß-end düzeylerinde plazmadaki ß-end'in azalma süresinin uzadığı, STZ-diyabetiklerde ise plazma ß-end düzeylerindeki yükselmenin sağlıklılara göre daha yavaş ve az oranda gerçekleştiği, normal (sağlıklı) glukoz düzeylerine ß-end'in belirgin bir etkisi görülmezken, yüksek glukoz düzeylerinde (STZ-diyabetik) ß-end'in plazma glukoz düzeylerini azaltıcı etkisinin insülinden bağımsız olarak yüksek plazma ß-end düzeylerinde gerçekleştiği ve STZ-diyabetik ratlarda ß-end'in etkilerinin i.v. uygulamalarda daha açık görülebileceği kanısına varılmıştır.

6. ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya (VET) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA – 2007

Pınar PEKER AKALIN

Danışman: Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

ß-endorfinin Kan Glukoz Düzeylerine Etkileri

Endojen opioidlerden olan ß-endorfinin ratlarda i.p. uygulamasının kan ß-endorfin, glukoz, insülin ve glukagon düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, 11-12 haftalık, 150-250 g canlı ağırlıklı, 117 adet erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı. Streptozotosin ile diyabet oluşturmak amacıyla 75 adet rata tek doz 60 mg/kg i.p Streptozotosin verilmesinden 2 hafta sonra plazma glukoz düzeyi 250 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edilerek çalışmada kullanılmak üzere seçildi.

Sağlıklı ve streptozotosin-diyabetik ratlar, kontrol ve deneme gruplarını oluşturmak için 6'şarlı (14 grup) gruplara ayrıldı. Kontrol gruplarına % 0.9'luk NaCl çözeltisi, deneme gruplarına ise 25 µg/kg ve 50 µg/kg olmak üzere 2 farklı ß-endorfin (rat ß-endorfini) dozu uygulandı. Her örnekleme zamanı için farklı hayvan grubu kullanılarak 0. (başlangıç), 15. ve 30. dk'larda thiopental (40 mg/kg) anestezisi altında i.c yolla EDTA, aprotinin ve NaF bulunan tüplere kan örnekleri alındı. Glukoz analizleri glukoz oksidaz metodu ile hemen yapıldı, hormon analizleri için plazmalar -80^{o}C'de saklandı. Plazma ß-endorfin, insülin ve glukagon düzeyleri RIA metoduyla belirlendi.

Sağlıklı Deneme grupları 15. ve 30. dk plazma ß-end düzeylerindeki artış oranları, Streptozotosin-diyabetik Deneme gruplarına göre oldukça yüksekti ($p<0.05$). Sağlıklı deneme gruplarında (normal glukoz düzeylerinde) istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, her iki doz ß-endorfin plazma insülin düzeylerini yükseltirken, glukagon ve glukoz düzeylerini düşürdü ($p>0.05$). STZ-diyabetiklerde (yüksek plazma glukoz düzeylerinde) ise her iki doz ß-endorfin, plazma insülin düzeylerini değiştirmezken, 50 µg/kg ß-endorfin 15. dk glukagon düzeylerini düşürdü ($p<0.05$). Streptozotosin-

diyabetiklerde glukoz düzeylerindeki önemli düşüş ($p<0.05$), 50 μg/kg ß-endorfin verilmesini takiben ß-endorfin düzeylerinin maksimale ulaştığı 30. dk'da gözlendi.

Sonuç olarak Streptozotosin-diyabetik ratlarda yüksek plazma ß-end düzeylerinin, insülinden bağımsız olarak plazma glukoz düzeylerini azaltabileceği kanısına varıldı.

7. SUMMARY

The Effects of ß-endorphin on the Levels of Plasma Glucose

The aim of this study was to investigate the effects of ß-endorphin on plasma ß-endorphin, glucose, insulin and glucagon levels in healthy and Streptozotocin induced diabetic rats. A total of 117 male Sprague-Dawley rats which have 150-250 g body weight, 11-12 weeks old were employed in this study. Insulin dependent diabetes was induced by injection of 60 mg/kg Streptozotocin intraperitoneally to 75 rats. Tha rats with plasma glucose levels above 250 mg/dl after 2 weeks were accepted as diabetic.

Healthy and Streptozotocin induced diabetic rats were divided into control and experimental groups (14 groups). Control groups were injected physiological saline as vehicle whereas experimetal groups received 25 and 50 μg/kg rat ß-endorphin at 2 different doses intraperitoneally. By using different animal groups at each time interval, under thiopental anesthesia (40 mg/kg), blood samples were taken into tubes containing EDTA, aprotinin and NaF by intracardiac puncture at 0. (initial), 15 and 30 min after injection of vehicle and ß-endorphin.

In healthy experimental groups, the rise of plasma ß-endorphin levels at 15 and 30 min intervals was more evident from the streptozotocin diabetic experimental groups ($p<0.05$). In healthy experimental groups (at normal plasma glucose levels), ß-endorphin at both doses increased plasma insulin and decreased glucagon and glucose levels, however the data was not statistically significant ($p>0.05$). In streptozotocin diabetic experimental groups (with high plasma glucose levels), plasma insulin was not changed at both ß-endorphin doses whereas 50 μg/kg ß-endorphin decreased plasma glucagon at 15 min ($p<0.05$). The significant reduction of plasma glucose was seen only at 30 min by 50 μg/kg ß-endorphin ($p<0.05$) which the ß-endorphin levels were at maximal. As a conclusion, plasma glucose lowering effect of ß-endorphin independantly from plasma insulin levels may be seen at streptozotocin diabetic rats with high plasma ß-endorphin levels.

8. KAYNAKLAR

Acs S, Barna I, Koenig JI, Makara G B (1997) *Age-dependent muscarinic stimulation of ß-endorphin secreation from rat neurointermediate lobe in vitro*, Brain Research Bulletin, 44, 719-725.

Adeghate E and Ponert AS (2001) *Role of leucine enkephaline on insulin and glucagon secretion from pancreatic tissue fragments of normal and diabetic rats*, Archieves of Physiology and Biochemistry, 109, 223-229.

Akar F (1997) *İnsülin, kan şekerini düşüren ilaçlar ve glukagon, in 'Veteriner Uygulamalı Farmakoloji',* Ed: Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, Medisan Yayınevi Ankara, Cilt 2, Baskı 1, 97-103.

Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker MJ (1984) *Endogenous opioids: Biology and Function*, Annual Review of Neuroscience, 7, 223-255.

Allen RG, Pintar JE, Stack J, Kendall JW (1984) *Biosynthesis and processing of POMC-derived peptides during fetal pituitary development*, Developmental Biology, 102, 43-48.

Angelogianni P, Li HL, Gianoulakis C (2000) *Ontogenesis of proopiomelanocortin and its processing to ßendorphin by the fetal and neonatal rat brain*, Neuroendocrinology, 72,231-241.

Anonim (2003) Buehler LH, www.whatislife.com/reader2/Metabolism/pathway/transport.html, erişim tarihi: 22.03.2007.

Anonim (2004) Pittman IIV, Philipson LH, Steiner DF www.endotext.org/diabetes/diabetes3_new/diabetes3.htm, erişim tarihi: 22.03.2007.

Anonim (2005) Gosmanov NR, Smith TS, Gerich JE www.endotext.org/diabetes/diabetes2b/diabetes2b.htm, erişim tarihi: 10.01.2007.

Anonim (2006a) www.ctf.istanbul.edu.tr/farma/pankreas.pdf, erişim tarihi: 20.01.2007.

Anonim (2006b) www.medbio.info/Horn/Time%203-4/glucose_transport_proteins.htm, erişim tarihi: 20.01.2007.

Anonim (2006c) www.ux1.eiu.edu/~cfklm/bio5406/insulin.jpg, erişim tarihi: 18.02.2007.

Anonim (2006d) Koeslag J, *Endocrinology Studies (Book 2), Division of Medical*

Physiology, Tygerberg, Sourth Africa, www.academic.sun.ac.za/medphys/endo1.htm, erişim tarihi: 10.08.2006.

Anonim (2007a) www.bachem.com/bachem/bachem/joust/index.cfm?idland=216., erişim tarihi: 23.03.2007.

Anonim (2007b) http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Williford/picturefrombook/Slide2.JPG, erişim tarihi: 23.03.2007.

Anonim (2007c) www.danmedbul.dk/DMB_2004/0404/0404-disputatser/DMB3665-1.jpg, erişim tarihi: 17.02.2007.

Birnbaum MJ, Haspel HC, Rosen OM (1986) *Cloning and characterization of a cDNA encoding the rat brain glucose-transporter protein,* Proceedings of the National Academy of Science, 83, 5784-5788.

Birnberg N C, Lissitzky JC, Hinman M, Herbert E (1983) *Glucocorticoids regulate proopiomelanocortin gene expression in vivo at the levels of transcription and secretion*, Proceedings of the National Academy of Science, 80, 6982-6986.

Bloom F, Battenberg E, Rossier J, Ling N, Guillemin R (1978) *Neurons containing ß-endorphin in rat brain exist separately from those containing enkephalin: Immunocytochemisal studies,* Proceedings of the National Academy of Science, 75, 1591-1595.

Bouix O, Lenoir AN, Kerdelhue B, Orsetti A (1996) *Endogenous opioid peptides stimulate post-exercise insulin responce to glucose in rats,* International Journal of Sports Medicine, 17 (2), 80-84.

Brantl V, Gramsch C, Lottspeich F, Mertz R, Jaeger KH, Herz A (1986) *Novel opioid peptides derived from hemoglobin: hemorphins*, European Journal of Pharmacology, 125, 309-310.

Brantl V, Gramsch C, Lottspeich F, Henschen A, Jaeger KH, herz A (1985) *Novel opioid peptides from mitochondrial cytochrome b: cytochrophins*, European Journal of Pharmacology, 111,293-294.

Bright GM, Kaiser DL, Rogol AD, Clarke WL (1983) *Naloksone attenuates recovery from insulin-induced hypoglycemia in normal man*, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 157, 213-216.

Brobst DF (1997) *Pancreatic Function, in 'Clinical Chemistry of Domestic Animals'*, fifth

edition, Academic Press, USA, 353-354.

Bunn SJ, Marley PD, Livett BG (1988) *The distribution of opioid binding subtypes in the bovine adrenal medulla,* Neuroscience, 27, 1081-1094.

Canas X, Fernandez-Lopez A, Ardevol A, Adan C, Esteve M (1995) *Rat insulin turnover in vivo*, Endocrinology, 136, 3871-3876.

Carayannopoulos MO, Chi MMY, Cui Y, Pingsterhaus JM, McKnigth RA, Mueckler M, Devaskar SU, Moley KH (2000) *GLUT 8 is a glucose transporter responsible for insulin stimulated glucose uptake in the blastocytes,* Proceedings of the National Academy of Sciences, 97, 7313-7318.

Cardoso A, Carvalho CRO, Velloso LA, Brenelli SL, Saad MJA, Carvalheira JBC (2005) *Effect of thiopental and dietyl ether on early steps of insulin action in liver and muscle of the intact rat*, Life Sciences, 76, 2287-2297.

Carr DJJ, DeCosta BR, Kim CH, Jacobson AE, Guarcello V (1989) *Opioid receptors on cells of immune system. Evidence for δ- and κ- classes*, Journal of Endocrinology, 122, 161-168.

Carr J (1997) *β-endorphin Inhibition of Endogenous Norepinephrine Release From the A2 noradrenegic nucleus in vitro: role of mu opiate receptors and Na ion permeability,* Brain Reseach Bulletin, 44, (1), 19-23.

Chang SL, Lin JG, Chi TC, Liu IM, Cheng JT (1999) *An insulin dependent hypoglicemia induced by electroacupuncture at the zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats,* Diabetologia, 42, 250-255.

Chavkin C, James IF, Goldstein A (1982) *Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kapa opioid receptor,* Science, 215, 413-415.

Cheng JT, Liu IM, Tzeng TF, Chen WC, Hayakawa S, Yamamoto T (2003) *Release of ß-endorphin by caffeic acid to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats*, Hormone and Metabolic Research, 35, 251-258.

Cheung CY, Tang F (1999) *The effect of streptozotocin-diabetes on ß-endorphin level and proopiomelanocortin gene expression in the rat pituitary*, Neuroscience Letters, 261, 118-120.

Chi TC, Ho YJ, Chen WP, Chi TL, Lee SS, Cheng JT, Su MJ (2007) *Serotonin enhances ß-endorphin secretion to lower plasma glucose in streptozotocin-induced*

diabetic rats, Life Sciences (In Press).

Childers SR (1988) *Opiate-inhibited adenylate cyclase in rat brain membranes depleted of G_s- stimulated adenylate cyclase*, Journal of Neurochemistry, 543-553

Chou HF, McGivern R, Berman N, Ipp E (1991) *Oscillations of circulating plasma insulin concentrations in the rat,* Life Sciences, 48, 1463-1469.

Collado-Escobar D, Rovati LC, Ganzetti I, Cocchi D, Panerai AE, Li CH (1986) *The β-endorphin-induced secretion of growh hormone but not prolactin is inhibited by an opioid antagonist*, European Journal of Pharmacology, 129, 385-387.

Csaba G, Kovacs P, Pallinger E (2003) *Effect of a single neonatal endorphin treatment on the hormone content of adult rat white blood cells and mast cells*, Cell Biology International, 27, 423-427.

Csaba G, Kovacs P, Pallinger E (2002) *β-endorphin and granulocytes,* Cell Biology International, 26, 741-743.

Dave JR, Nina R, Eskay RL (1985) *Evidence that β-endorphin binds to specific receptors in rat peripheral tissues and stimulates the adenylate cyclase-adenosine 3-5-monophosphate system*, Endocrinology, 117, 1389-1396.

Debold CR, Nickolson WE, Orth DN (1988) *Immunoreactive POMC peptides and POMC-like messenger ribonucleic acid are present in many rat nonpituitary tissues*, Endocrinology, 122, 2648-2657.

Desjardins GC, Beaudet A, Schipper HM, Brawer JR (1992) *Vitamin E protects hypothalamic ß-endorphin neurons from estradiol neurotoxicity*, Endocrinology, 131 (5), 2482-2484.

Doege H, Bocianski A, Scheepers A, Axer H, Eckel J, Joost HG, Schürmann A (2001) *Characterisation of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle*, , Biochemical Journal, 359, 443-449.

Doege H, Schürmann A, Bahrenberg G, Brauers A, Joost HG (2000a) *GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity,* The Journal of Biological Chemistry, 275, 16275-16280.

Doege H, Bocianski A, Joost HG, Schürmann A (2000b) *Activity and genomic organisation of human glucose transporter 9 (GLUT9), a novel member of the family*

of sugar-transport facilitators predominantly expressed in the brain and leucocytes, Biochemical Journal, 350, 771-776.

Douen AG, Ramlal T, Rastogi S, Bilan PJ, Cartee GD, Vranic M, Hollosy JO, Klip A (1990) *Exercise induces recruitment of the insulin responsive glucose transporter*, The Journal of Biological Chemistry, 265,13427-13430.

Dudas and Merchenthaler (2004) *Close anatomical associations between ß-endorphin and luteinizing hormone-releasing hormone neural systems in the human diencephalone,* Neuroscience, 124, 221-229.

Eberwine JH and Roberts Jl (1984) *Glucocorticoid regulation of proopiomelanocortin gene transcription in the rat pituitary,* The Journal of Biological Chemistry, 259(4), 2166-2170.

Ehrlich YH, Davis LG, Keen P, Brunngraber EG (1980) *Endorphin-regulated protein phosphorylation in brain membranes*, Life Sciences, 26, 1765-1772.

Evans AAL, Khan S, Smith ME (1997) *Evidence for s hormonal action of ß-endorphin to increase glucose uptake in resting and conrtacting skeletal muscle*, Journal of Endocrinology, 155, 387-392.

Fabbri A, Dufau ML (1988) *Hormonal regulation of ß-endorfin in the testis,* Journal of Steroid Biochemistry, 30, 347-352.

Facchinetti F, Nalın A, Petraglia F, Galli V, Genazzani AR (1985) *Reduced ACTH while normal ß-endorphin CSF levels in early epileptic encephalopathies***,** Peptides, 6, 31-33.

Fatouros I, Goldfarb AH, Jamurtas AZ, Gao J (1997) *ß-endorphin infusion alters pancreatic hormone and glucose levels during exercise in rats*, Europenan Journal of Physiology, 76, 203-208.

Fickel J, Didier B, Stanley JW, Akil H (1997) *Opioid receptor expression in the rat gastrointestinal tract: Quantitative study with comparison to the brain*, Molecular Brain Research, 46, 1-8.

Fletcher HP, Noble S, Spratto GR (1989) *Effect of acetylcholinesterase inhibitor, soman, on plasma levels of ß-endorphin and adrenocorticotropic hormone(ACTH),* Biochemical Pharmacology, 38, 2045-2046.

Fontana M, Mosca L, Rosei MA (2001) *Interaction of enkephalins with oxyradicals*,

Biochemical Pharmacology, 61, 1253-1257.

Forman LJ, Cavalieri T, Estilow S, Tatarian GT (1990) *The elevation of immunreactive ß-endophin in old male rats is related to alterations in dopamin and serotonin,* Neurobiology of Aging, 11, 223-227.

Forman LJ, Estlilow S, Lewis M, Vasilenko P (1986) *Streptozocin diabetes alters immunreactive ß-endorphin levels and pain perception after 8 week in female rats*, Diabetes, 35, 1309-1313.

Forman LJ, Marquis DE, Stevens R, Adler R, Vasilenko P (1985) *Diabetes induced by streptozotocin results in a decrease in immunoreactive ß-endorphin levels in the pituitary and hypothalamus of female rats,* Diabetes, 34, 1104-1107.

Friedman JE, Sherman WM, Reed MJ, Elton CW, Dohm GL (1990) *Exercise training increases glucose transport protein GLUT-4 in skeletal muscle of obese zucker (fa/fa) rats,* FEBS Letters, 268, 13-16.

Fukumoto H, Kayano T, Buse JB, Edwards Y, Pilch PF, Bell GI, Seino S (1989) *Cloning and characterization of the major insulin responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin responsive tissues,* The Journal of Biological Chemistry, 264, 7776-7779.

Furkert J, Klug U, Slominski A, Eichmüller S, Mehlis B, Kertcher U, Paus R (1997) *Identification and measurement of ß-endorphin levels in the skin during induced hair growth in mice***,** Biochemica et Biophysica Acta, 1336, 315-322.

Gajewska A, Kochman K, Lerrant Y, Kochman H, Counis R (2000) *Modulation of luteinizing hormone subunit gene expression by intracerebroventricular microenjection of gonadotropin-releasing hormone or ß-endorphin in female rats,* Biochemica et Biophysica Acta, 1523, 217-224.

Genazzani AR, Nappi G, Facchinetti F, Mazzella GL, Parrini D, Sinforiani F, Savoldi F (1982) *Central deficiency of ß-endorphin in alcoohol addicts,* Journal of Clinical Endocrinolology Metabolism, 55, 583-586.

Gilman SC, Schwartz JM, Milner RJ, Bloom FE, Feldman JD (1982) *ß-endorphin enhances lymphocyte proliferative responces*, Proceedings of the National Academy of Science, 79, 4226-4230.

Gindoff PR and Ferin M (1987) *Endogenous opioid peptides modulate the effect of*

corticotropin-releasing factor on gonadotropin release in the primate, Endocrinology, 121(3), 837-841.

Goodman R, Synder SH, Kuhar MJ, Young WS (1980) *Differentitiation of delta and mu-receptor localizations by light microscopic autoradiography*, Proceedings of the National Academy of Science, 77, 6239-6234.

Govoni S, Pasinetti G, Inzoli MR, Rozzini R, Trabucci M (1984) *Correlation between ß-endorphin/ß-lipotropin-immunreactivity and cortisol plasma concentrations*, Life Sciences, 35, 2549-2552.

Gravel J, Sadee W (1983) *An opiate binding site in the rat brain is highly selective for 4,5-epoxymorphinans,* Science, 221, 1198-1201.

Green IC, Perrin D, Penman E, Yaseen A, Ray K, Howell SL (1983) *Effect of dynorphin on insulin and somatotsatin secretion, calcium uptake, and cAMP levels in isolated rat islets of langerhans*, Diabetes, 32, 685-690.

Guigliano D, Cozzolino D, Salvatore T, Ceriello A, Torella R, Franchimont P, Lefebvre P, Donofrio F (1992) *Physical elevations of plasma ß-endorphin alter glucose metabolism in obese, but not normal-weight subjects*, Metabolism, 41, 184-190.

Guigliano D, Cozzolino D, Salvatore T, Ceriello A, Torella R (1987) *Dual effects of ß-endorphin on insulin secretion in man,* Hormone and Metabolic Research, 19, 502-503.

Hammonds RG, Nicolas P, Li CH (1984) *ß-endorphin(1-27) is an antagonist of ß-endorfin analgesia*, Proceedings of the National Academy of Science, 81, 1389-1390.

Harkness JE, Wagner JE (1995) *Biology and husbandry, the rat,* in '*The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents',* Fourth Edition, Williams and Wilkins Publication, USA, 65-72.

Harte JL, Eifert GH, Smith R (1995) *The effects of running and meditation on ß-endorphin, corticotropin-releasing hormone and cortisol in plasma and on mood*, Biological Psychology, 40, 251-265.

Helman A, Giraud P, Nicolaidis S, Oliver C, Assan R (1983) *Glucagon release after stimulation of the lateral hypothalamic are in rats: predominant ß-adrenergic transmission and involvement endorphin pathways*, Endocrinology, 113, 1-5.

Henriksen EJ, Bourey RE, Rodnick KJ, Koranyi L, Permutt MA, Holloszy JO (1990) *Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles*, The American Physiological Society, Rapid Communications, 259, 593-598.

Hemmings SJ and Spafford D (2000) *Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors,* The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 32, 905-919.

Hermansen K (1983) *Enkephalins and the secretion of pancreatic somatostatin and insulin in the dog. Studies in vitro*, Endocrinology, 113, 1149-1154.

Hindelang C, Felix JM, Laurent FM, Klein MJ, Stoeckel ME (1990) *Ontogenesis of proopiomelanocortin gene expression and regulation in the rat pituitary intermediate lob*, Molecular Cell Endocrinology, 70, 225-235.

Hinz M, Katsilambros N, Maier V, Schatz H, Pfeiffer EF (1973) *Significance of streptozotocin induced nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD) degradation in mouse pancreatic islands*, FEBS Letters, 30, 225-228.

Hirshman MF, Goodyear LJ, Wardzalas LJ, Horton ED, Horton ES (1990) *Identification of an intracelular pool of glucose transporters from basal and insulin stimulated rat skeletal muscle*, Journal of Biological Chemistry, 265, 987-991.

Hisamitsu T, Kasahara T, Umezawa T, Ishino T, Hisamitsu N (2002) *The effect of acupuncture on natural killer cell activity*, International Congress Series, 1238, 125-131.

Houghten RA, Swann RW, Li CH (1980) *ß-endorphin: Stability, clearence behavior and entry into the central nervous system after intravenous injection of the tritiated peptide in rats and rabbits,* Proceedings of the National Academy of Science, 77, 4588-4591.

Houtani T , Nishi M, Takeshima H, Sato K, Sakuma S, Kakimoto S, Ueyama T, Noda T, Sugimoto T (2000) *Distribution of nociceptin/orphanin FQ precursor protein and receptor in brain and spinal cord: a study using in situ hybridization and X-Gal histochemitry in receptor-deficient mice,* The Journal of Comparative Neurology, 424, 489-508.

Hsu CT, Liu IM, Cheng JT (2002) *Increase of ß-endorphin biosynthesis in the adrenal*

gland of streptozotocin-induced diabetic rats, Neuroscience Letters, 318, 57-60.

Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Forthergill LA, Morgan BA, Morris HR (1975) *Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity*, Nature, 258, 577-579.

Ibberson M, Uldry M, Thorens B (2000) *GLUTX1, a novel mammalian glucose transperter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues,* The Journal of Biological Chemistry, 275, 4607-4612.

Janik J, Klosterman S, Parman R, Callahan P (1994) *Multiple opiate receptor subtypes are involved in the stimulaton of growth hormone release by ß-endorphin in female rats*, Neuroendocrinology, 60, 69-75.

James DE, Brown R, Navarro J, Pilch PF (1988) *Insulin regulatable tissues express a unique insulin sensitive glucose transport protein,* Nature, 333, 183-185.

Jamurtas AZ, Goldfarb AH, Chung SC, Hedge S, Marino C, Fatouros IG (2001) *ß-endorphin infusion during exercise in rats does not alter hepatic or muscle glycogen,* Journal of Sports Sciences, 91, 931-935.

Jevremovic M, Arambasic M, Kartaljevic G, Kovacevic D, Pazin S, Terzic M(1991) *The determination of immunoreactive ß-endorphin concentration in the human fetal and neonatal tymus*, Hormone and Metabolic Research, 23, 623-624.

Johansen O, Tonnesen T, Jensen T, Burhol PG, Jorde R, Reikeras O (1993) *Morphine and morphine/naloksone modification of glucose, glucagon and insulin levels in fasted and fed rats*, Scandivanian Journal of Clinial Laboratory Investigation, 53, 805-809.

Johansson H, Gylife E, Hellman B (1987) *The actions of arginine and glucose on glucogon secretion are mediated by opposite effects on cytoplasmic Ca,* Biochemical and Biophysical Research Communications, 147, 309-314.

Johnson EE, Lambert DG (2002) *Molecular pharmacology of the opioid /nociceptin system*, Current Anaesthesia and Critical Care, 13, 305-312.

Johnson PS, Wang JB, Wang WF, Uhl GR (1994) *Expressed mu opioid receptor couples to adenylate cyclase and phosphatdyl inositol turnover*, Neuroreport, 12, 507-509.

Jones RG, Ilic V, Williamson DH (1984) *Physiological significance of altered insulin metabolism in the conscious rat during lactation*, Biochemical Journal, 220, 455-

460.

Josefsen K, Buschard K, Sorensen LR, Wollike M, Ekman R, Birkenbach M (1998) *Glucose stimulation of pancreatic beta-cell lines induces expression and secretion of dynorphin,* Endocrinology, 139, 4329-4336.

Kajii TS, Okamoto T, Yura S, Mabuchi A, Iida J (2005) *Elevated levels of ß-endorphin in temporomandibular joint synovial lavage fluid of patients with closed loc,* Journal of Orofacial Pain*,* 19, 41-46.

Serpek B (2000) *Hormonlar, in 'Biyokimya'*, ed: Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınevi Ünitesi, Konya, 382.

Kawano H ve Masuko S (2000) *ß-endorphin, adrenocorticotropic hormone and neuropeptide Y-containing projection fibers from the arcute hypotalamic nucleus make synaptic contacts on to nucleus preopticus medianus projecting to the paraventricular hypotalamic nucleus in the rat,* Neuroscience, 98, 555-565.

Kaya N (1993) *Hormonlar*, in '*Biyokimya'*, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 267-269.

Kaya S (1997) *Narkotik ağrı kesiciler ve antagonistleri,* **'***Veteriner Uygulamalı Farmakoloji'* Ed: Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, Medisan Yayınevi Ankara, Cilt 1, Baskı 1, 211-215.

Kelso TB, Herbert WG, Gwazdauskas FC, Goss FL, Hess JL (1984) *Exercise-thermoregulatory stres and increased plasma ß-endorphin/beta-lipotropin in humans***,** Journal of Applied Physiology, 57, 444-449.

Khalil R, Soliman MRI (1997) *Diazepam alters caffeine-induced effects of ß-endorphin levels in specific rat brain regions*, Life Sciences, 61, 2485-2490.

Khawaja X, Gren I (1991) *Dual action of ß-endorphin on insulin release in genetically obese and lean mice,* Peptides, 12, 227-233.

Khawaja X, Green IC, Thorpe JR, Titheradge MA (1990) *The occurence and receptor specifity of endogenous opioid peptides within pancras and liver of the rat*, Biochemical Journal, 267, 233-240.

King M, Su W, Chang A, Zuckerman A, Pasternak GW (2001) *Transport of opioids from the brain to the periphery by P-glycoprotein: peripheral actions of central*

drugs, Nature Neuroscience, 4, 268-274.

King MG, Kastin AJ, Olson RD, Coy DH (1979) *Systemic administration of met-enkephalin, (D-Ala)-Met-enkephalin, ß-endorphin and (D-Ala)-ß-endorphin: Effects on eating, drinking and activity measures in rats,* Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 11, 407-411.

Klip A, Ramlal T, Cartee GD, Gulve EA, Holloszy JO (1990) *Recruitment of GLUT-4 glucose transporters by insulin in diabetic rat skeletal muscle,* Biochemical and Biophysical Research Communications, 172, 728-736.

Klip A, Walker D, Ransome KJ, Schroer DW, Leinhard GE (1983) *Identification of the glucose transporter in rat skeletal muscle,* Archives of Biochemistry and Biophysics, 226, 198-205.

Koenig J, Gudelski GA, Meltzer HY (1987) *Stimulation of corticosteroid and β-endorphin secretion in rat by selective 5-HT receptor subtype activation,* European Journal of Pharmacology, 137, 1-8.

Koski G and Klee WA (1981) *Opiates inhibit adenylate cyclase by stimulating GTP hydrolysis*, Proceedings of the National Academy of Science, 78, 4185-4189.

Kowalski J (1997) *Effects of enkephalins and endorphins on cytotoxic activity of natural killer cells and macrophages/monocytes in mice,* European Journal of Pharmacology, 326, 2 51-255.

Kristiansen S, Darakshan F, Richter EA, Hundal HA (1997) *Fructose transport and GLUT5 protein in human sacrolemmal vesicles,* American Journal of Physiology, 273, 543-548.

Kubik RB, Shippenberg TS, Herz A (1990) *Involvement of central mu and delta opioid receptors in mediating the reinforcing effects of ß-endorphin in the rat,* European Journal of Pharmacology, 175, 63-69.

Laatikainen T, Raisanen I, Tulenheimo A, Salminen K (1985) *Plasma ß-endorphin and the mensrual cycle*, Fertility and Sterility, 44, 206-209.

Lachowicz JE, Shen Y, Monsma FJ, Sibley DR (1995) *Molecular cloning of a novel G protein-coupled receptor related to the opiate receptor family*, Journal of Neurochemistry, 64, 34-40.

Law PY, Loh HH, Li AH (1979) *Properties and localization of β-endorphin receptor in*

rat brain, Proceedings of the National Academy of Science, 76, 5455-5459.

Li CH (1981) *ß-endorphin, Volume 10, in 'Hormonal Proteins and Peptides',* Academic Press INC. (London) LTD, USA.

Li Z, Karlsson FA, Sandler S (2000) *Islet loss and alpha cell expansion in type I diabetes induced by multiple low dose streptozotocin administration in mice*, Journal of Endocrinology, 165, 93-99.

Liu IM, Chi TC, Shiao GC, Lin MT, Cheng JT (2001) *Loss of plasma lowering responce to cold stres in opioid μ-receptor knock-out diabetic mice*, Neuroscience Letters, 307, 81-84.

Liu IM, Niu CS, Kuo DH, Cheng JT (1999a) *Investigations of the mechanism of the reduction of plasma glucose by cold-stress in streptozotocin-induced diabetic rats,* Neuroscience, 92, 1137-1142.

Liu IM, Chi TC, Chen YC, Lu FH, Cheng JT (1999b) *Activation of opioid μ-receptor to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats*, Neuroscience Letters, 265, 183-186.

Locatelli V, Petraglia F, Tirloni N, Müller EE (1986) *ß-endorphin concentrations in the hypotalamus, pituitary, and plasma of streptozotocin-diabetic rats with or without insulin substitution therapy,* Life Sciences, 38, 379-386.

Loh HH, Tseng LF, Wei E, Li CH (1976) *ß-endorphin is a potent analgesic agent***,** Proceedings of the National Academy of Science, 73, 8, 2895-2898.

Lolait SJ, Lim AT, Dahal D, Khalid BAK, Toh BH, Funder JW (1983) *Neonatal rat hypotalamus cell culture: neurons subpopulations secrete immunreactive ß-endorphin but not immunreactive ACTH*, Neuroendocrinology, 37, 111-117.

Loon GR, Appel NM (1981) *ß-endorphin-induced hyperglicemia is mediated by increased central sympathetic outflow to adrenal medulla*, Brain Research, 204, 236-241.

Marini M and Roda LG (2000) *Enkephalin-degrading enzymes and their inhibitors in human saliva*, Peptides, 21, 125-135.

Masiello P, Karunanayake EH, Bergamini E, Hearse DJ, Mellows G (1981) *^{12}C-streptozotocin: its distribution and interaction with nucleic acids and proteins*, Biochemical Pharmacology, 30, 1907-1913.

Matsumara M, Fukushima T, Saito H, Saito S (1984) *In vivo and in vitro effects of ß-*

endorphin on glucose metabolism in the rat, Hormone and Metabolic Research, 16, 27-31.

McVie-Wylie AJ, Lamson DR, Chen YT (2001) *Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2A10 (GLUT10), localizede on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptabillity*, Genomics, 72, 113-117.

Melner MH, Young SL, Czerwiec FS, Lyn D, Puett D, Roberts JL, Koos RD (1986) *The regulation of granulosa cell proopiomelanocortin messenger ribonucleic acid by androgens and gonadotropins,* Endocrinology, 119, 2082-2088.

Minamino N, Kangawa K, Chino N, Sakakibara S, Matsuo H (1981) *Beta-neoendorphin, a new hypotalamic 'big' leu-enkephalin of porcine origin: its purification and the complete amino acid sequence,* Biochemical and Biophysical Research Communications, 99, 864-870.

Mizoguchi H, Wu HE, Narita M (2001) *Partial agonistic action of endomorphins in the mouse spinal cord*, Neuroscience Letters, 310, 66-68.

Mogensen CE (2002) Diabetes Diagnosis, in '*Hypertension and Diabetes'*, Lippincott Williams and Wilkins Publishing, London, U.K., Volume 1, 5-7.

Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P, Caput D, Vassart G, Meunier JC (1994) *ORL1, a novel member of the opioid receptor family, cloning, functional expression and localization*, FEBS Letters, 341, 33-38.

Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Leinhard GE, Lodish HF (1985) *Sequence and structure of a human glucose transporter,* Science, 229, 941-945.

Mulder A, Wardeh G, Hogenboom F, Frankhuyzen AL (1984) *Kapa and delta opioid receptor agonists differentially inhibit striatal dopamine and acetylcholine release,* Nature, 308, 278-280.

Murray RK (1993) *Pituiter ve hipotalamik hormonlar,* **'***Harper'ın Biyokimyası', Ed:* **Murray RK, Mayes P, Granner D, Rodwell V***,* Barış Kitabevi Yayım ve Dağıtım, Cerrahpaşa, İstanbul, 603-604.

Narita M, Ohsawa M, Mizoguchi H, Aoki T, Suzuki T, Tseng LF (2000) *Role of the phosphatidylinosital-specific phospholipase C pathway in δ-opioid receptor mediated antinociception in the mouse spinal cord*, Neuroscience, 99, 327-331.

Navolotskaya EV, Malkova NV, Zargarova TA, Lepikhova TN, Zavyalov VP, Lipkin V (2001) *Synthetic β-endorphin-like peptide immunoprhin binds ton on-opioid receptors for β-endorphin on t-lymphocytes*, Peptides, 22, 2009-2013.

Nevo I, Avidor-Reiss T, Levy R, Bayewitch M, Vogel Z (2000) *Acute and chronic activation of the μ-opiate receptor with the endogenous ligand endomorphin differentially regulates adenyl cyclase isoenzymes,* Neuropharmacology, 39, 364-371.

Noyan A (1996) *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*, Meteksan Basım, Ankara, Düzeltilmiş sekizinci Baskı, 258-262.

Ohara N (2000) *Impaired intestinal active calcium absorption and reduction of serum 1alpha,25(OH)2 D3 in streptozotocin induced diabetic pregnant rats with hypocalcemia in their fetuses,* Clinical Experimental Obstetric Gynecology, 27, 100-102.

Oka Y, Asano T, Shibasaki Y, Lin JL, Tsukuda K, Akanuma Y, Takaku F (1990), *Increased liver glucose-transporter protein and mRNA in streptozotocin induced diabetic rats*, Diabetes, 39, 441-446.

Osawa T, Nakao M, Moriyoshi M, Nakada K (1998) *Plasma β-endorphin around parturition and releationship to cortisol level and resumption of pituitary and ovarian functions in dairy cows*, Animal Reproduction, 52, 27-38.

Owen MD, Gürün S, Zagola GP, Millington WR (1997) *Glycyl-L-glutamine [ß-endorphin-(30-31)] attenuates hemorrhagic hypotension in conscious rat*, American Journal of Physiolology, 273, 1598-1606.

Panerai A, Martini A, Guiglio AM, Fraoli F, Vegni C, Pardi G, Marini A, Mantegazze P (1983) *Plasma ß-endorphin, beta-lipotropin and met-enkephalin concentrations during pregnancy in normal and addicted women and their newborn*, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 57(3), 537-543.

Pardridge WM, Triguero D, Buciak JL (1990) *ß-endorphin chimeric peptides: Transport through the blood-brain barrier in vivo and cleavage of disulfide linkage by brain,* Endocrinology, 126(2), 977-984.

Pasnik J, Tchorzewski H, Baj Z, Luciak M, Tchorzewski M (1999) *Priming effect of met-enkephalin and ß-endorphin on chemiluminescence, chemotaxis and CD11b molecule expression on human neutrophils in vitro*, Immunology Letters, 67, 77-83.

Payne J, Maher F, Sımpson I, Mattıce L, Davies P (1997) *Glucose transporter Glut 5 expression in microglial cells,* GLIA, 21, 327-331.

Pessin JE, Bell G (1992) *Mammalian facilitative glucose transporter family: Structure and molecular regulation*, Annual Review of Physiology, 54, 911-930.

Petraglia F, Wylie V, Rivier C (1987) *ß-endorphin and dynorphin participate in the stress induced release of prolactin in the rat*, Neuroendocrinology, 45, 338-342.

Pikula DL, Harris EF, Desidero DM, Fridland GH, Lovelace JL (1992) *Methionine enkephalin-like, substance P-like and ß-endorphin-like immunreactivity in human parotid saliva,* Archieves of oral Biology, 37, 705-709.

Prezwlocki R, Gramsch C, Pasi A, Herz A (1983) *Characterization and localization of immunreactive dynorphin, alpha-neoendorphin, met-enkephalin and sunbstance P in human spinal cord,* Brain research, 280, 95-103.

Radosevich PM, Williams PE, McRae JR, LAcy WW, Orth DN, Abumrad NN (1984) *ß-endorphin inhibits glucose production in the conscious dog*, Journal of Clinical Investigations, 73, 1237-1241.

Reid RL, Sandler JA, Yen SSC (1984) *ß-endorphin stimulates the secretion of insulin and glucagon in diabetes mellitus*, Metabolism, 33, 197-199.

Rodnick KJ, Holloszy JO, Mondon CE, James DE (1990) *Effects of exercise training on insulin-regulatable glucose transporter protein levels in rat skeletal muscle*, Diabetes, 39, 1425-1429.

Rogers S, Macheda M, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA, Soeller WC, Gibbs EM, James DE, Best JD (2002) *Identification of a novel glocose transporter-like protein-GLUT12,* American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism, 283, 733-738.

Ronai AZ, Szemenyei E, Kato E, Kocsis L, Orosz G, Aj-Khrasani M, Toth G (2006) *Endomorphin synthesis in rat brain from intracerebroventricularly injected [^{3}H]-tyr-pro: A possible biosyntetic route for endomorphins*, Regulatory Peptides, 134, 54-60.

Rossier J, Vargo TM, Minick S, Ling N, Bloom FE, Guillemin R (1977) *Regional dissociation of β-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary*, Proceedings of the National Academy of Science, 74, 5162-5165.

Rubinstein M, Stein S, Udenfriend S (1977) *Isolation and characterisation of opioid*

peptides from rat pituitary: β-endorphin, Proceedings of the National Academy of Science, 74, 4969-4972.

Ruiter M, La Fleur SE, van Heijningen C, van der Vliet J, Kalsbeek A, Buijs RM (2003) *The daily rythm in plasma glucagon concentrations in the rat is modulated by the biological clock and by feeding behavior*, Diabetes, 52, 1709-1715.

Sacerdote P and Panerai AE (1989) *Analysis of the ß-endorphin Structure-Related Activity on Human Monocyte Chemotaxis: Importance of the N- and C-Terminal,* Peptides, 10,565-569.

Salzet M, Vieau D, Day R (2000) *Cross talk between nervous and immune systems through animal kingdom: Focus on opioids,* Trends Neuroscience, 23, 550-555.

Sanders SL, Menler MH, Curry TE (1990) *Cellular localization of ovarian proopiomelanocortin Messenger RNA during follicular and luteal development in the rat,* Molecular Endocrinology, 4, 1311-1319.

Sandin J, Nylander I, Silberring J (1998) *Metabolism of ß-endorphin in plasma studied by liquid chromotography- electrospray ionization mass spectrometry*, Regulatory Peptides, 73, 67-72.

Sarkar DK and Yen SSC(1985) *Changes in ß-endorphin-like immunoreactivity in pituitary portal blood during the estrus cycle and after ovariectomy in rats*, Endocrinology, 116, 2075-2079.

Sato T, Nara Y, Kato Y, Yamori Y (1996) *Long-term effects of high calorie sucrose-enriched diet and streptozotocin-induced diabetes on insulin resistance in spontaneously hypertensive rats,* Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 23, 669-674.

Sato H, Sugiyama Y, Sawada Y, Iga T, Hanano M (1987) *Physiologically based pharmacokinetics of radioiadinated ß-endorphin in rats,* Drug Metabolism and Disposition, 15, 540-550.

Savcı V, Gürün MS, Ulus IH, Kiran BK(1996) *Effect of intracerebroventricularly injected choline on plasma ACTH and ß-endorphin levels in conscious rats*, European Journal of Pharmacology, 309, 275-280.

Scavo D, Barletta C, Buzzetti R, Vagiri D (1988) *Effects of caloric restriction and exercise on β-endorphin, ACTH, and cortisol circulating levels in obesity*, Physiology

and Behavior, 42, 65-68.

Schulz R, Wüster M, Herz A (1981) *Pharmacological characterization of the ∈-opiate receptor*, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 216, 604-606.

Schweigerer L, Schmidt W, Teschemacher H, Gramsch C (1985) *ß-endorphin: Surface binding and internalization in thymoma cells*, Proc. Natl. Acad. Sci., 82, 5751-5755.

Severson K, Tackett RL (1998) *Enhanced hemodynamic responce to [D-Ala^2, D-met^5] methionine enkephalin (DAME) in streptozotocin induced diabetic rats is reversed by insulin replacement,* Life Sciences, 62, 2219-2229.

Shavali S, Ho B, Govitrapong P, Swalom S, Ajjimaporn A, Klongpanichapak S, Ebdi M (2005) *Melatonin exerts its analgesic actions not by binding to opioid receptor subtypes but by increasing the release of ß-endorphin an endogenous opioid*, Brain Research Bulletin, 64, 471-479.

Sivitz WI, DeSautel S, Kayano T, Bell GI, Pessin JE (1989) *Regulation of glucose transporter Messenger mRNA in insulin-deficient states*, Nature, 340, 72-74.

Snowden EU, Khan-Dawood F, Dawood MY (1984) *The effect of naloksone on endogenous opioid regulation of pituitary gonadotropins and prolactin during the menstrual cycle,* Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 59, 298-302.

Stander S, Gunzer M, Metze D, Luger T, Steinhoff M (2002) *Localization of μ-opioid receptor 1A nerve fibers in human skin,* Regulatory Peptides, 110, 75-83.

Suzue K, Lodish F, Thorens B (1989) *Sequence of the mouse liver glucose transporter*, Nucleic Acids Research, 17, 10099.

Tam PT (1999) '*Peptides', in 'Frontiers of Peptide Science'*, Ed: Tam PT, Kaumaya PTP, Kluwer Academic Publishers, Hingham, MA, U.S.A., 511-513.

Tanyolaç A (1999) *Özel Histoloji*, Yorum Basın Sanayi, Ankara, 97-99.

Taylor T, Dluhy RG, Williams GH (1983) *ß-endorphin suppresses adrenocorticotropin and cortisol levels in normal human subjects*, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 57, 592-596.

Tiftik AM (1996) *Klinik Biyokimya*, Mimoza Yayınları, Konya, 128.

Timmers KI, Voyles NR, King C, Wells M, Fairtile R, Recant L (1986) *Opioid peptides in rat islets of langerhans*, Diabetes, 35, 52-57.

Tinsley PW, Fridland GH, Killmar JT, Desiderido DM (1988) *Purification, Caracterisation and Localization of Neuropeptides in the Cornea*, Peptides, 9, 1373-1379.

Üstdal KM (2005) *Endokrin sistem,* in **'***Biyokimya'*, Ed: Karaca L,Tezkereci H, Kuş S, Paşaoğlu H, Türköz Y, Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, Ankara, 771-775.

Van Den Burg EH, Metz JR, Arends RJ, Devreese B, Vandenberghe I, Van Beeumen J, Bonga SEW(2001) *Identification of ß-endorphins in the pituitary gland and blood plasma of common carp (Cyprinus caprio)* Journal of Endocrinology, 169, 271-280.

Van Der Bergh P, Rozing J, Nagelkerken L (1993) *Identification of two moieties of ß-endorphin with opposing effect on rat t-cell proliferation,* Immunology, 79, 18-23.

Viveros OH, Diliberto EJ, Hazum E, Chang KJ (1979) *Opiate like materials in the adrenal medulla: evidence for storage and secretion with catcholamines*, 16, 1101-1108.

Waddell ID, Zomerschoe AG, Voice MW, Burchell A (1992) Cloning and expression of a hepatic microsomal glucose transport protein, Biochem J., 286, 173-177,

Wang C (1987) *The D-glucose transporter is tissue specific,* The Journal of Biological Chemistry, 262, 15689-15695.

Wardlaw SL, Wehrenberg WB, Ferin M, Antunes JL, Frantz AG (1982) *Effect of sex steroids on ß-endorphin in hypophyseal portal blood*, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 55, 877-881.

Wardzala LJ, Cushman SW, Salans LB (1978) *Mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell*, The Journal of Biological Chemistry, 253, 8002-8005.

Watkins PJ (2003) *ABC of Diabetes*, fifth edition, GBR: BMJ Publishing Group, London, 1-6.

Watkins WB, Bruni JF, Yen SSC (1980) *ß-endorphin and somatostatin in the pancreatic D-cell colocalization by immunocytochemistry*, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 28, 1170-1174.

Watt MJ and Hargreaves M (2002) *Effect of epinephrine on glucose disposal during exercise in humans: Role of muscle glycogen,* American Journal of Physiology and

Endocrinology Metabolism, 283, 578-583.

Way WL, Hosobuchi Y, Johnson BH, Eger EI, Bloom FE (1984) *Anesthesia does not increase opioid peptides in cerebrospinal fluid of humans*, Anesthesiology, 60, 43-45

Weber E, Roth KA, Barchas JD (1982) *Immunohistochemical distribution of alfa-neoendorphin/dynorphin neural systems in rat brain: Evidence for colocalization*, Proceedings of the National Academy of Science, 79, 3062-3066.

Wiesner JB, Robert Moss (1986) *Behavioral specificity of ß-endorphin supression of sexual behavior: Differential receptor antagonism,* Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 24, 1235-1239.

Wiesner JB, Koenig JI, Krulich L, Moss RL (1984) *Site action for ß-endorphin-induced changes in plasma luteinizing hormone and prolactin in the overiectomized rats*, Life Sciences, 34, 1463-1473.

Williams N, Clouet DH (1982) *The effect of opioid administration on the phosphorylation of rat striatal synaptic membrane proteins,* The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 220, 278-286.

Wintzen M, Winter de S, Out-Luiting JJ, van Duinen SG, Vermeer BJ (2001) *Presence of immunreactive ß-endorphin in human skin*, Experimental Dermatology, 10, 305-311.

Wittert G, Hope P, Pyle D (1996) *Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat,* Biochemical and Biophysical Research Communications, 218, 877-881.

Xu JY, Fujimoto JM, Tseng LF (1992) *Involvement of supraspinal epsilon and mu opioid receptors in inhibition of the tail-flick response induced by etorphine in the mouse,* Pharmacology and Experimental Therapeutics, 263, 246-252.

Yamada M, Ogata M, Kawai M, Mashima Y, Nishida T (2002) *Substance P and its metabolites in normal human tears*, Investigative Ophtalmology and Visual Science, 43, 2622-2625.

Yamamoto T, Sako N, Maeda S(2000) *Effects of test stimulation on ß-endorphin levels in rat cerebrospinal fluid and plasma***,** Physiology and Behavior, 69, 345-350.

Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H (1981) *Streptozotocin and alloxan induced DNA strand breaks and poly(ADP_RİBOSE) synthetase in pancreatic islets*, Nature, 294, 284-286.

Yamamoto H and Okamoto H (1980) *Protection by picolinamide, a novel inhibitor of poly-ADP-ribose synthetase, against both streptozotocin-induced depression of proinsulin synthesis and reduction of NAD content in pancreatic islets*, Biochemical and Biophysical Research Communications, 95, 474-481.

Yamauchi N, Shibasaki T, Wakabayashi I, Demura H (1997) *Brain ß-endorphin and other opioids are involved in restraint stres induced stimulation of the hypotalamic-pituitary adrenal axis, the sympathetic nervous system, and the adrenal medulla in the rat,* Brain Research, 777, 140-146.

Yenson M (1988) *Hormonlar ve biyofonksiyonları*, in '*İnsan Biyokimyası'*, Geliştirilmiş 6. baskı, Beta-Basım Yayın Dağıtım A.Ş. İstanbul, 712-752

Yılmaz B (1999) *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi,* Feryal Matbaacılık, Tuğra Ajans, Ankara, 1. Basım, 53-59.

Young E, Houghten RA, Akil H (1989) *Degradation of [^{3}H] ß-endorphin in rat plasma is increased with chronic stress,* European Journal of Pharmacology, 167, 229-236.

Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ (1997) *A potent and selective endogenous agonist for the μ-opiate receptor*, Nature, 386, 499-502.

Zagon IS, Y Wu, Mclaughlin PJ (1996) *The opioid growth factor, [Met^5]-enkephalin, and the zeta opioid receptor are present in human and mouse skin and tonically act to inhibit DNA synthesis in the epidermis,* The Journal of Investigative Dermatology, 106, 490-497.

Zagon IS, Mclaughlin PJ (1993) *Production and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies to the zeta opioid receptor*, Brain Research, 630, 295-302.

Zagon IS, Gibo DM, Mclaughlin PJ (1991) *Zeta, a growth related opioid receptor in developing rat cerebellum: Identification and characterization*, Brain Research, 551,28-35.

Zangen A, Nakash R, Roth-Deri I, Overstreet DH, Yadid G (2002) *Impaired release of ß-endorphin in response to serotonin in a rat model of depression,* Neuroscience, 110, 389-393.

Zangen A, Herzberg U, Vogel Z, Yadid G (1998) *Nociceptive stimulus induces release of endogenous ß-endorphin in the rat brain*, Neuroscience, 85, 659-662.

Zhang S, Tong Y, Tian M, Dehaven R, Cortesburgos L, Mansson E, Simonin F,

Keiffer B, Yu L (1998) *Dynorphin A as a potential endogenous ligand for four members of the opioid receptor gene family,* The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 286, 136-141.

Zhang S and Yu L (1995) *Identificaton of dynorphins as endogenous ligands for an opioid receptor-like orphan receptor*, The Journal of Biological Chemistry, 270, 22772-22776.

9. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Adana'nın Feke ilçesinde doğdu. İlk öğrenimini Girne/Kıbrıs 23 Nisan İlköğretim Okulunda, orta ve lise öğrenimini Girne/Kıbrıs 19 Mayıs Türk Maarif Koleji'nde tamamladı. 1996 yılında S.Ü.Veteriner Fakültesini kazandı ve 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.

10. TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince katkılarını ve desteklerini gördüğüm Anabilim Dalımız Öğretim Üye ve Elemanlarına, Özel Konya Nükleer Tıp Merkezi laboratuarında çalışma olanağı sağlayan Uzman Dr. Nuri Ahmet SEZER'e, biyolog Ayla YAZGAN'a, ayrıca yakın ilgi ve anlayışını gördüğüm sevgili eşim GSGM Müfettişi Hüseyin AKALIN'a, fedakar annem, babam Fatma–Yaşar PEKER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.