



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.
2013; 27 (3): 117 - 120
http://www.fusabil.org

Sıçanlarda Gıda Alımının Düzenlenmesinde Rol Alan Nörotransmitterler Üzerine Melatoninin Etkisi

Sinan CANPOLAT¹
Süleyman SANDAL²
Selim KUTLU³
Mehmet AYDIN⁴
Bayram YILMAZ⁵
Haluk KELEŞTİMUR¹

¹Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Elazığ, TÜRKİYE

²İnönü Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Malatya, TÜRKİYE

³Necmettin Erbakan
Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Konya, TÜRKİYE

⁴Zirve Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Gaziantep, TÜRKİYE

⁵Yeditepe Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
İstanbul, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 31.10.2013
Kabul Tarihi : 02.12.2013

Yazışma Adresi Correspondence

Sinan CANPOLAT
Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ-TÜRKİYE

sinancanpolat@hotmail.com

Amaç: Melatoninin gıda alımı üzerine etkisi ile ilgili, farklı türlerde çelişkili sonuçlar içeren önemli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmadaki amacımız melatoninin gıda alımının düzenlenmesinde rolü olan Lateral Hipotalamik Nükleus (LHA), Ventromedial Hipotalamik Nükleus (VMN) ve Nükleus Akkumbens (NAC) bölgelerindeki nörotransmitterler ile metabolitleri üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 16 adet wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. Yirmidört saat aç bırakılan sıçanlar iki gruba ayrıldı ve bir gruba intraperitoneal melatonin (2mg/kg) verildi. Kontrol grubuna ise çözücü enjekte edildi. Enjeksiyonlardan yarım saat sonra hayvanlar dekapite edilerek beyin dokuları alındı. Mikro panç tekniği ile VMN, LHA ve NAC çıkarılarak homojenize edildi ve Elektrokimyasal Detektörlü, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC-ECD) yöntemiyle dopamin, noradrenalin ve bunların metabolitlerinin tayini yapıldı.

Bulgular: Melatonin, LHA'da noradrenalin ve dihidroksi fenilglükol (DHPG) değerlerinde artışa neden olurken, VMN'da sadece noradrenalin artırmıştır. NAC'de ise noradrenalin değerini anlamlı bir şekilde azaltırken DHPG değerini artırmıştır. Bu nükleusta dopamin ve 3,4-dihidroksi fenilasetik asit (DOPAC) değerlerinde ise herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır.

Sonuç: Melatoninin LHA'daki noradrenalin ve DHPG değerlerinde artışa neden olması gıda alımını azaltıcı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde NAC'deki noradrenalin değerindeki azalma da yine melatoninin gıda alımını azaltıcı bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, nörotransmitter, gıda alımı, beyin.

Effect of Melatonin on Role of Food Intake Regulator Neurotransmitters in Rats

Objective: Effects of melatonin on food intake in various species have been important studies with contradictory implications. In this study, we have aimed to investigate the modulatory effects of melatonin on noradrenergic and dopaminergic neurotransmitters in brain areas, LHA, VMN and NAC, which are involved in the regulation of food intake.

Materials and Methods: In this study, 16 wistar albino rats were used. Adult male Wistar rats were divided into two groups and fasted for 24 hours. The first groups of animals were intraperitoneally injected with melatonin (2 mg/kg). Controls received ethanol + saline alone. All animals were decapitated 30 mins after injections and brains rapidly removed. LHA, NAC and VMN were isolated from frozen brain slices by micropunch technique. Catecholamine content of these brain samples was determined by High Performance Liquid Chromatography-Electrochemical Detector (HPLC-ECD).

Results: Administration of melatonin significantly elevated concentrations of noradrenaline and its metabolite, DHPG in LHA and VMN (except DHPG). In the NAC, noradrenaline values were reduced, but DHPG was increased. No significant changes were seen in dopamin and DOPAC levels in NAC.

Conclusion: Melatonin caused an increase noradrenaline and DHPG value in the LHA. This effect of melatonin might be decreased food intake. At the same time melatonin has effects of decrease of noradrenaline value in NAC. These effects show that melatonin could be decreased food intake.

Key Words: Melatonin, neurotransmitters, food intake, brain.

Giriş

Dopamin (DA) ve noradrenalin (NA) gıda alımının düzenlenmesinde iki önemli nörotransmitterdir. Lateral Hipotalamik Nükleus'da (LHA), DA ve NA salınımindaki artış gıda alımında inhibisyona neden olmaktadır (1). LHA açlık merkezi olarak adlandırılır ve gıda alımı üzerinde uyarıcı bir etki oluşturur (2). VMN ise tokluk merkezi olup gıda alımı üzerine baskılayıcı bir etkiye sahiptir (3).

Nükleus akkumbens (NAC), sıçanlarda su alımı ve beslenme davranışını düzenleyen nöral devrelerin bir parçası gibi görev yapar. Hiperfajik ve hipermetabolik sıçanların hipotalamusunda ve NAC'de NA seviyesinin arttığı bildirilmiştir (4). NAC'in bilateral lezyonları gıda alımını etkilemeksizin, anlamlı bir şekilde su alımında inhibisyona sebep olduğu rapor edilmiştir (5).

Melatoninin (MT) gıda alımı üzerine etkisi ile ilgili, farklı türlerde çelişkili sonuçlar içeren çalışmalar mevcuttur. Sıçanlarda melatoninin gıda alımını etkilemediğini bildiren çalışmaların yanı sıra (6), doz bağımlı olarak MT uygulamasının orta ve düşük dozlarda gıda alımını artırdığı, yüksek dozlarda ise azalttığını rapor eden çalışmalar da vardır (7). Melatoninin gıda alımı üzerine doğrudan etkili olmadığı fakat dolaylı olarak hipotalamo-hipofizeal-adrenal eksen aktivasyonu aracılığı ile 5-HT_{2A}'nın baskılanması sebebiyle hiperfajik bir etkiye sahip olabileceği rapor edilmiştir (8). Ayrıca pineal bezin VMN üzerine fizyolojik olarak uyarıcı bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir (9).

Bu çalışmadaki amacımız, sıçanlarda melatoninin gıda alımının düzenlenmesinde rolü olan bu bölgelerdeki nörotransmitterler ile metabolitleri üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden sağlanan, 200-300 gr ağırlığında 16 adet Wistar cinsi intak erkek sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı (21±1°C) sağlanan ortamda barındırıldı.

Hayvanlar kontrol (n=8) ve deney (n=8) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her iki grup da 24 saat aç bırakıldıktan sonra kontrol grubuna çözücü sıvı enjeksiyonu, deney grubuna ise 2 mg/kg dozunda MT (Sigma) uygulandı. Enjeksiyonlar periton içine tek doz şeklinde ve sabah 9:00- 10:00 saatleri arasında yapıldı.

Enjeksiyondan yarım saat sonra hayvanlar dekapite edildi ve beyinler hızlı bir şekilde çıkarılarak kuru buz üzerinde donduruldu. Beyinlerden, sıçan beyin atlası (10) kullanılarak soğutmalı mikrotom yardımıyla 500µm'lik kesitler alındı. Sırasıyla NAC, VMN ve LHA mikroskop altında mikropanç tekniği kullanılarak çıkarıldı.

NAC, VMN ve LHA dokularına 50 µL dihidroksi benzilamin (DHBA) (2 ng/20 µL), ile 100 µl 0.1M HCl ilave edilerek homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra numuneler santrifüj cihazına yerleştirildi. +4°C sıcaklıkta 3000 devir/dk hızında 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerin üst bölgesindeki berrak sıvı içeriği ile çökelti kısmı ayrılarak donduruldu.

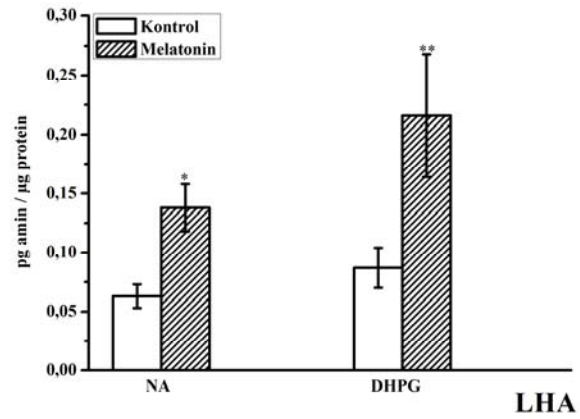
Hipotalamus örneklerindeki NA, DA ve bunların metabolit düzeyleri, elektrokimyasal deteksiyonlu-yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, HPLC-ECD) kullanılarak tayin edildi. Santrifüjden sonra çökelti kalan numunelerde, spektrofotometrede (Jasco V-530) 595 λ dalga boyunda total protein tayinleri yapıldı. HPLC'den elde edilen pg cinsinden monoamin miktarları, spektrofotometreden elde edilen µg cinsinden protein değerlerine bölündü. Sonuçta monoamin konsantrasyonları pg amin/µg protein olarak değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirme

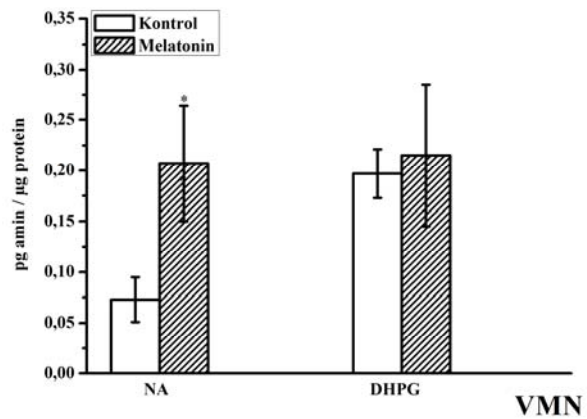
Bütün veriler ortalama±Standart Hata olarak sunuldu. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım varsayımının sağlanmadığı için Mann-Whitney U testi ile karşılaştırmalar yapıldı. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 21.0 programı kullanıldı.

Bulgular

Melatoninin LHA ve VMN'daki noradrenalin üzerine etkisi: Aç bırakılan sıçanlara MT uygulaması sonucu, sırasıyla kontrol ve MT grubu LHA'daki NA ve NA metaboliti dihidroksi fenilglükol (DHPG) değerleri karşılaştırıldığında, MT, NA ve DHPG değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep oldu (Şekil 1). VMN'da ise MT, NA değerinde bir artışa neden olurken, DHPG'da önemli bir değişiklik oluşturmadı (Şekil 2).

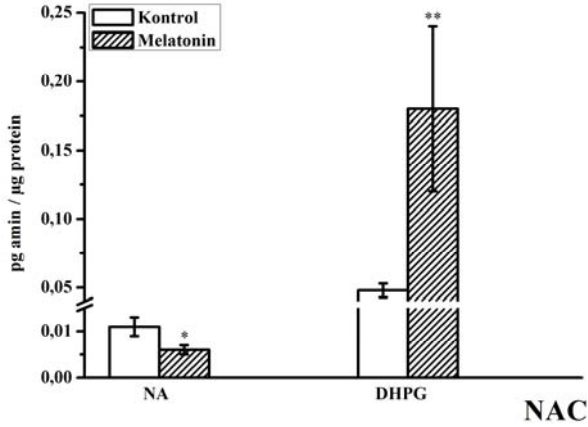


Şekil 1. LHA'da NA ve DHPG değerleri. *P<0,01 ve **P<0,02 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

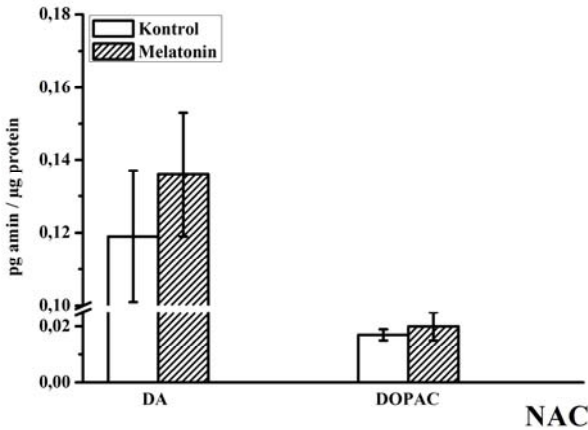


Şekil 2. VMN'da NA ve DHPG değerleri. *P<0,05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Melatoninin NAC'deki noradrenalin ve dopamin üzerine etkisi: NAC'de ise MT, NA değerini anlamlı bir şekilde azaltırken DHPG değerini artırdı (Şekil 3). Bu nükleusta DA ve DA metaboliti 3,4-dihidroksi fenilasetikasit (DOPAC) değerlerinde ise her hangi bir değişiklik oluşturmadı (Şekil 4).



Şekil 3. NAC'de NA ve DHPG değerleri. *P<0,05 ve **P<0,002 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



Şekil 4. NAC'de DA ve DOPAC değerleri.

Tartışma

Melatonin biyolojik ritmin düzenlenmesinde en önemli hormondur. Bu ritim cinsel davranışların şekillenmesinden vücut ısısının düzenlenmesine immünolojik gelişmelerden beslenme davranışına kadar birçok fizyolojik mekanizmayı etkilemektedir. Melatonin hormonunun başta merkezi sinir sistemi ve hipotalamus olmak üzere birçok farklı alanda reseptörlerinin lokalize olduğu gösterilmiştir (11). Beslenme davranışını üzerine yapılan bazı çalışmalarda gıda alımının kontrolünde görev alan hormonların melatonin tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (12, 13). Bu veriler ışığında çalışmamızda sıçanlarda açlık sırasında LHA, VMN, ve NAC'deki monoaminler üzerine melatoninin bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı. LHA'daki dopamin ve noradrenalin salınımındaki artış gıda alımının baskılanmasına neden olmaktadır (1). VMN'de oluşturulan elektrolitik lezyonların NA salınımında azalmaya, bununla birlikte gıda alımında anlamlı bir artışa sebep olduğu bildirilmiştir (14). Çalışmamızda melatonin, LHA'da NA ve DHPG değerlerinde artışa neden olurken, VMN'da sadece NA artmıştır. Böylece melatoninin her iki nükleusta NA değerlerinde artışa neden olması gıda alımını azaltıcı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Hiperfajik ve hipermetabolik sıçanların hipotalamusunda ve NAC'de noradrenalin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (4). Bu çalışmada melatonin NAC'de NA seviyesinde bir azalmaya neden olmuştur. Bu da LHA'daki bulguları destekler bir biçimde melatoninin gıda alımında bir azalmaya neden olabileceğini göstermektedir. Ayrıca melatonin bu nükleusta DA seviyesinde her hangi bir değişikliğe neden olmamıştır.

Sonuç olarak, melatonin; sıçanlarda gıda alımını baskılayıcı etkisini hipotalamustaki beslenme davranışının düzenlendiği nükleuslardaki monoaminler üzerinde oluşturduğu değişiklikler ile gerçekleştiriyor olabilir. Ancak biyolojik ritim ile metabolik denge arasındaki ilişkiyi açıklayabilmek için beslenme davranışında rol alan birçok hormon ve merkezi sinir sistemi alanlarının melatonin ile ilişkisini multidisipliner çalışmalar ile sorgulamak gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Fetissov SO, Meguid MM, Chen C, Miyata G. Synchronized release of dopamine and serotonin in the medial and lateral hypothalamus of rats. *Neuroscience* 2000; 101: 657-663.
2. Meister B. Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. *Vitam Horm.* 2000; 59: 265-304.
3. Morgan P J, Ross A W, Mercer J G and Barrett P. Photoperiodic programming of body weight through the neuroendocrine hypothalamus. *J Endocrinol.* 2003; Apr; 177:27-34.
4. Chance WT, Nelson JL, Kim M, et al. Burn-induced alterations in feeding, energy expenditure, and brain amine neurotransmitters in rats. *J Trauma* 1987; 27: 503-509.
5. Pal P, Raj SS, Mohan M, Pal GK. Modulation of feeding and drinking behaviour by catecholamines injected into nucleus accumbens in rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2000; 44: 24-32.
6. Wolden-Hanson T, Mitton DR, McCants RL et al. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology* 2000; 141: 487-497.
7. Jahnke G, Marr M, Myers C, et al. Maternal and developmental toxicity evaluation of melatonin administered orally to pregnant Sprague Dawley rats. *Toxicol Sci* 1999; 50: 271-279.
8. Raghavendra V, Kulkarni SK. Melatonin reversal of DOI-induced hypophagia in rats; possible mechanism by

- suppressing 5-HT(2A) receptor-mediated activation of HPA axis. *Brain Res* 2000; 860: 112-118.
9. Peschke D, Teichman J, Peschke E. Pineal influence on annular nuclear volume in ventromedial hypothalamic nucleus neurons of the male wistar rat. *Chronobiol Int* 2000; 17: 15-28.
 10. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain (Stereotaxic Coordinates)* London: Academic Press Inc Ltd. 1986.
 11. Ambriz-Tututi M, Rocha-González HI, Cruz SL, Granados-Soto V. Melatonin: A hormone that modulates pain. *Life Sci.* 2009; 10;84:489-498.
 12. Canpolat S, Sandal S, Yilmaz B et al. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on serum leptin levels in male rat. *Eur J Pharmacol.* 2001; 428: 145–148.
 13. Aydın M, Canpolat S, Kulođlu T, et al. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on ghrelin and peptide YY in gastrointestinal system and neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus: Immunohistochemical studies in male rats. *Regul Pept* 2008;146:197-203
 14. Ohtani N, Sugano T, Ohta M. Alterations in monoamines and GABA in the ventromedial and paraventricular nuclei of the hypothalamus following cold exposure: A reduction in noradrenaline induces hyperphagia. *Brain Res* 1999; 842: 6-14.