

Alzheimer Hastalığında Beyin İnsülin Direnci Bağlamında 5HT2B Reseptörü/NPY Yolunun Vücut Ağırlığının Değişimi Üzerindeki Etkisi

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Alzheimer Hastalığının (AH) erken dönemini yansıtan beyin insülin direnci oluşturulmuş (B-IR) sıçan modelinde serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), 5-HT reseptör 2B (5-HT2BR) ve nöropeptit Y (NPY) düzeylerinde meydana gelen değişimin vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Araçlar ve Yöntem: Beyin insülin direnci sıçan modeli, lateral ventriküllere intraserebroventriküler A β 42 oligomerin (A β O) intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyon yoluyla (2,5 nmol/10 μ l) oluşturuldu. Beyin sapı ve hipotalamus dokusunda 5-HT düzeyleri, hipotalamus dokusunda 5HT2BR ve NPY düzeyleri Elisa kit ile ölçüldü. Her bir sıçanın vücut ağırlığının değişimi, başlangıç ağırlıklarının son ağırlıklarından çıkarılmasıyla hesaplandı. İstatistiksel değerlendirme SPSS 23.0 paket programı kullanılarak yapıldı. P<0.05'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: B-IR grubunda bulunan sıçanların beyin sapı dokusunda 5-HT düzeylerinin önemli derecede arttığı (p=0.522) ancak hipotalamus 5-HT düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı görüldü (p=0.009). Ayrıca hipotalamus dokusunun 5HT2B ve NPY düzeylerinin azalmasının yanısıra (p=0.102, p=0.109) B-IR grubunda bulunan sıçanların vücut ağırlığının anlamlı derecede azaldığı görüldü (p=0.000).

Sonuç: Bu sonuçlar, AH hastalığının erken döneminde görülen vücut ağırlığı değişiminin nedeninin hipotalamusta 5-HT salınımının azalmasına bağlı 5HT2BR aracılı NPY sentezinin azalması olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, Serotonin, Serotonin reseptör

Effect of the 5HT2B Receptor/NPY Pathway on Body Weight Change in the Context of Brain Insulin Resistance in Alzheimer's Disease

ABSTRACT

Background: This study aimed to examine the effect of changes in serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), 5-HT receptor 2B (5-HT2BR), and neuropeptide Y (NPY) levels on body weight change in the brain insulin resistance (B-IR) rat model reflecting the early stage of Alzheimer's Disease (AD).

Materials and Method: A brain insulin resistance rat model was created via intracerebroventricular (i.c.v.) A β 1–42 oligomers (A β O) into the lateral ventricles. 5-HT levels in brainstem and hypothalamus tissue, 5HT receptor 2B (5HT2B), and neuropeptide Y (NPY) levels in hypothalamus tissue were measured with an Elisa kit. Weight change was obtained by subtracting the first weight measurements from the last weight measurements of each rat. Statistical evaluation was made using the SPSS 23.0 package program. Values providing $P < 0.05$ were considered statistically significant.

Results: The brainstem 5-HT levels of the rats in the B-IR group increased markedly ($p = 0.522$), but the hypothalamic 5-HT levels decreased significantly ($p = 0.009$). Hypothalamic 5HT2B and NPY levels also decreased significantly ($p = 0.102$, $p = 0.109$). Additionally, the body weight of the rats in the B-IR group decreased significantly ($p = 0.000$).

Conclusion: These results suggested that the body weight change seen in the early stages of AD may be the decrease in 5-HT release in the hypothalamus and the reduction in 5HT2BR-mediated NPY synthesis.

Keywords: Alzheimer's disease, Serotonin, Serotonin receptor

GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH) hücre dışında amiloid plakların, hücre içinde ise hiperfosforile tau-nörofibriler yumakların (NFY) birikmesiyle karakterize edilen ve nihayetinde nöronların kaybı ile sonuçlanan nörodejeneratif bir bozukluktur.^{1,2} Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, beyinde A β plaklarının birikiminin hastalığın bilişsel gerileme ve hafıza kaybı gibi klinik semptomları görülmeye başlamadan neredeyse 20 yıl önce başladığı gösterilmiştir.³ Ayrıca son zamanlarda elde edilen bilgiler, periferik ve merkezi insülin direnci ile vücut ağırlığında meydana gelen değişikliklerin AH'nin erken döneminde meydana gelen metabolik değişimler olduğunu ve AH'nin patolojisinin şiddetlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.^{4,5} Periferik glikoz homeostazı pankreas β hücreleri tarafından üretilen insülin hormonu ile sağlanır. İnsülin, kas ve yağ gibi dokularda glikoz alımını artırır, böylece glikoz homeostazı korunur.⁶ Periferik dokulardaki durumun aksine, beyindeki insülin hücrel glikoz alımını kontrol etmez. Ancak serebral kan akışının düzenlenmesi, inflamatuvar yanıtlar, oksidatif stres, A β temizliği, tau fosforilasyonu, sinaptik plastisite ve hafıza oluşumu dahil olmak üzere bir çok işlevi vardır. Dolayısıyla beyinde meydana gelen insülin direnci tüm bu işlevlerin bozulmasına ve AH patolojisinin gelişmesine katkı sağlar.⁷ Bu nedenle beyin insülin direncinin neden olduğu moleküler değişimlerin incelenmesi, AH patolojisinin anlaşılmasına katkı sağlaması ve yeni tedavi stratejilerin geliştirilebilmesine olanak sağlaması açısından önemlidir

Vücut ağırlığı, kalori alımını ve iştahı kontrol eden çeşitli hormonlar ile sinirsel devrelerin karmaşık bir şekilde birlikte çalışmasıyla düzenlenir. Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), hem merkezi hem de periferik sistemlerde hormon ve nörotransmitter olarak görev yapan kritik bir moleküldür. 5-HT, merkezi ve periferik sistemde esansiyel bir amino asit olan L-

Triptofandan sentezlenir. Periferik 5-HT, esas olarak bağırsağın enterokromafin (EC) hücrelerinde sentezlenir. Merkezi 5-HT ise ağırlıklı olarak beyin sapının rafe çekirdeklerinde sentezlenir. Merkezi ve periferik sistemde üretilen 5-HT, kan- beyin bariyerini geçemez bu nedenle vücutta merkezi ve periferik olarak iki ayrı 5-HT havuzu bulunmaktadır.⁸ Beyin sapının rafe çekirdeklerinde sentezlenen 5-HT, hipotalamusun arkuat çekirdeğinde (ARC) bulunan oreksijenik (beslenmeyi indükleyen) ve anoreksijenik (beslenmeyi baskılayan) nöronlar üzerinde bulunan ilgili reseptörlerine bağlanarak çeşitli nöropeptidlerin sentezi veya sentezinin inhibisyonu yolu ile enerji dengesi ve gıda alımının kontrol edilmesini sağlamaktadır.⁹

5-HT'nin fizyolojik fonksiyonlarından sorumlu en az 14 tip reseptör (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆, ve 5-HT₇) tipi bulunmakla birlikte enerji homeostazisi ve glukoz regülasyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar çoğunlukla 5-HT₂R'ler üzerinde odaklanmıştır. 5-HT₂ reseptörü (5-HT₂R) ailesinin, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} ve 5-HT_{2C} olmak üzere üç alt tipi mevcuttur.¹⁰ Yapılan çalışmalarda, 5-HT'nin hipotalamustaki serotonin 2B reseptörüne (5-HT_{2B}) bağlanarak nöropeptid Y (NPY) düzeylerini artırdığı ve bu durumun aşırı yeme (hiperfaji) davranışına yol açtığı gösterilmiştir. Diğer yandan AH hastalığında serotonerjik sistemlerin bozulduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar Aβ'nin neden olduğu mitokondriyal işlev bozukluğunun serotonin salınımını baskıladığı ve azalmış hücre dışı serotonin düzeylerinin AH patogenezi ile yakından ilişkili olduğunu vurgulamaktadır.¹¹ Sonuç olarak AH'nin klinik özellikleri, nörodejenerasyonla ilişkili bilişsel ve hafıza kaybı olmaya devam ederken, sistemik metabolizma ve vücut ağırlığındaki değişikliklerin AH'de önemli bir rol oynadığını öne süren kanıtlar birikmektedir.¹² Elde edilen bilgiler, AH erken döneminde görülen vücut ağırlığı değişimlerinde 5-HT/5-HT_{2B} yolunun rolü olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda AH'nin erken dönem patolojik değişikliklerini yansıtan

beyin insülin direnci sıçan modelinde 5-HT, 5-HT_{2B} ve NPY düzeylerinde meydana gelen değişimin vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

ARAÇLAR VE YÖNTEM

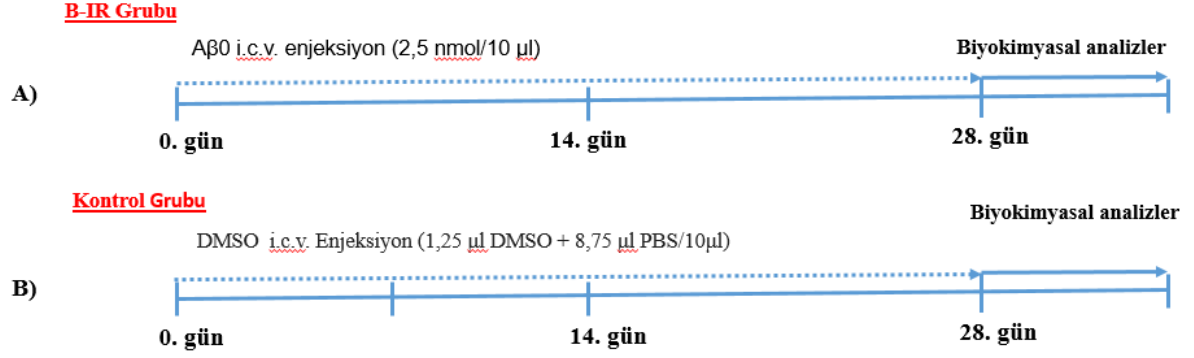
Çalışmamızın gerçekleştirilebilmesi için Yerel Etik Kurulundan onay alındı (tarih 06.05.2024 ve sayı 2024/18) ve deneylerde 3 aylık, 200-300 g ağırlığında erkek albino Wistar sıçanları kullanıldı. Tüm deney protokolleri, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun belirlediği standartlara uygun olarak gerçekleştirildi. Deney hayvanları tüm deneysel aşamalarda 12:12 saat aydınlık-karanlık döngüsüyle standart koşullarda (23 ± 1 °C ve nem %50 $\pm$ 5) paslanmaz çelik kafeslerde barındırıldı ve standart sıçan yemi ve musluk suyu ile ad libitum şeklinde beslendi.

Bugüne kadar AH üzerine yapılan çalışmalar, A β birikiminin hastalığın patogenezinde ana faktör olduğunu göstermiştir. Ancak son zamanlarda oligomerik A β peptid tiplerinin sinaptik disfonksiyon, nörodejenerasyon ve nihayetinde demansı tetiklediği, ayrıca insülin reseptörlerine bağlanarak beyin insülin direncini tetiklediği vurgulanmıştır. Çalışmamızda Alzheimer beyin insülin direnci daha önce önceki çalışmada gösterildiği şekilde amyloid beta1-42 oligomerin (A β 1-42) intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyon yoluyla (2,5 nmol/10 μ l) oluşturuldu.¹³

Çalışmanın Dizaynı ve Cerrahi İşlemler

Amyloid beta1 -42, literatüre uygun olarak hazırlandı. A β 1-42 (Sigma-Aldrich, ABD, ürün no: A9810) peptidleri 2 mmol konsantrasyona kadar dimetil sülfoksit (DMSO)'da çözüldü ve daha sonra steril fosfat buffer salin (PBS)'de 8 kat seyreltildi, oda sıcaklığında 30 dakika vortekslendi, daha sonra 1 saat boyunca 4 °C'de 15000×g'de santrifüj edildi. Üst sıvılar (250 μ l) alikotlara ayrıldı (25 μ l) ve -20 °C'de donduruldu. 4 °C'ye ısıtıldığında, A β -42 oligomerleri

24 saat içinde kullanıldı. DMSO (dimetil sülfoksit) toksik bir madde olduğundan, 1,25 µl DMSO ve 8,75 µl PBS ile hazırlanan 10 µl'lik solüsyon Kontrol gruplarına verildi.¹³



Şekil 1. Çalışmanın Dizaynı. A: B-IR Grubu, B: Kontrol Grubu B-IR: Beyin insülin Direnci; İ.c.v.; İntraserabroventriküler, DMSO, dimetil sülfoksit.

Hayvanlar rastgele iki gruba ayrıldı (her grup için n=6). Tüm sıçanlara serum fizyolojik içinde çözülerek hazırlanan ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) çözeltisi intraperitoneal (i.p) yolla uygulanarak anestezi oluşturuldu. Cerrahi işlemler sırasında vücut sıcaklığının 36-37°C arasında sabit tutulması için sıçanların altına elektrikli ısıtıcı ped yerleştirildi. Sıçanların kafa derisi orta hattın bistüri ile kesilerek açıldı ve referans nokta olan bregma ve lambda dorsoventral eksenini tespit edildi. Kafatasında bregma referans alınarak belirlenen Antero-Posterior, (AP)= -0.8; Medio-Lateral (ML)= +1.4; Dorso-Ventral, (DV)= -3.6 mm koordinatlarında ST enjeksiyon iğnesinin girebileceği iki küçük delik açıldı.

Aβ1-42 oligomer veya DMSO çözeltisi enjeksiyonu Hamilton mikroiğnesi (26G) kullanılarak 1 µl/dk hızında ve 2 dk boyunca belirlenen bölgede bırakılarak uygulandı. B-IR modeli oluşturulan sıçanlara Aβ-42 oligomer solüsyonu (2,5 nmol/10 µl) i.c.v olarak uygulandı (şekil 1A). Kontrol grubunda bulunan hayvanlara aynı hacimde olacak şekilde DMSO çözeltisi (1,25 µl DMSO + 8,75 µl PBS/10µl) i.c.v olarak enjekte edildi (şekil 1B). Daha sonra ekspoz edilen kafatası sütür atılarak kapatıldı ve cerrahi işlem tamamlandı. Cerrahi sahanın

enfeksiyonunu önlemek amacıyla sütür atılan bölgeye 3 gün boyunca antibiyotikli krem uygulandı. Ameliyattan sonra 3 gün boyunca sıçanlara 100000 U/gün penisilin ve aneljezi için oral olarak 200 mg/kg parasetamol uygulandı. Deneklere uygulanan A β 42 oligomerin patolojik hasar oluşturmaları için 28 gün beklendi.¹³ Hayvanların vücut ağırlıkları, cerrahi işlemin başlangıcında ve 28.günde hayvanların sakrifiye edilmesinden önce olmak üzere iki kez kaydedildi. Ayrıca, önceki çalışmamızda olduğu gibi, açlık kan glukoz düzeyleri, cerrahi işlemin başlangıcında ve 28.günde hayvanların sakrifiye edilmesinden önce olmak üzere iki kez kaydedilerek glikoz homeostazısının bozulduğu doğrulandı.¹⁵ Açlık kan şekeri seviyeleri, kuyruk damarından alınan kanla glukometre ile ölçüldü (plusMED Blood GlucoseMeter, Accuro, pM1-300, Bionime Corporation, Taiwan).¹⁵

Dokuların Toplanması ve Biyokimyasal Analizler

Deney periyodunun sona ermesinden sonra sıçanlara ketamin (80 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (5 mg/kg, i.p.) ile anestezi uygulandı. Kan kaybı yoluyla ötenazi gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilebilmesi için beyin dokuları toplandı. Doku örnekleri tartıldı ve PBS içinde buz üzerinde homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler 4°C’de 5000xg’de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı ve biyokimyasal analizler için kullanıldı.

Beyin sapı ve hipotalamus dokularında 5-HT, hipotalamus dokularında 5HT2BR ve NPY düzeyleri Sunred ELISA Kit (Sunred Biological Technologies Rat (5-HT) ELISA Kit, Catalog No: 201-11-1683;Rat (5HT2BR) ELISA Kit, Catalog: SRB-T-84698;Catalog:SRB-T-85360) ile ölçüldü. Total beyin dokusunda Total A β 1-42 Sunred ELISA Kit (Catalog No: 201-11-0094) ile ölçüldü. Bilinen standart miktarlarının absorban değerleri ile standart eğriler oluşturuldu. Sonuçlar 5-HT düzeyleri için ng/mg doku proteini, 5-HT2BR için ng/g doku proteini, NPY düzeyleri için ng/mg doku proteini olarak ifade edildi. Vücut ağırlığının değişimi, her bir sıçanın son ağırlık ölçümlerinden ilk ağırlık ölçümlerinin çıkarılmasıyla elde edildi.

Protein Tayini: Beyin dokularında protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan ticari bir kit ile gerçekleştirildi.¹⁴

İSTATİKSEL ANALİZLERİN YAPILMASI

İstatistiksel değerlendirme SPSS 23.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ($\pm$ SD) ve ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Her değişken için normallik testi uygulandı. Verilerin dağılımının normalliği Kolmogorov–Smirnov testi ile incelendi. Varyans homojenliğinin testi Levene testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan İndipendent T Testi, uymayanlarda ise Mann-Whitney U Testi kullanıldı. $P < 0.05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Dokuların Toplanması ve Biyokimyasal Analizler

Deney periyodunun sona ermesinden sonra sıçanlara ketamin (80 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (5 mg/kg, i.p.) ile anestezi uygulandı. Kan kaybı yoluyla ötenazi gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilebilmesi için beyin dokuları toplandı. Doku örnekleri tartıldı ve PBS içinde buz üzerinde homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler 4°C'de 5000xg'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı ve biyokimyasal analizler için kullanıldı.

Beyin sapı ve hipotalamus dokularında 5-HT, hipotalamus dokularında 5HT2BR ve NPY düzeyleri Sunred ELISA Kit (Sunred Biological Technologies Rat (5-HT) ELISA Kit, Catalog No: 201-11-1683; Rat (5HT2BR) ELISA Kit, Catalog: SRB-T-84698; Catalog: SRB-T-85360) ile ölçüldü. Bilinen standart miktarlarının absorbans değerleri ile standart eğriler oluşturuldu. Sonuçlar 5-HT düzeyleri için ng/mg doku proteini, 5-HT2BR için ng/g doku proteini, NPY düzeyleri için ng/mg doku proteini olarak ifade edildi. Vücut ağırlığının değişimi, her bir sıçanın son ağırlık ölçümlerinden ilk ağırlık ölçümlerinin çıkarılmasıyla elde edildi.

Protein Tayini: Beyin dokularında protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan ticari bir kit ile gerçekleştirildi.¹³

İSTATİKSEL ANALİZLERİN YAPILMASI

İstatistiksel değerlendirme SPSS 23.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ($\pm$ SD) ve ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Her değişken için normallik testi uygulandı. Verilerin dağılımının normalliği Kolmogorov–Smirnov testi ile incelendi. Varyans homojenliğinin testi Levene testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan İndipendent T Testi, uymayanlarda ise Mann-Whitney U Testi kullanıldı. $P<0.05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

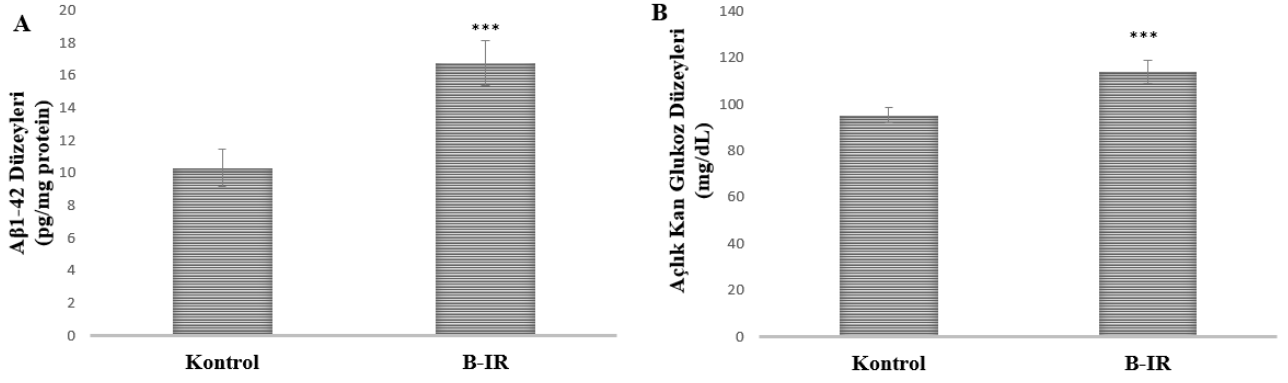
BULGULAR

Total Beyin A β 1-42 Düzeyleri

Total beyin A β 1-42 düzeyleri şekil 2A'de verilmiştir. Total beyin A β 1-42 düzeylerinin, B-IR grubunda (16.748 ± 1.394 pg/mg protein) kontrol grubuna göre (10.312 ± 1.170 pg/mg protein) arttığı görülmüştür ($t(10) = 9.708$, $p=0.000$).

Açlık Kan Glikoz Düzeyleri

Açlık kan glikoz düzeyleri şekil 2B'de verilmiştir. Açlık kan glikoz düzeylerinin, B-IR grubunda (114 ± 4.858 mg/dL) kontrol grubuna göre (95.33 ± 3.327 mg/dL) arttığı görülmüştür ($t(10) = 8.844$, $p=0.000$).



Şekil 2.A Açlık kan glukoz düzeyleri, İndependent T testi, $p=0.000$; **B** Total beyin Aβ1-42 düzeyleri, İndependent T testi, $p=0.000$. B-IR, Beyin insülin Direnci; Aβ1-42, amyloid 1-42.

Beyin Sapı 5- HT Düzeyleri

Beyin sapı 5-HT düzeyleri şekil 3A’de verilmiştir. Beyin sapı 5-HT düzeylerinin, B-IR grubunda (30.241 ± 5.651 ng/mg protein) kontrol grubuna göre (22.487 ± 0.497 ng/mg protein) arttığı görülmüştür. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır (U:14.00 $p=0.522$).

Hipotalamus 5- HT Düzeyleri

Hipotalamus 5-HT düzeyleri şekil 3A’da verilmiştir. Hipotalamus 5-HT düzeylerinin, B-IR grubunda (14.411 ± 1.291 ng/mg protein) kontrol grubuna göre (31.763 ± 8.991 ng/mg protein) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (U:2.00 $p=0.009$).

Hipotalamus 5HT2BR Düzeyleri

Hipotalamus 5HT2BR düzeyleri şekil 3B’de verilmiştir. B-IR grubunun 5HT2BR düzeyleri (109.6125 ± 39.633 ng/g protein) Kontrol grubunun 5HT2BR düzeylerinden (146.326 ± 30.485 ng/g protein) düşük bulunmuştur. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır ($t(10) = 1.799$, $p=0.102$).

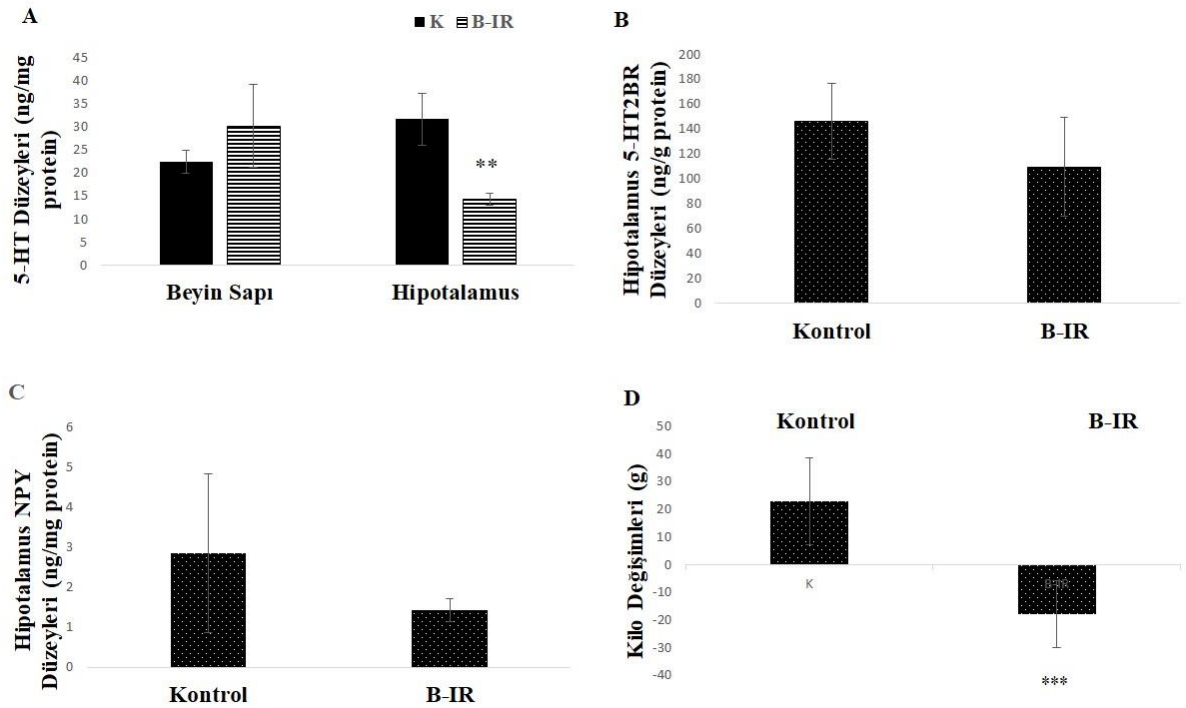
Hipotalamus NPY Düzeyleri

Hipotalamus NPY düzeyleri şekil 3C’da verilmiştir. Hipotalamus NPY düzeylerinin, B-IR grubunda (1.428184 ± 0.276 ng/mg protein) kontrol grubuna göre (2.851 ± 1.991 ng/mg protein)

azaldığı bulunmuştur. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır (U:8.00 p=0.109).

Vücut Ağırlığının Değişimi

Grupların vücut ağırlığının değişimi (kilo değişimi) şekil 3D’de verilmiştir. B-IR grubunda (17 ± 12.012 g) kontrol grubuna göre (23.83 ± 14.670 g) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde vücut ağırlığı kaybı olduğu görülmüştür (t (10)= 5.053, p=0.000).



Şekil 3.A 5-HT düzeyleri, Mann–Whitney U testi, p=0.522, p=0.009; **B** Hipotalamus 5HT2BR düzeyleri, Independent T testi, p=0.102; **C** Hipotalamus NPY düzeyleri, Mann–Whitney U testi, p=0.109; **D** Kilo Değişimleri, Independent T testi, p=0.000. B-IR, Beyin insülin Direnci; İ.c.v.; intraseraabroventriküler, AβO, Aβ42 oligomer; 5-HT, 5-hidroksitriptamin; 5HT2BR, 5-HT reseptör 2B, NPY, Nöropeptit Y.

TARTIŞMA

Deneyisel Alzheimer modeli oluşturduğunuz nasıl ispat ettiniz? Histolojik çalışma?

Çalışmamızda i.c.v. A β 42 oligomer enjeksiyonu ile oluşturulmuş deneysel Alzheimer modelinde beyin insülin direnci modelinde, 5-HT ve 5-HT₂BR düzeylerinde meydana gelecek değişimin NPY düzeyleri ve vücut ağırlığı değişimi üzerindeki etkisi incelendi. Çalışmamızda kullanılan A β 42 oligomer dozları önceki çalışma referans alınarak belirlendi.¹³ I.c.v. A β 42 oligomer enjeksiyonu, beyinde insülin direncini ve AH ile ilgili gözlenen diğer patolojik değişiklikleri indükler.¹³ Bu nedenle, i.c.v. A β 42 oligomer enjeksiyonu AH'de yer alan metabolik değişiklikleri araştırmak ve yeni terapötik yaklaşımlar önermek için yararlı bir araçtır.¹³ Çalışmamızda önceki çalışmalarda gösterildiği gibi 13-15 B-IR grubunda açlık kan glukoz düzeylerinin arttığı ve total beyin dokusunda A β 42 oligomer arttığı gösterilmiştir.

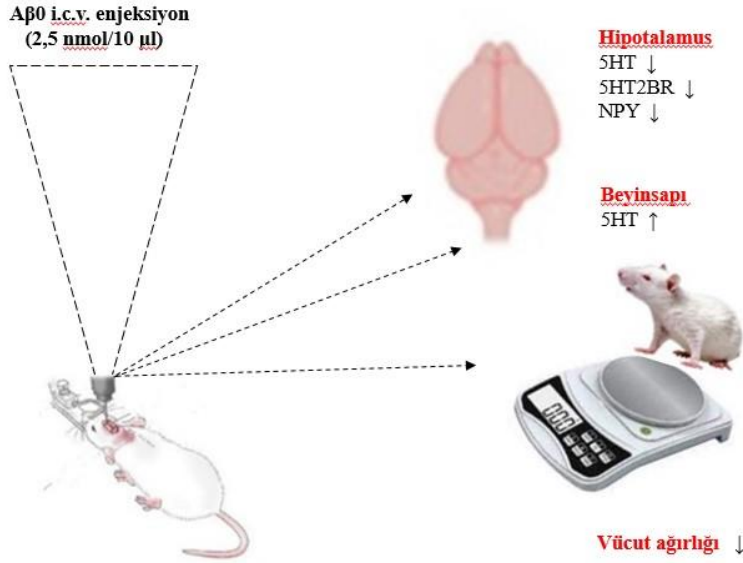
Klinik çalışmalar ile AH'nin fare modellerinin kullanıldığı çalışmalar, sıklıkla AH semptomlarının başlangıcından önce glukoz-insülin homeostazisinin bozulduğunu ve vücut ağırlığı kaybı olduğunu göstermiştir.^{13,16} Bu bilgilerle uyumlu olarak bizim çalışmamızda da B-IR grubunun vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu görüldü. Elde edilen bu bilgi, AH erken döneminde gıda alımının ve/veya iştahın düzenlenmesinde rol oynayan metabolik yolların etkilenmiş olabileceğini düşündürmüştür.

5-HT hormonunun gıda alımının (kalori tüketimi) veya iştahın kontrolünde görev aldığı bilinmektedir.¹⁷ Merkezi sinir sisteminde (CNS), 5-HT ağırlıklı olarak beyin sapının rafe çekirdekleri tarafından üretilir ve daha sonra beynin serebral korteks, talamus, hipotalamus gibi serotonerjik lifler tarafından innerve edilen beyin bölgelerine salınır.⁹ Çalışmamızda B-IR grubunda beyin sapı dokusunda 5-HT düzeyleri önemli derecede arttığı ancak hipotalamus dokusunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü. AH hastalarında rafe çekirdeği dejenerasyonu ve 5-HT üreten nöronların kaybı olmaktadır

5-HT hormonunun gıda alımının (kalori tüketimi) veya iştahın kontrolünde görev aldığı bilinmektedir.¹⁷ Merkezi sinir sisteminde (CNS), 5-HT ağırlıklı olarak beyin sapının rafe çekirdekleri tarafından üretilir ve daha sonra beyin serebral korteks, talamus, hipotalamus gibi serotonerjik lifler tarafından innerve edilen beyin bölgelerine salınır.⁹ Çalışmamızda B-IR grubunda beyin sapı dokusunda 5-HT düzeyleri önemli derecede arttığı ancak hipotalamus dokusunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü. AH hastalarında AH patogenezinin erken evresinde rafe çekirdeği dejenerasyonu ve 5-HT üreten nöronların kaybı olmaktadır.^{17,18} Ancak kemirgenlerde depresyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda hipokampus da dahil olmak üzere birçok beyin bölgesinde 5-HT salınımının bozulduğu rapor edilmiştir.^{19,20} Bununla birlikte özellikle psikolojik rahatsızlık bildirilen Alzheimer hastalarının, beyin bölgelerinde 5-HT salınımının bozulduğu gösterilmiştir.²² Bu anlamda elde ettiğimiz veriler AH patofizyolojisinde serotonerjik sistemde değişim olduğunu gösteren çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.¹¹ Ayrıca bildiğimiz kadarıyla çalışmamız AH erken döneminde beyin sapında 5-HT üretiminin artışına rağmen hipotalamusa salınımında azalma olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Hipotalamus enerji homeostazisinin sağlanmasında önemli rollere sahip bir beyin bölgesidir. Beyin sapının rafe çekirdeklerinde sentezlenen 5-HT, hipotalamusun arkuat çekirdeğinde (ARC) bulunan oreksijenik (beslenmeyi indükleyen) ve anoreksijenik (beslenmeyi baskılayan) nöronlar üzerinde bulunan ilgili reseptörlerine bağlanarak çeşitli nöropeptidlerin sentezi veya sentezinin inhibisyonu yolu ile enerji dengesi ve gıda alımının kontrol edilmesini sağlamaktadır.²¹ Hipotalamusun ARC'sinde anoreksijenik pro-opiomelanokortin (POMC) nöronları anoreksik peptit olan α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) sentezler. α -MSH, melanokortin-4 reseptörünün (MC4R) bir agonistidir ve aktive edildiğinde gıda alımını azaltır. Aynı bölgede bulunan oreksijenik nöronlardan sentezlenen nöropeptid Y (NPY) ve aguti ile

ilişkili peptit (AGRP) ise gıda alımını artırır.²³ 5-HT'nin fizyolojik fonksiyonlarından sorumlu en az 14 tip reseptör (5-HT1, 5-HT2, 5-HT3 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6, ve 5-HT7) tipi bulunmakla birlikte enerji homeostazisi ve glukoz regülasyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar çoğunlukla 5-HT2R'ler üzerinde odaklanmıştır. 5-HT2 reseptörü (5-HT2R) ailesinin, 5-HT2A, 5-HT2B ve 5-HT2C olmak üzere üç alt tipi mevcuttur.¹⁰ Yapılan çalışmalar 5-HT'nin bağlandığı reseptöre bağlı olarak gıda alımını olumlu veya olumsuz olarak düzenlediği görüşünü desteklemektedir.^{8,24} Sugimoto ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada klomipramin (5-HT geri alımını inhibe eden bir trisiklik antidepresan) uygulanan sıçanlarda, 5-HT2CR inhibisyonunun hiperglisemiye yol açtığı gösterilmiştir.²⁵ Bununla birlikte 5HT2BR, 5-HT2CR ile %50 homoloji gösteren ve enerji homeostazisi üzerindeki etkisi daha az bilinen bir reseptör tipidir.⁸ 5-HT2CR'nin aksine merkezi 5-HT2B reseptörlerinin hem MC4R yolunu baskıladığı, NPY düzeylerini artırdığı ve hiperfajiye neden olduğu bulunmuştur.^{26,27} Nitekim kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre (BM-MSC) kültürü modelinde Aβ oligomer (1–40 veya 1–42) uygulamasının bu hücrelerde 5HT2BR aracılı NPY düzeylerini artırdığı gösterilmiştir.²⁶ Bizim çalışmamızda bu bilgilerle uyumlu olarak B-IR grubunda bulunan sıçanların hipotalamus dokusunda 5-HT2BR ve NPY düzeylerinde azalma olduğu görülmüştür. Elde edilen bilgiler AH hastalığının erken döneminde 5-HT2BR/NPY yolunun baskılandığına işaret etmektedir. Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen veriler, AH hastalığının erken döneminde görülen kilo kaybının nedeninin beyin sapından hipotalamusa 5-HT salınımının azalmasına bağlı olarak 5HT2BR aracılı NPY sentezinin azalması olabileceğini düşündürmüştür (şekil 3). Örneklem büyüklüğünün sınırlı olması, çalışmamızın kısıtlı yönünü oluşturmaktadır.



Şekil 3. Deneysel Beyin İnsülin Direncinde 5HT2BR/NPY Yolunun Vücut Ağırlığının Değişimi Üzerindeki Etkisi. B-IR, Beyin insülin Direnci; İ.c.v.;intraserabroventriküler, AβO, Aβ42 oligomer; 5-HT, 5-hidroksitriptamin; 5HT2BR, 5-HT reseptör 2B, NPY, Nöropeptit Y.

KAYNAKLAR

1. Rice DM, Buchsbaum MS, Starr A, Auslander L, Hagman J, Evans W J. Abnormal EEG slow activity in left temporal areas in senile dementia of the Alzheimer type. J Gerontol. 1990; 45(4):145-151.
2. Park S, Kim DS, Kang S, Kim HJ. The combination of luteolin and l-theanine improved Alzheimer disease-like symptoms by potentiating hippocampal insulin signaling and decreasing neuroinflammation and norepinephrine degradation in amyloid-beta-infused rats. Nutr Res.2018; 60:116-131.
3. Majlath Z, Toldi J, Vecsei L. (1)J Neural Transm (Vienna).2014;121(8):881-889.
4. Almaça J, Molina J, Menegaz D, et al. Human Beta Cells Produce and Release Serotonin to Inhibit Glucagon Secretion from Alpha Cells. Cell Rep.2016;17(12):3281-3291.
5. Nguyen TKO, Nguyen TTD, Giau VV. (2). Int J Mol Sci.2020;21(9).
6. Banks WA, Jaspan JB, Kastin AJ. Effect of diabetes mellitus on the permeability of the blood-brain barrier to insulin. Peptides. 1997;18(10):1577-84.

7. Talbot K. Brain insulin resistance in Alzheimer's disease and its potential treatment with GLP-1 analogs. *Neurodegener Dis Manag.* 2014;4(1):31-40
8. Nonogaki, K, The Regulatory Role of the Central and Peripheral Serotonin Network on Feeding Signals in Metabolic Diseases. *Int J Mol Sci.*2022;23(3).
9. Zhang F, Chen Y, Heiman M, Dimarchi R. Leptin: structure, function and biology. *Vitam Horm.*2005;71:345-372.
10. Wang Q, Zhou Y, Huang J, Huang N. Structure, Function, and Pharmaceutical Ligands of 5-Hydroxytryptamine 2B Receptor. *Pharmaceuticals (Basel).*2021;14(2).
11. Tian J, Stucky CS, Wang T, Muma NA, Michael JM, Du H. Mitochondrial Dysfunction Links to Impaired Hippocampal Serotonin Release in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.*2023;93(2):605-619.
12. Bassendine, M.F., Taylor-Robinson SD, Fertleman M, Khan M, Neely D. Is Alzheimer's Disease a Liver Disease of the Brain? *J Alzheimers Dis*, 2020; 75(1): 1-14.
13. Acun, AD, Kantar D, Er H, Erkan O, Derin N, Yargıoğlu, P. Investigation of Cyclo-Z Therapeutic Effect on Insulin Pathway in Alzheimer's Rat Model: Biochemical and Electrophysiological Parameters. *Molecular neurobiology.*2023;60(7), 4030–4048.
- 14- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*1976;72:248-254.
- 15- Afşar E, Doğan K, Kantar D , Kuzu AD. Arı Ekmeğinin Alzheimer Sıçan Modelinde Karaciğer 5ht2b Aracılı Glukoz Düzenlemesi Üzerine Etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi.*2024; 25 (4):466-475.
16. Kshirsagar V, Thingore C, Juvekar A. Insulin resistance: a connecting link between Alzheimer's disease and metabolic disorder. *Metab Brain Dis.*2021;36(1):67-83.
17. Himmerich H, Treasure J. Psychopharmacological advances in eating disorders. *Expert Rev Clin Pharmacol.*2018;11(1):95-108.
18. Yamamoto T, Hirano A. Nucleus raphe dorsalis in Alzheimer's disease: neurofibrillary tangles and loss of large neurons. *Ann Neurol.*1985;17(6):573-577.
19. Curcio CA, Kemper T. Nucleus raphe dorsalis in dementia of the Alzheimer type: neurofibrillary changes and neuronal packing density. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1984;43(4):359-68.
20. Edwards E, Harkins K, Wright G, Henn FA. 5-HT1b receptors in an animal model of depression. *Neuropharmacology.*1991;30(1):101-105.

21. Jaffe EH, Frias VD, Ibarra C, Changes in basal and stimulated release of endogenous serotonin from different nuclei of rats subjected to two models of depression. *Neurosci Lett.* 1993;162(1-2):157-160.
22. Meltzer CC, Smith G, DeKosky ST, et al. Serotonin in aging, late-life depression, and Alzheimer's disease: the emerging role of functional imaging. *Neuropsychopharmacology.* 1998;18(6):407-430.
23. Heisler LK, Cowley MA, Tecott L H, et al. Activation of central melanocortin pathways by fenfluramine. *Science.*2002;297(5581):609-611.
24. Oury F, Karsenty G. Towards a serotonin-dependent leptin roadmap in the brain. *Trends Endocrinol Metab.*2011;22(9):382-387.
25. Sugimoto Y, Inoue K, Yamada J. The tricyclic antidepressant clomipramine increases plasma glucose levels of mice. *J Pharmacol Sci.*2003;93(1):74-79.
26. Jin HK, Bae JS, Furuya S, Carter JE. (3). *Cell Proliferation.*2009;42(5):571-586.
27. Grignaschi G, Fanelli E, Scagnol I.Samanin R. Studies on the role of serotonin receptor subtypes in the effect of sibutramine in various feeding paradigms in rats. *British Journal of Pharmacology.*1999;127(5):1190-1194.