



Santral GLP-1'in Gastrik Mukozal Kan Akımına Etkisi; Spesifik Reseptörlerin Rolü

Effect of Central GLP-1 on Gastric Mucosal Blood Flow; the Role of Specific Receptors

 Türkan ÇELİK^a,
 Naciye İŞBİL^b

^aFiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği,
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
^bFizyoloji ABD,
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Bursa, TÜRKİYE

Received: 15 Apr 2019

Received in revised form: 07 May 2019

Accepted: 08 May 2019

Available online: 10 May 2019

Correspondence:

Naciye İŞBİL
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Fizyoloji ABD, Bursa,
TÜRKİYE/TURKEY
nisbil@uludag.edu.tr

Bu çalışma, Türk Fizyolojik Bilimler Demeği
44. Ulusal Kongresi (1-4 Kasım 2018,
Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur ve
"Acta Physiologica" (Volume 225, Issue S716
December 2018) dergisinde özet olarak
yayımlanmıştır.

ÖZET Amaç: İntraserebroventriküler (ICV) olarak enjekte edilen "glucagon like peptid-1 (GLP-1)" in sıçanlarda gastrik mukozal kan akımı [gastric mucosal blood flow (GMBF)] na etkisi, bu etkide santral spesifik reseptörlerinin rolü ve ayrıca absolu etanolün GMBF'de neden olduğu değişikliklerin üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır. **Gereç ve Yöntemler:** ICV enjeksiyonlar için izofloran (%4) anestezisi altında sıçanların kafatasına orta hattın 1,5 mm sağ yanında ve bregmanın 1-1,5 mm arkasında olacak şekilde bir delik açıldı. Bu delikten sağ lateral ventriküle, dik olarak ve alt ucu kafatası yüzeyinden 4,2-4,5 mm kadar derinliğe incek şekilde 10 mm uzunluğunda bir kanül yerleştirildi. GMBF "Laser Doppler flow-metre" ile ölçülerek, veriler "MP30 Data Acquisition System" aracılığıyla bilgisayara aktarıldı. Ölçümler için anestezisi altındaki sıçanlarda mide hazırlandıktan sonra mide mukozasına prob yerleştirilerek kalibrasyon için 30 dk beklendi ve bazal kan akımı ölçümleri kaydedildi. GLP-1'in GMBF'deki etkisini araştırmak amacıyla, GLP-1 (3, 10 ve 30 µg/10 µL; ICV) veya serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjekte edildi. Spesifik reseptör antagonisti exendin-(9-39) (1 µg/10 µL; ICV) enjekte edildikten 5 dk sonra 10 µg GLP-1 enjekte edildi. Enjeksiyonları takiben gastrik çember içine serum fizyolojik (1,5 mL) uygulandı ve 30 dak süresince her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi. Absolu etanolün GMBF'de neden olduğu değişiklikler üzerinde GLP-1'in etkisini araştırmak için sıçanlara 10 µg GLP-1 enjeksiyonundan 5 dk sonra gastrik çember içine etanol (1,5 mL) uygulandı. **Bulgular:** 10 µg ICV GLP-1 GMBF'yi arttırdı ve ICV eksendin- (9-39) bu etkiyi antagonize etti. Ayrıca GLP-1 absolu etanolün GMBF'de oluşturduğu inhibisyonu azalttı. 3 ve 30 µg GLP-1 ise GMBF'yi azalttı. **Sonuç:** ICV olarak enjekte edilen 10 µg GLP-1'in GMBF'yi artırdığı ve bu etkide, santral spesifik reseptörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda santral GLP-1'in GMBF'deki etanol nedenli inhibisyonu önleyebildiği gözlenmiştir. Diğer dozlar ise GMBF'de azalmaya neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Glucagon benzeri peptid-1"; gastrik mukoza; eksendin-(9-39)

ABSTRACT Objective: The aim of this study was to investigate the effects of intracerebroventricularly (ICV) injected glucagon like peptide-1 (GLP-1) on gastric mucosal blood flow (GMBF) in rats and the role of central-specific receptors in this effect, and the changes on GMBF induced by intragastric absolute ethanol. **Material and Methods:** Each animal was anaesthetized with isoflurane (4%) for ICV injections and to drill a burr hole through the skull that is 1.5 mm lateral to the midline and 1-1.5 mm posterior to bregma on the right side. Through this hole, a stainless steel hypodermic cannula of 10 mm length was placed perpendicular to the right lateral ventricle and was lowered 4.2-4.5 mm below the surface of the skull. GMBF was measured by laser Doppler flowmeter, and the data collected by computer using "MP30 Data Acquisition" System. After preparation of the stomach for GMBF recording, a probe was placed in the gastric mucosa and basal GMBF recordings were obtained after 30-minute stabilization period. Rats were treated with GLP-1 (3, 10 and 30 µg/10 µL; ICV) or saline (10 µL; ICV) to find out the effective dose of ICV GLP-1 on GMBF. Then specific receptor antagonist exendin- (9-39) (1 µg/10 µL; ICV) was injected before the effective dose of ICV GLP-1. Subsequent to those injections serum physiologic were introduced into the gastric chamber and GMBF was recorded every fifth minute during the next 30 min. In order to confirm the effect of GLP-1 on intraluminal absolute-ethanol-induced changes in GMBF, ethanol (1.5 mL) was administrated into the gastric chamber of rats after 5 min of GLP-1 injection. **Results:** 10 µg ICV GLP-1 increased the GMBF and ICV exendin- (9-39) antagonized this effect. In addition, GLP-1 reduced the inhibition of absolute ethanol on GMBF. **Conclusion:** We suggest that, ICV GLP-1 increases GMBF and central specific receptors intermediate this effect. At the same time, it is observed that ICV GLP-1 reduced the intraluminal ethanol-induced inhibition of GMBF.

Keywords: Glucagon-like peptide 1; gastric mucosa; exendin-(9-39)

Glukagon benzeri peptid-1 [Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)] intestinal enteroendokrin L hücrelerinde üretilen, kan glukoz homeostazisinde etkili olan ve Tip II diyabet tedavisinde kullanılan terapötik bir ajandır.¹ Fizyolojik etkilerini, endokrin pankreas, akciğer, mide, kalp, vasküler düz kas, ince bağırsak, deri ve böbreklerde yaygın bir dağılım gösteren reseptörleri aracılığıyla oluşturmaktadır.² GLP-1 reseptörleri ve immünoreaktif lifler, beyinde de yaygın bir şekilde dağılım göstermektedir.³⁻⁵ Subfornikal organ ve area postrema gibi kan-beyin bariyerinin bulunmadığı bölgelerde GLP-1 reseptörlerinin yoğun olduğu, periferik olarak sekrete edilen peptidin beyne bu yolla girerek santral etkilerinin çoğundan sorumlu olabileceği kabul edilmektedir.⁴ GLP-1'in santral ve periferik etkileri spesifik reseptör antagonisti olan eksendin-(9-39) ile antagonize edilmektedir.^{6,7} Eksendinler GLP-1 ile yapısal ve fonksiyonel benzerliği olan Heloderma suspectum venomundan izole edilen bir peptid grubudur.⁸ Eksendin-(9-39) antagonist, eksendin-4 ise agonist olarak etki göstermektedir.^{9,10}

GLP-1, gastrointestinal sekresyon ve motilite- nin inhibisyonuna neden olmaktadır.^{11,12} Aynı zamanda peptidin besin alımı, sıvı balansı, vücut temperaturü ve birçok nörotransmitterin saliverilmesi gibi çeşitli fonksiyonları regüle ederek otonom ve nöroendokrin aktivitelere dâhil olan bir nöropeptid olduğu kabul edilmektedir.^{3,13} Peptidin hemodinamik etkileri de bulunmaktadır.¹⁴ Sıçanlarda kan basıncı ve kalp hızını hafif derecede artırdığı, insanlarda sol ventriküler kalp yetersizliğinin düzeltilmesinde etkili olduğu ileri sürülmektedir.^{7,15,16} Hem eksendin-4 hem de GLP-1'in kalpte iskemi-reperfüzyon hasarında yararlı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.¹⁷ GLP-1'in vasküler yataklarda direkt relaksan etkisi olduğu gösterilen bir çalışmada, bu etkisinin femoral arter ringlerinde doz-bağımlı olduğu ve eksendin (9-39) ile inhibe edildiği, ancak nitrik oksit (NO)-bağımsız olduğu ileri sürülmüştür.¹⁸ Başka bir çalışmada ise peptidin aort tonusunu etkilemeyip pulmoner arter ringlerinde doz, zaman ve endotel bağımlı relaksasyona neden olduğu gösterilmiştir.¹⁹ GLP-1'in insanlarda da endotel-ilişkili vazodilatasyonda yararlı etkiye sahip olduğunu gösteren bir çalışma bulun-

maktadır.²⁰ Sıçanlarda periferik olarak uygulanan peptidin gastrik mukozal kan akımı [gastric mucosal blood flow (GMBF)]'ni artırıcı etkisinin olduğu da ileri sürülmüştür.²¹ Ancak, santral GLP-1'in böyle bir etkisinin olup olmadığı araştırılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı:

1- GLP-1'in intraserebroventriküler (ICV) olarak enjeksiyonunun GMBF üzerine etkilerini (doz-yanıt ilişkisini) araştırmak,

2- GLP-1'in olası etkisinin santral spesifik reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla olup olmadığını araştırmak,

3- Luminal etanol uygulanan sıçanlarda GMBF'de oluşan değişikliklere santral GLP-1'in etkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi (BUÜ) Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen, 200-300 g ağırlığında "Sprague Dawley" erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde uygun çevre şartlarında (20-24°C; 12 saat aydınlık-karanlık siklusu) tutularak, su ve yem alımları serbest bırakıldı. Sıçanlar deneylerden 24-26 saat önce aç bırakıldı, deney başlangıcından bir saat öncesine kadar su alımları serbestti. Deneylere, BUÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından izin alındıktan sonra başlandı (HADYEK No: 2016-15/11). Çalışma "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uygun olarak yapılmıştır.

Sıçanlarda ICV enjeksiyonlar için izofloran (%4) ile anestezi altında kafatasına orta hattın 1,5 mm sağ yanında ve bregmanın 1-1,5 mm arkasında olacak şekilde bir delik açıldı. Bu delikten sağ yan ventriküle 10 mm kadar uzunluktaki bir kanül (20 numara hipodermik paslanmaz çelik iğneden kesilerek hazırlanmış) yerleştirildi. Kanülün alt ucu, kafatası yüzeyinden 4,2-4,5 mm kadar derinliğe inecek şekilde ve dik olarak yerleştirildi. Üstte kalan kısım "oxyphosphate cement" ile kafatasına tutturuldu. Cerrahi işlemin bitiminde sıçanlar tek tek kafeslere yerleştirildi ve 5 gün sonra deney yapıldı. Deneylerin sonunda serebral ventriküle 5 µL

metilen mavisi solüsyonu enjekte edildi. Dekapitasyondan sonra beyinler çıkartılarak ICV kanülün yerleştirildiği yerin doğru olup olmadığı kontrol edildi.

GASTRİK ÇEMBER PREPARASYONU

Gastrik çember tekniği, GMBF'yi ölçmek için ilk kez Mersereau ve Hinchey tarafından tanımlanan bir yöntemdir.²² İzofloran (%4) ile anestezi yapılan sıçanların vücut sıcaklığının homeotermik blanket (WBC3044 water bath and circulator-terapy pad; May, Turkey) kullanarak devamlı 36°C olması sağlandı. Deneyler sırasında rektal termometre (SS7L Temperature Transducer; BIOPAC Systems, Inc. U.S.A.) ile ve bağlantılı olduğu "MP30 Data Acquisition System" (BIOPAC Systems, Inc. U.S.A.) aracılığıyla devamlı olarak takip edildi. Laparotomi orta hat epigastrik insizyonla uygulanarak mide görünür hâle getirildi ve hafifçe yukarı doğru çekildi. Sıçanın üzerine yerleştirilen bir plastik platformun merkezindeki delikten geçirilen mide, büyük kurtatür boyunca açılarak mukozal yüzeyi yukarı bakacak şekilde köşelerinden platform yüzeyine iğnelendi. Gastrik mukoza üç kez serum fizyolojik (%0,9 tuzlu su) ile yıkandıktan sonra 1,5 mL serum fizyolojik içinde tutuldu.

GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMI ÖLÇÜMÜ

GMBF "laser Doppler flowmetre" (OxyLab LDF laser Doppler flowmeter; Oxford Optronix Ltd., UK) ile ölçülerek "MP30 Data Acquisition System" aracılığıyla bilgisayara aktarıldı. Veriler doku perfüzyon üniti (mL/dk/100 g doku) olarak kaydedildi. Akım probu (MNP100XP standart needle probe; Oxford Optronix Ltd., UK) mukozal yüzeyin tam üzerinde ve yüzeye dik olacak şekilde yerleştirilerek bir mikro manipülatör ile tutturuldu. Ölçümler mide korpusunun mukozal yüzeyinin anterior duvarında aynı alanda olacak şekilde sürekli olarak yapıldı ve 5 dk aralarla kaydedildi. Normal şartlar altında aynı grup içinde bile oluşabilecek farklılıkları ortadan kaldırmak amacıyla elde edilen sonuçlar, bazale göre % değişim miktarı olarak belirlendi.

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİ

Santral GLP-1'in GMBF üzerine etkisini araştırmak

amacıyla öncelikle, yukarıda gastrik kan akımı ölçüm yönteminde anlatıldığı şekilde sıçanlar hazırlandıktan sonra mide mukozasına prob yerleştirilerek kalibrasyon için 30 dk beklendi. Takiben bazal kan akımı ölçümleri kaydedildi ve GLP-1 (3, 10, 30 µg/10 µL; ICV) ya da serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonunu takiben gastrik çember içine serum fizyolojik (1,5 mL) uygulandı. 30 dk süresince, her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi. Normal şartlar altında aynı grup içinde bile oluşabilecek farklılıkları ortadan kaldırmak amacıyla elde edilen sonuçlar bazale göre % değişim miktarı olarak belirlendi (Her bir grupta 7-8 sıçan kullanıldı).

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİNDE SANTRAL SPESİFİK RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

Santral GLP-1'in GMBF üzerine etkisinin santral spesifik reseptörleri aracılığıyla olup olmadığını araştırmak amacıyla, spesifik reseptör antagonisti eksendin-(9-39) (1 µg/10 µL; ICV) enjekte edildi. 5 dk sonra GLP-1 (10 µg/10µL; ICV) ya da serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonunu takiben gastrik çember içine serum fizyolojik (1,5 mL) uygulandı. Toplam 30 dk süresince, her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi (Her bir grupta 7-8 sıçan kullanıldı).

İNTRALUMİNAL ETANOL UYGULANAN SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİ

GMBF'de absolu etanolün neden olduğu inhibisyona ICV GLP-1'in etkisini araştırmak amacıyla GLP-1 (10 µg/10 µL) ya da serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonunu takiben gastrik çember içine absolu etanol (1,5 mL) uygulanarak 30 dk süresince her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi (Her bir grupta 7-8 sıçan kullanıldı).

İLAÇLAR

Kullanılan kimyasal maddeler Sigma'dan (Sigma Chem. Co., MO, ABD) temin edildi ve etanol hariç diğerleri serum fizyolojik ile hazırlandı. ICV enjeksiyonlar Hamilton mikro enjektörü (Commat Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılarak yapıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler Sigma Plot 12.5 programı kullanılarak yapıldı. İki den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, iki bağımsız grubun karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Veriler ortalama±SE olarak gösterildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİ

GLP-1 (3, 10 ve 30 µg/10 µL; ICV) ve serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonlarının GMBF'ye etkisi Şekil 1'de görülmektedir. 10 µg GLP-1 GMBF'yi 30 dk süresince artırmıştır ve gözlenen artış 15. dk'da en yüksek seviyeye ulaşmış, daha sonra azalmasına rağmen bazal seviyeye inmemiştir. Serum fizyolojik grubundaki değişimlerle karşılaştırıldığında ilk 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış bulunmaktadır (sırasıyla $p=0,024$, $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,01$, $p=0,22$, $p=0,32$). 3 µg GLP-1 GMBF'de ilk 15 dk süresince istatistiksel olarak anlamlı olmayan küçük bir artış oluşturmuş, daha sonra ise GMBF'yi azaltmıştır. 25 ve 30.

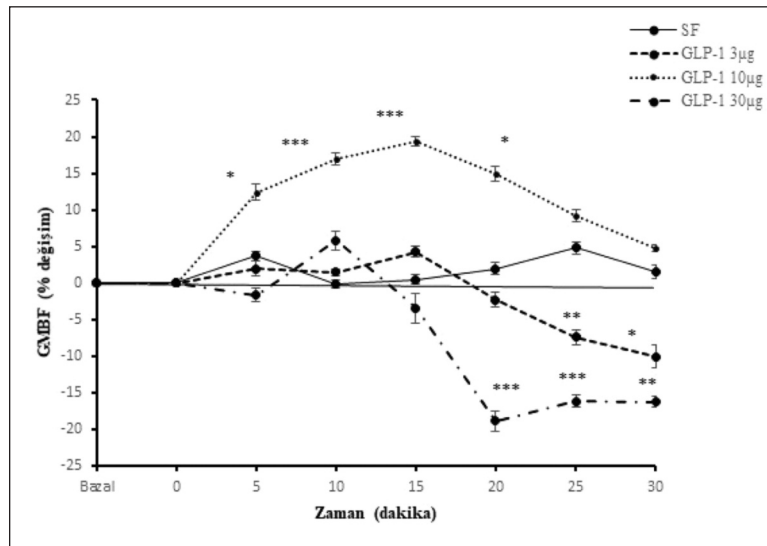
dk'da gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir (sırasıyla $p=0,35$, $p=0,54$, $p=0,10$, $p=0,61$, $p=0,004$, $p=0,013$). 30 µg GLP-1 ise GMBF'de 15 dk süresince belirgin bir değişiklik oluşturmamakla birlikte, sonrasında giderek artan bir şekilde azalmaya neden olmuştur. Bu azalma 20, 25 ve 30. dk'larda istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir (sırasıyla $p=0,18$, $p=0,17$, $p=0,46$, $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,009$).

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİNDE SANTRAL SPESİFİK RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

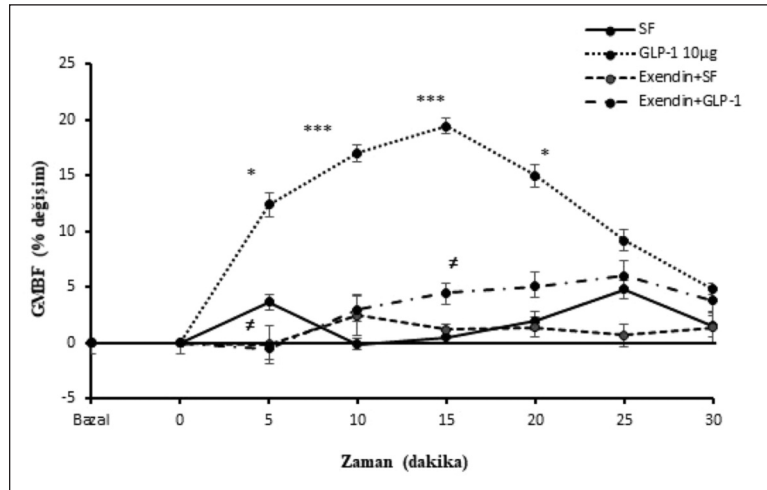
Eksendin-(9-39) ICV GLP-1'in GMBF'de neden olduğu artışı 30 dk boyunca inhibe etmiştir, bu 5 ve 15. dk'larda istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyonudur (sırasıyla $p=0,04$, $p=0,098$, $p=0,026$, $p=0,1$, $p=0,28$, $p=0,82$). Aynı dozda eksendin-(9-39) tek başına uygulandığında, GMBF üzerinde anlamlı bir etki oluşturmamıştır (Şekil 2).

İNTRALUMİNAL ETANOL UYGULANAN SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER GLP-1'İN GASTRİK MUKOZAL KAN AKIMINA ETKİSİ

Absolu etanol gastrik çembere uygulandıktan sonra GMBF'de 30 dk süresince artarak devam eden in-



ŞEKİL 1: İCV GLP-1'in GMBF'ye etkisi. Bazal kan akımı ölçümlerini takiben GLP-1 (3, 10, 30 µg/10 µL; ICV) ya da serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonu yapıldı ve gastrik çember içine serum fizyolojik (1,5 mL) uygulandı. Toplam 30 dk süresince, her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi. Veriler ortalama±SE olarak gösterilmektedir. Her bir grupta 7-8 siçan kullanılmıştır. ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; Serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma. (GMBF: Gastrik mukozal kan akımı; SF: Serum fizyolojik).



ŞEKİL 2: ICV GLP-1'in GMBF'ye etkisinde santral spesifik reseptörlerinin rolü. Bazal kan akımı ölçümlerini takiben exendin-(9-39) (1 µg/10 µL; ICV) ve 5 dk sonra GLP-1 (10 µg/10 µL; ICV) ya da serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjekte edildi, takiben gastrik çember içine serum fizyolojik (1,5 mL) uygulandı. Toplam 30 dk süresince, her 5 dk'da gastrik kan akımı kaydedildi. Veriler ortalama±SE olarak gösterilmektedir. Her bir grupta 7-8 sıçan kullanılmıştır. ***: p<0,001; *: p<0,05; Serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma, ≠: p<0,05; GLP-1 grubuyla karşılaştırma. (GMBF: Gastrik mukozal kan akımı; SF: Serum fizyolojik).

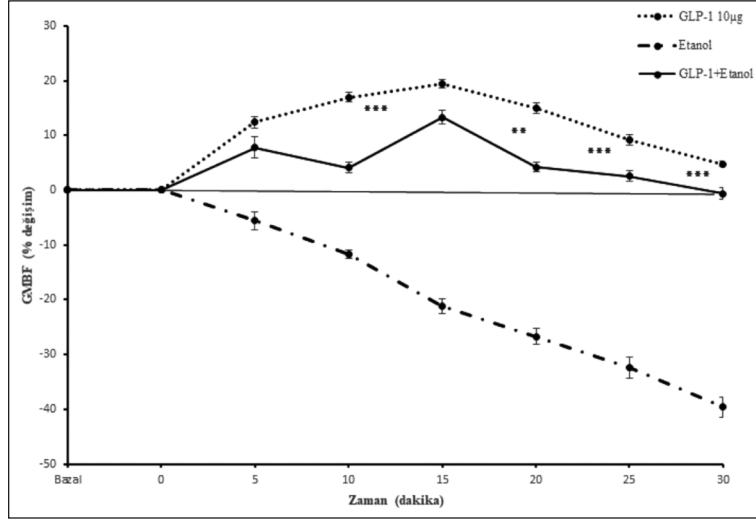
hibisyona neden olmuştur. Bu inhibisyon 30. dk'da %40'a ulaşmıştır (Şekil 3). 10 µg ICV GLP-1'in, etanolün oluşturduğu inhibisyonu azalttığı gözlenmiştir. Sadece etanol uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, GLP-1'in kan akımında oluşturduğu artış, 15. dk'dan sonra istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla p=0,17, p=0,053, p=0,001, p=0,002, p=0,001, p=0,001).

TARTIŞMA

Çalışmamızda, ICV olarak enjekte edilen 10 µg GLP-1'in GMBF'de artışa neden olduğu ve bu etkisini santral spesifik reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirdiği bulgusunu elde ettik. Ayrıca etanolün GMBF üzerinde oluşturduğu inhibisyonun ICV GLP-1 enjeksiyonuyla azaldığını gözledik.

Gastrointestinal kan akımının peptiderjik kontrolünün bulunduğu bilinmektedir.^{23,24} Hem gastrointestinal sistemdeki endokrin hücrelerde hem de beyinde çok sayıda bulunan regülatör peptidlerden bazılarının GMBF'yi artırarak gastroprotektif etkiye sahip oldukları çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir.²⁵⁻²⁷ Bu peptidler gastrointestinal fonksiyonların nöral ve hormonal regülasyonuna katılmaktadır ve birçoğunun gastrik patolojiyi etkilediği gösterilmiştir. Bunlardan biri de GLP-1'dir.^{28,29}

Daha önce hem santral hem de periferik olarak uygulanan GLP-1'in çeşitli nedenlerle oluşturulan gastrik mukozal hasar üzerine koruyucu etkisi olduğu ileri sürülmüştür.²⁸⁻³² ICV olarak uygulanan GLP-1'in gastroprotektif etkisinin, olasılıkla gastrik kan akımını artırarak gastrik mukozal sağlamlığa katkı sağlama yoluyla olduğu ileri sürülmüştür.²⁸ Ayrıca sıçanlara periferik GLP-1 enjeksiyonunun etanol-nedenli gastrik mukozal hasarı azalttığını ve peptidin bu etkisinde spesifik reseptörlerinin, NO'nun, kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP) reseptörlerinin, prostaglandinlerin ve GMBF'nin rolü olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada periferik olarak enjekte edilen GLP-1'in (1.000 ng/kg; intraperitoneal) GMBF'yi artırıcı etkisi olduğu ileri sürülmüştür.²⁹ Santral GLP-1'in ise gastroprotektif etkisinde GMBF'nin olası rolü olduğu ileri sürülmüş olmasına rağmen ICV GLP-1'in GMBF'ye etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır.²⁸ Çalışmamızın ilk bulgusu olan, 10 µg i.s.v. GLP-1'in GMBF'yi artırdığı bulgumuz daha önceki bulguları desteklemesi açısından önemlidir. Sonuçlarımız, peptidin GMBF üzerine yaptığı etkide doz-yanıt ilişkisinin olmadığını göstermektedir. Çünkü, 3 ve 10 µg olarak uygulanan dozlarda ICV GLP-1'in GMBF'de azalmaya, 10 µg dozda ise artışa neden olduğu sonucunu elde ettik. Daha önceki bazı çalışmalarda elde edilen bu tarz etkinliğin peptidin



ŞEKİL 3: Etanol-nedenli GMBF değişikliğine ICV GLP-1'in etkisi. Bazal ölçümlerden sonra GLP-1 (10 µg/10 µL; ICV) veya serum fizyolojik (10 µL; ICV) enjeksiyonunu takiben gastrik çembere etanol (1,5 mL) uygulanarak 30 dk süresince, her 5 dk'da GMBF kayıtları edildi. Veriler ortalama±SE olarak gösterilmektedir. Her bir grupta 7-8 sıçan kullanılmıştır. ***: p<0,001; **: p<0,01; Etanol grubu ile karşılaştırma (GMBF: Gastrik mukozal kan akımı).

karşı etkiler oluşturan iki veya daha fazla reseptörle ilişkili olması sonucu ya da alternatif olarak farklı sinyal yollarının olması ile ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.^{27,33-36}

Çalışmamızın ikinci bulgusu ise santral GLP-1'in GMBF'yi artırıcı etkisinde santral spesifik reseptörlerinin aracılığının bulunduğudır. Çünkü ICV olarak uygulanan spesifik reseptör antagonisti eksendin-(9-39), GLP-1'in GMBF etkisini inhibe etmiştir. GLP-1'in periferik ve santral yerleşimli çok sayıda reseptöre sahip olduğu bilinmektedir.²⁻⁵ GLP-1 ve spesifik reseptörlerinin aynı beyin bölgelerinde sentez edildiğinin gösterilmesiyle peptidin santral etkilerinin anlaşılması sağlanmıştır.^{2,3} GLP-1'in çeşitli gastrointestinal etkilerinde spesifik reseptörlerinin aracılığının bulunduğu bilinmektedir. GLP-1'in sıçan midesinde endokrin somatostatini stimüle ettiği ve gastrin sekresyonunu inhibe edici etkiye sahip olduğu, ayrıca bu etkilerinin eksendin-(9-39) ile suprese olduğu ileri sürülmektedir.³⁷ GLP-1'in motor aktivitedeki inhibisyon etkisi de eksendin-(9-39) ile önlenmektedir.¹² Santral GLP-1'in gastrik mukozal hasarı önleyici etkisinde de yine santral spesifik reseptörlerinin rolü olduğu, aksine periferik olarak uygulanan eksendin-(9-39)'ün ICV GLP-1'in gastroprotektif etkisini antagonize etme-

diği, bu nedenle, etkinin santral mekanizmalar yoluyla olduğu ileri sürülmüştür.³¹

Diğer bulgumuz ise intraluminal olarak uygulanan absolu etanolün GMBF'de neden olduğu inhibisyonu ICV GLP-1'in azalttığını gözlememizdir (Şekil 3). Daha önce hem periferik hem de ICV olarak uygulanan peptidin etanol nedenli gastrik mukozal hasarda gastroprotektif olduğu ve bu etkisinde GMBF'nin rol oynadığı belirlenmiştir.^{28,29} Aynı zamanda periferik GLP-1'in GMBF üzerindeki artırıcı etkisinin intraluminal etanol varlığında daha güçlü olduğu ileri sürülmüştür.²¹ Biz de i.s.v. GLP-1'in GMBF'de etanol nedenli inhibisyonu azalttığını gözlememize rağmen periferik etkide olduğu gibi etanol varlığında daha güçlü değildi. Alkolün direkt etkisi sonucunda staz geliştiği bilinmektedir. Güçlü bir protein presipitanti olan alkol hem derin hücre hasarı hem de damarlarda zedelenmeye neden olabilir.³⁸ Yüksek konsantrasyonda etanol uygulanan sıçanların midesinde hızlı bir şekilde fokal hemorajik lezyonlar oluşmaktadır. Sıçan midesinin glandüler mukozasındaki kapiller yapıda etanolün etkileri; interstisyel hemoraji, kapiller hiperemi ve trombosit trombüslerinin oluşmasıdır. Böylece etanol nedenli en erken olayın, mukozal mikrosirkülasyondaki hasarın olabileceği düşünülmektedir.³⁹ Mu-

kozal kan akımındaki azalma mural venlerde kontraksiyondan değil, mural arter ve submukozal arteriyol dilatasyonu ile olmaktadır.⁴⁰ Kan akımının artması trombüs oluşumunu ve mikrodamarların oklüzyonunu önleyebilmektedir. Böylece mukozal kan akımı mukozal hasara karşı protektif bir faktördür. Bazı regülatör peptidlerin GMBF'yi artırarak gastroprotektif etkiye sahip oldukları çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir.^{25-28,35} Bunların arasında GLP-1'in de olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

ICV'ler olarak enjekte edilen 10 µg GLP-1'in GMBF'de artış oluşturduğu ve bu etkide santral spesifik reseptörlerinin aracılığı olduğu, aynı zamanda GMBF'de etanol ile oluşan inhibisyonu azalttığını düşünmekteyiz.

Teşekkür

Bu çalışma, BUÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: HDP(T)-2017/2). Yazarın Yüksek Lisans tez çalışmasıdır ve yazarın kendi eseri olup, danışman öğretim üyesi Naciye İşbil'in katkısı bulunmaktadır.

Çalışmanın istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında BUÜ Biyoistatistik AD'den yardım alınmıştır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Naciye İşbil, Türkan Çelik; **Tasarım:** Naciye İşbil; **Denetleme/Danışmanlık:** Naciye İşbil; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Türkan Çelik; **Analiz ve/veya Yorum:** Türkan Çelik; **Kaynak Taraması:** Türkan Çelik; **Makalenin Yazımı:** Türkan Çelik; **Eleştirel İnceleme:** Naciye İşbil; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Naciye İşbil.

KAYNAKLAR

- Larsen PJ, Holst JJ. Glucagon-related peptide 1 (GLP-1): hormone and neurotransmitter. *Regul Pept.* 2005;128(2):97-107. [Crossref] [PubMed]
- Kieffer TJ, Habener JF. The glucagon-like peptides. *Endocr Rev.* 1999;20(6):876-913. [Crossref] [PubMed]
- Larsen PJ, Tang-Christensen MM, Holst JJ, Orskov C. Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neurosci.* 1997;77(1):257-70. [Crossref]
- Göke R, Larsen PJ, Mikkelsen JD, Sheikh SP. Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites. *Eur J Neurosci.* 1995;7(11):2294-300. [Crossref] [PubMed]
- Shimizu I, Hirota M, Ohboshi C, Shima K. Identification and localization of glucagon-like peptide-1 and its receptor in rat brain. *Endocrinology.* 1987;121(3):1076-82. [Crossref] [PubMed]
- Schirra J, Sturm K, Leicht P, Arnold R, Göke B, Katschinski M. Exendin (9-39) amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in humans. *J Clin Invest.* 1998;101(7):1421-30. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Barragán JM, Eng J, Rodríguez R, Blázquez E. Neural contribution to the effect of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide on arterial blood pressure in rats. *Am J Physiol.* 1999;277(40):E784-91. [Crossref] [PubMed]
- Eng J, Kleiman WA, Singh L, Singh G, Raufman JP. Isolation and characterization of exendin-4, and exendin-3 analogue, from Heloderma suspectum venom. Further evidence for an exendin receptor on dispersed acini from guinea pig pancreas. *J Biol Chem.* 1992;267(11):7402-5.
- Barragán JM, Rodríguez RE, Eng J, Blázquez E. Interaction of exendin-(9-39) with the effects of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide and of exendin-4 on arterial blood pressure and heart rate in rats. *Regul Pept.* 1996;67(1):63-8. [Crossref]
- Göke R, Fehmann HC, Linn T, Schmidt H, Krause M, Eng J, et al. Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide-1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting b-cells. *J Biol Chem.* 1993;268(26):19650-5.
- Wettergren A, Wørdemann M, Meisner S, Stadil F, Host JJ. The inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1)7-36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation. *Gut.* 1997;40(5):597-601. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Imeryüz N, Yeğen BC, Bozkurt A, Coşkun T, Villanueva-Peñacarrillo ML, Ulusoy NB. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol.* 1997;273(4 Pt 1):G920-7. [Crossref] [PubMed]
- Shousha S, Nakahara K, Nasu T, Sakamoto T, Murakami N. Effect of glucagon-like peptide-1 and -2 on regulation of food intake, body temperature and locomotor activity in the Japanese quail. *Neurosci Lett.* 2007;415(2):102-7. [Crossref] [PubMed]
- Nerup N, Ambrus R, Lindhe J, Achiam MP, Jeppesen PB, Svendsen LB. The effect of glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-2 on microcirculation: a systematic review. *Microcirculation.* 2017. [Crossref] [PubMed]

15. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G. Effects of intracerebroventricularly injected glucagon-like peptide-1 on cardiovascular parameters; role of central cholinergic system and vasopressin. *Regul Pept.* 2004;118(1-2):33-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
16. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation.* 2004;109(8):962-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Sonne DP, Engström T, Treiman M. Protective effects of GLP-1 analogues exendin-4 and GLP-1(9-39) amide against ischemia-reperfusion injury in rat heart. *Regul Pept.* 2008;146(1-3):243-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
18. Nyström T, Gonon AT, Sjöholm A, Pernow J. Glucagon-like peptide-1 relaxes rat conduit arteries via an endothelium-independent mechanism. *Regul Pept.* 2005;125(1-3):173-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
19. Golpon HA, Puechner A, Welte T, Wichert PV, Feddersen CO. Vasorelaxant effect of glucagon-like peptide-(7-36) amide and amylin on the pulmonary circulation of the rat. *Regul Pept.* 2001;102(2-3):81-6. [[Crossref](#)]
20. Basu A, Charkoudian N, Schrage W, Rizza RA, Basu R, Joyner MJ. Beneficial effects of GLP-1 on endothelial function in humans: dampening by glyburide but not by glimepiride. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(5):E1289-95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Isbil-Buyukcoskun N, Cam-Etoz B, Gulec G, Ozluk K. Effect of peripherally-injected glucagon-like peptide-1 on gastric mucosal blood flow. *Regul Pept.* 2009;157(1-3):72-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Mersereau WA, Hinchey EJ. Effect of gastric acidity on gastric ulceration induced by hemorrhage in the rat, utilizing a gastric chamber technique. *Gastroenterology.* 1973;64(6):1130-5. [[Crossref](#)]
23. Kagström J, Olsson C, Axelsson M, Franklin CE. Peptidergic control of gastrointestinal blood flow in the estuarine crocodile, *Crocodylus porosus*. *Am J Physiol.* 1998;274(6):R1740-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Holzer P, Guth PH. Neuropeptide control of rat gastric mucosal blood flow. Increase by calcitonin gene-related peptide and vasoactive intestinal polypeptide, but not substance P and neurokinin A. *Circ Res.* 1991;68(1):100-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Ancha H, Ojeas H, Tedesco D, Ward A, Harty RF. Somatostatin-induced gastric protection against ethanol: involvement of nitric oxide and effects on gastric mucosal blood flow. *Regul Pept.* 2003;110(2):107-13. [[Crossref](#)]
26. Sibilia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology.* 2003;144(1):353-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Clementi G, Caruso A, Cutuli VM, Mangano NG, Salomone S, Lempereur L, et al. Gastroprotective effect of adrenomedullin administered subcutaneously in the rat. *Peptides.* 2002;23(6):1149-53. [[Crossref](#)]
28. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G. Investigation of the mechanisms involved in the central effects of glucagon-like peptide-1 on ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Regul Pept.* 2005;128(1):57-62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G, Cam-Etoz B, Ozluk K. Peripheral GLP-1 gastroprotection against ethanol: the role of exendin, NO, CGRP, prostaglandins and blood flow. *Regul Pept.* 2009;152(1-3):22-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
30. Isbil-Buyukcoskun N, Güleç G, Ozlük K. Protective effect of centrally-injected glucagon-like peptide-1 on reserpine-induced gastric mucosal lesions in rat: possible mechanisms. *Turk J Gastroenterol.* 2006;17(1):1-6.
31. Isbil-Buyukcoskun N, Güleç G, Cam-Etöz B, Ozlük K. Central effects of glucagon-like peptide-1 on cold-restraint stress-induced gastric mucosal lesions. *Turk J Gastroenterol.* 2007;18(3):150-6.
32. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G. Effects of centrally injected GLP-1 in various experimental models of gastric mucosal damage. *Peptides.* 2004;25(7):1179-83. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Pliska V. Models to explain dose-response relationships that exhibit a downturn phase. *Trends Pharmacol Sci.* 1994;15(6):178-81. [[Crossref](#)]
34. Guidobono F, Coluzzi M, Pagani F, Pecile A, Netti C. Amylin given by central and peripheral routes inhibits acid gastric secretion. *Peptides.* 1994;15(4):699-702. [[Crossref](#)]
35. Clementi G, Amico-Roxas M, Caruso A, Cutuli VM, Maugeri S, Prato A. Protective effects of calcitonin gene-related peptide in different experimental models of gastric ulcers. *Eur J Pharmacol.* 1993;238(1):101-4. [[Crossref](#)]
36. Rovati GE, Nicosia S. Lower efficacy: interaction with an inhibitory receptor or partial agonism? *Trends Pharmacol Sci.* 1994;15(5):140-4. [[Crossref](#)]
37. Eissele R, Bothe-Sandfort E, Göke B, Eng J, Arnold R, Koop H. Rat gastric somatostatin and gastrin release: interaction of exendin-4 and truncated glucagon-like peptide-1 (GLP-1) amide. *Life Sci.* 1994;55(8):629-34. [[Crossref](#)]
38. Guth PH, Paulsen G, Nagata H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat: effect of prostaglandin cytoprotection. *Gastroenterology.* 1984;87(5):1083-90.
39. Trier JS, Szabo S, Allan CH. Ethanol-induced damage to mucosal capillaries of rat stomach. Ultrastructural features and effects of prostaglandin F2 beta and cysteamine. *Gastroenterology.* 1987;92(1):13-22. [[Crossref](#)]
40. Abdel-Salam OM, Czimmer J, Debreceni A, Szolcsányi J, Mózsik G. Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. *J Physiol Paris.* 2001;95(1-6):105-27. [[Crossref](#)]