



**OBEZİTE OLUŞTURULAN SIÇANLARDA  
İNTRASEREBROVENTRİKÜLER MOTS-c İNFÜZYONUNUN  
İŞTAH MEKANİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Merve SOYTÜRK**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Suat TEKİN**

**Yüksek Lisans Tezi – 2020**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OBEZİTE OLUŞTURULAN SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER  
MOTS-c İNFÜZYONUNUN İŞTAH MEKANİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Merve SOYTÜRK**

**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**


**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Suat TEKİN**

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından  
116S744 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA**

**2020**

 İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ	<b>KABUL ONAY FORMU</b>	Doküman No	
		Yayın Tarihi	
		Revizyon No	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**OBEZİTE OLUŞTURULAN SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER  
MOTS-C İNFÜZYONUNUN İŞTAH MEKANİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. SUAT TEKİN**

**HAZIRLAYAN  
MERVE SOYTÜRK**

Jürimiz tarafından 30/01/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda bu tez **oybirliği /oyçokluğu** ile başarılı bulunarak Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul etmiştir.

**Jüri Üyelerinin Unvanı Adı Soyadı**

1. Prof. Dr. Mete ÖZCAN
2. Prof. Dr. Süleyman SANDAL
3. Doç. Dr. Suat TEKİN

**İmza**

.....  
.....  
.....

**O N A Y**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../20... tarih ve 20.../..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

**Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitüsü Müdürü**

# İÇİNDEKİLER

Özet.....	v
Abstract.....	vi
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	vii
Şekiller Dizini.....	viii
Tablolar Dizini.....	x
1. Giriş.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Mitokondriyal DNA Türevli Peptid (MOTS-c).....	3
2.1.1. Keşfi.....	3
2.1.2. Biyokimyasal Yapısı.....	3
2.1.3. Reseptörü.....	3
2.1.4. Dokulardaki Lokalizasyonu.....	4
2.1.5. Etki Mekanizması.....	4
2.2. MOTS-c'nin Enerji Metabolizması Üzerindeki Etkileri.....	4
2.3. MOTS-c'nin Patofizyolojiler Üzerindeki Etkileri.....	5
2.3.1. Obezite ve İnsülin Direnci Üzerindeki Etkileri.....	5
2.3.2. Vasküler Hastalıklar Üzerindeki Etkileri.....	6
2.3.3. Osteoporoz ve Osteolizis Üzerindeki Etkileri.....	7
2.3.4. İnflamasyon Üzerindeki Etkileri.....	8
2.4. Hipotalamus.....	8
2.4.1. Hipotalamusun Fonksiyonları.....	9
2.4.2. Hipotalamik Çekirdeklerin Beslenme Davranışı Üzerindeki Rolü.....	9
2.5. Obezite.....	11
2.6. Nöropeptid Y (NPY).....	14
2.7. Aguti İlişkili Protein (AgRP).....	15

2.8. Proopiymelanokortin (POMC) .....	16
2.9. Kokain-Amfetamin Düzenleyici Transkript (CART).....	17
2.10. Leptin Hormonu.....	18
2.11. Ghrelin Hormonu .....	19
3. Materyal ve Metot.....	21
3.1. Araştırmanın Yapılacağı Merkez .....	21
3.2. Gruplardaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi.....	21
3.3. Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması .....	21
3.4. Lee İndeksi ile Skorlama .....	23
3.5. Uygulanacak MOTS-c Dozunun Belirlenmesi .....	23
3.6. Hazırlık .....	24
3.6.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının Hazırlanması ve Uygulanması .....	24
3.6.2. MOTS-c Konsantrasyonlarının Hazırlanması ve Uygulanması .....	24
3.6.3. Ozmotik Mini Pompaların Hazırlanması.....	24
3.6.4. Beyin İnfüzyon Kitlerinin Hazırlanması.....	24
3.6.5. Operasyon Aşamaları.....	24
3.7. Analizlerin Yapılması.....	28
3.7.1. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) .....	28
3.6.2. Western Blot Analizi .....	32
3.6.3. Hormonların Tayini .....	34
4. Bulgular .....	39
4.1. Sıçanlara İcv MOTS-c Uygulanmasının Vücut Ağırlığı �zerine Etkileri.....	39
4.2. Sıçanlara İcv MOTS-c Uygulanmasının Besin Alımı �zerine Etkileri.....	40
4.3. İcv MOTS-c Uygulanmasının Hipotalamustaki mRNA Seviyeleri �zerine Etkisi 41	
4.3.1. NPY mRNA Seviyesine Etkisi .....	41
4.3.2. AgRP mRNA Seviyesine Etkisi .....	42
4.3.3. POMC mRNA Seviyesi �zerindeki Etkisi.....	43

4.3.4. CART mRNA Seviyesine Etkisi.....	44
4.4. İcv MOTS-c Uygulamasının Hipotalamik Protein İfadeleri Üzerine Etkileri.....	45
4.4.1. NPY Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi.....	45
4.4.2. AgRP Protein İfadesi Üzerindeki Etkileri .....	46
4.4.3. POMC Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi.....	47
4.4.4. CART Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi .....	48
4.5. MOTS-c'nin Serum Leptin Seviyesi Üzerine Etkisi .....	49
4.6. MOTS-c'nin Serum Ghrelin Seviyesi Üzerine Etkisi.....	50
5. Tartışma .....	51
5.1. MOTS-c'nin Vücut Ağırlığı ve Gıda Alımı Üzerine Etkileri.....	51
5.2 MOTS-c'nin Serum Leptin ve Ghrelin Hormonları Üzerine Etkisi .....	53
5.3 MOTS-c'nin NPY, AgRP, POMC ve CART mRNA ve Protein Seviyesi Üzerine Etkisi .....	53
6. Sonuç ve Öneriler .....	56
Kaynaklar.....	57
Ekler.....	72
Ek 1. Etik Kurul Onayı .....	72
Ek 2. Özgeçmiş .....	73

## TEŞEKKÜR

116S744 no'lu proje ile yüksek lisans tez çalışmama maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK),

Tez araştırmam ve yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Suat TEKİN'e içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli öğretim üyelerine üzerimdeki emekleri ve yardımlarından ötürü teşekkür ederim.

Çalışmamın sonunda RT-PCR ve Western Blot analizlerine bulunduğu katkılardan dolayı Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Doç. Dr. Ebru ETEM ÖNALAN'a, ELISA analizlerine bulunduğu katkılardan dolayı Turgut Özal Üniversitesi Yeşilyurt Meslek Yüksekokulu Müdürü Dr. Öğr. Üyesi Fatma ÖZYALIN'a cerrahi uygulamalarda yardımcı olan İnönü Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi bünyesinde çalışan değerli veteriner teknikerlerimiz Onur ve Gamze ÖZKAYA'ya benden bilgisini ve arkadaşlıklarını esirgemeyen, çalışmamda bana yardım eden Asiye BEYTUR'a ve İlker DEMİR'e teşekkürü borç bilirim.

Ömrüm boyunca hep benim yanımda olan, benim ilk öğretmenim, ilk arkadaşım olan; ideallerimi şekillendiren, ufkumu genişleten, bugünlere gelebilmem için en büyük fedakarlıkta bulunan hakkını ömrüm boyunca ödeyemeyeceğim ve yüksek lisans eğitimim boyunca beni hep destekleyen kıymetli annem Fatma ÖZÇİÇEK'e minnettarım. Hep arkamda olduğunu ve beni desteklediğini hissettiğim biricik kardeşim Emre DURMUŞ'a teşekkür ederim.

Son olarak hayatımda olduğu için ve her ne olursa olsun benden desteğini, yardımını, arkadaşlığını ve sevgisini esirgemeyen; karşılaştığım zorluklarda elimden tutan hayat arkadaşım, sevgili ve kıymetli eşim Mehmet Orhan SOYTÜRK'e minnettarım.

## ÖZET

### **Obezite Oluşturulan Sıçanlarda İntraserebroventriküler MOTS-c İnfüzyonunun İştah Mekanizması Üzerine Etkileri**

**Amaç:** Hipotalamusta ARC'den salgılanan nöropeptit ajanlar ve periferik dokudan salgılanan leptin ve ghrelin hormonlarıyla beslenme davranışını düzenlemektedir. MOTS-c 2015 yılında Lee ve ark. tarafından keşfedilmiş ve mtDNA'dan sentezlenen bir peptit olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı MOTS-c'nin besin alımı üzerine etkileri, NPY ve POMC nöropeptitleri ile leptin ve ghrelin hormon seviyelerinin belirlenmesidir.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada ortalama ağırlığı 30-50 gr olan *Wistar Albino* cinsi 40 adet erkek sıçan kullanıldı. 17 hafta boyunca YYDY ile *ad libitum* olarak beslenen sıçanlarda obezite oluşturularak hayvanlar 4 eşit gruba ayrıldı (n=10). Kontrol grubuna herhangi bir müdahalede bulunulmadı, sham kontrol grubuna ve deney gruplarına 14 gün boyunca günlük 120 µl (5 µl/sa) infüzyon sağlayan ozmotik mini pompalar lateral ventriküllere yerleştirilmiştir. Bu şekilde sham kontrol grubuna yBOS, deney gruplarına 10 µM ve 100 µM dozlarında MOTS-c infüzyonu sağlanmıştır. 14 günün sonunda hayvanlar dekapite edilerek beyin dokuları ve kan örnekleri toplandı. Kan örneklerinden ELISA yöntemiyle serum leptin ve ghrelin seviyeleri, hipotalamus dokularında RT-PCR yöntemiyle NPY, AgRP, POMC ve CART mRNA düzeyleri ve Western Blot yöntemiyle bu genlere ait protein miktarları belirlendi.

**Bulgular:** Uygulanan 10 µM ve 100 µM MOTS-c miktarının besin alımını arttırırken (p<0.05) vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırmadığı (p>0.05); POMC ve AgRP peptid seviyelerine etki etmediği (p>0.05) gözlemlendi. NPY protein seviyesini arttırırken (p<0.05) CART seviyesini azalttığı belirlendi. Her iki dozun serum leptin seviyesini azaltırken ghrelin seviyesini arttırdığı görüldü (p<0.05).

**Sonuç:** Bulgular MOTS-c'nin iştahı arttırdığını ancak vücut ağırlığında artışı engellediğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** MOTS-c, obezite, gıda alımı, vücut ağırlığı, beslenme davranışı



## ABSTRACT

### **The Effects of Intracerebroventricular MOTS-c Infusion on the Appetite Mechanism in Obese Rats**

**Aim:** ARC expresses NPY, AgRP, POMC and CART peptides and these peptides regulate feeding behavior with leptin and ghrelin hormones. Mitochondrial derived peptide MOTS-c was explored by Lee et al in 2005. The aim of this study was investigate the effects of MOTS-c on food intake explained with detecting NPY, AgRP, POMC and CART neuropeptides associated with leptin and ghrelin hormones.

**Material and Method:** In this study 30-50 g in weight 40 Wistar Albino male rats were used. Developed obesity on the rats by fed ad libitum with HFD for 17 weeks and evenly separated into 4 groups (n=10). Any operation was applied on the control group, osmotic mini pumps were implanted on lateral ventricles of sham and experimental groups and supplied 120  $\mu$ l (5 $\mu$ l/sa) infusion volume for 14 days. ACSF infusion applied on sham group and 10  $\mu$ M and 100  $\mu$ M MOTS-c infusion applied on experimental groups. Throughout the experimental period, rats kept in individual cages, body weight and food consumptions were daily recorded. At the end of 14 days rats were decapitated and brain tissues and blood samples were collected. POMC, CART, NPY and AgRP mRNAs detected by RT-PCR, protein levels were detected by Western Blot method. Serum leptin and ghrelin levels were determined by ELISA method from collected blood samples.

**Results:** Applied 10  $\mu$ M and 100  $\mu$ M MOTS-c doses increased food intake ( $p < 0.05$ ) but didn't cause significant change in body weights ( $p > 0.05$ ). Administration of MOTS-c didn't effect AgRP and POMC peptide levels ( $p > 0.05$ ). Also MOTS-c increased NPY protein levels while it decreased CART protein levels ( $p < 0.05$ ). In addition MOTS-c decreased serum leptin levels while it increased serum ghrelin levels ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** However MOTS-c increases appetite it is prevent weight gain.

**Keywords:** MOTS-c, obesity, food intake, body weight, feeding behavior

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>AgRP</b>	: Aguti ilişkili peptit
<b>AICAR</b>	: 5-Aminoimidazole-4 carboxamide ribonucleotide
<b>AMPK</b>	: 5'Adenosine monophosphate activated protein kinase
<b>ARC</b>	: Arkuat nükleus
<b>BKİ</b>	: Beden-kitle indeksi
<b>BYD</b>	: Beyaz yağ dokusu
<b>CART</b>	: Kokain-amfetamin düzenleyici transkript
<b>DMN</b>	: Dorsomediyal nükleus
<b>ED</b>	: Endotel disfonksiyon
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İcv</b>	: İntraserebroventriküler
<b>KYD</b>	: Kahverengi yağ dokusu
<b>LHA</b>	: Lateral hipotalamik alan
<b>MCR</b>	: Melanokortin reseptörü
<b>MSH</b>	: Melanosit uyarıcı hormon
<b>mtDNA</b>	: Mitokondriyal deoksiribonükleik asit
<b>NPY</b>	: Nöropeptit Y
<b>OVX</b>	: Ovariectomi
<b>POMC</b>	: Proopiomelanokortin
<b>PVN</b>	: Paraventriküler nükleus
<b>RANKL</b>	: Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
<b>TGF-β</b>	: Büyüme hormonu dönüştürücü faktör- β
<b>TNF-α</b>	: Tümör nekroz faktörü- α
<b>VK</b>	: Vasküler kalsifikasyon
<b>VMN</b>	: Ventromediyal nükleus
<b>yBOS</b>	: Yapay beyin-omurilik sıvısı
<b>YYDY</b>	: Yüksek yağlı diyet yemi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Hipotalamik Çekirdekler ve Fizyolojik Rollerini .....	10
Şekil 2.2. Besin Alımı Üzerinde Hipotalamik Çekirdeklerin Etkileri .....	11
Şekil 2.3. Leptin ve Ghrelinin Hipotalamus Üzerindeki Etkileri .....	20
Şekil 3.1. Araştırma Planı .....	22
Şekil 3.2. Lee İndeks Hesaplaması için Nazo-anal Uzunluk Ölçümü .....	23
Şekil 3.3. Sıçan beyin atlasında yer alan lateral ventrikül koordinatları .....	25
Şekil 3.4. Sıçanların stereotaksik cihaza yerleştirilmesi (A) ve lateral ventrikül koordinatlarının belirlenmesi (B).....	26
Şekil 3.5. Beyin infüzyon kitine ait kanülün lateral ventriküle indirilmesi (A) ve kanülün dental sementle kafatasına sabitlenmesi (B).....	27
Şekil 3.6. Ozmotik mini pompaların deri altına yerleştirilmesi (A) ve insizyon bölgesinin dikilmesi (B).....	27
Şekil 3.7. Dokularda RNA izolasyon basamakları .....	29
Şekil 3.8. Western blot analizine genel bakış .....	33
Şekil 3.9. Western Blot için hazırlanan sandviçin yapısı .....	34
Şekil 3.10. Serum leptin ELISA standart solüsyonunun dilüe edilmesi.....	35
Şekil 3.11. Serum leptin düzeyinin belirlenmesinde kit plağının düzeni .....	36
Şekil 3.12. Serum ghrelin ELISA kit standartının dilüe edilmesi .....	37
Şekil 3.13. Serum ghrelin düzeyinin belirlenmesinde kit plağının düzeni .....	38
Şekil 4.1. Kontrol, sham ve deney gruplarının vücut ağırlıkları.....	39
Şekil 4.2. Kontrol ve deney gruplarının besin tüketim miktarları .....	40
Şekil 4.3. Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki NPY/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi .....	41
Şekil 4.4. Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki AgRP/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi .....	42
Şekil 4.5. Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki POMC/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi .....	43
Şekil 4.6. Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki CART/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi .....	44

Şekil 4.7. Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda NPY protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve NPY bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B).....	45
Şekil 4.8. Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda AgRP protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve AgRP bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B).....	46
Şekil 4.9. Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda POMC protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve POMC bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B).....	47
Şekil 4.11. İcv MOTS-c uygulamasının serum leptin seviyelerine etkisi .....	49
Şekil 4.12. İcv MOTS-c uygulamasının serum ghrelin seviyesi üzerindeki etkisi..	50



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo 2.1. Beden-Kitle İndeksinin Sınıflandırılması.....	13
Tablo 3.1. Gruplardaki Hayvanların Lee İndeksi Değerleri.....	23
Tablo 3.2. cDNA karışım miktarı.....	30
Tablo 3.3. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı.....	30
Tablo 3.4. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler.....	31
Tablo 3.5. Uygulanan RT-PZR programı (RT-PZR X 40 döngü).....	32



# 1. GİRİŞ

Obezite, enerji alımı ve tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanan, fiziksel ve psikososyal sağlığa zarar veren vücutta aşırı yağ doku birikimidir (1, 2). Obezite sadece kilo artışı olarak kalmayıp beraberinde tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, yüksek kolesterol, kısırlık ve hatta kanser gibi birçok sekonder hastalığa da sebep olmakta, bu nedenle morbidite ve mortaliteyi arttırmakta ve günümüzde önem arz etmektedir.(3).

Enerji metabolizması açlık tokluk mekanizmasıyla düzenlenmektedir. Merkezi sinir sistemi içerisinde vücudun birçok fonksiyonunun kontrolünden sorumlu hipotalamik çekirdekler içerisinde yer alan iştah düzenleyici merkezler beslenmenin regülasyonunda önemli bir role sahiptir. Hipotalamusta bulunan ve iştah kontrolünden sorumlu olan bölgelerden salgılanan peptidler iştahı baskılamakta ya da arttırmaktadır (4). Ventromediyal ve paraventriküler nükleuslar (VMN, PVN) anoreksijenik etki gösteren nöroendokrin ajanlar salgılamakta dorsomediyal ve lateral nükleuslar (DMN, LHA) oreksijenik etki gösteren ajanları salgılamaktadır. Arkuat çekirdek (ARC) ise hem oreksijenik hem anoreksijenik etkiye sahip nöronlardan oluşmaktadır ve bu iki yolağın kontrolünden sorumludur (5).

Periferik dokulardan gelen uyarılarla ARC'den salgılanan proopiomelanokortin (POMC) ve kokain-amfetamin düzenleyici transkript (CART) iştahı baskılamakta buna karşı nöropeptit Y (NPY) ve aguti ilişkili protein (AgRP) besin alımını arttırmaktadır ve bu nöroendokrin ajanların salınımını periferik dokulardan salgılanan hormonlar düzenlemektedir (5). Adipoz dokudan salgılanan leptin ve mideden salgılanan ghrelin hipotalamik protein salınımını düzenleyerek iştah ve enerji metabolizmasını etkilemektedir. (5). Leptin ve ghrelin enerji metabolizması üzerinde zıt etkilere sahip iki hormondur. Leptin besin alımının baskılanarak enerji dengesinin düzenlenmesini sağlayan anoreksijenik bir hormon iken ghrelin besin alımını uyaran oreksijenik bir hormondur. Bu iki hormon arasındaki dengenin bireylerde iştah mekanizmasını düzenleyerek vücut ağırlığının kontrolünü sağladığı ancak dengenin bozulması durumunda bireylerde obezitenin ortaya çıktığı öne sürülmüştür (6).

Hücrelerde bulunan mitokondri hücreye enerji kaynağı sağlayan bir organeldir ve son yıllarda mitokondriyal DNA üzerinde yapılan çalışmalarla DNA üzerinde kısa açık okunur çerçevelerin olduğu (KAOÇ) ve bu bölgelerden sentezlenen peptidlerle

hücrel fonksiyonların düzenlendiği bildirilmiştir. Bu peptidlerden ilk keşfedilene Hümānin'dir. Bunu takiben MOTS-c ve altı çeşit Kısa Hümānin Benzeri Peptidler (SHLPs) keşfedilmiştir (7).

2015'te Lee ve arkadaşları tarafından keşfedilen MOTS-c 16 aminoasitten oluşan bir peptittir. Yapılan çalışmalarda merkezi sinir sistemi içerisinde yer almakla birlikte periferde yoğun olarak kas, kalp ve böbrek olmak üzere vücutta birçok dokuda bulunduğu belirtilmiştir. MOTS-c'nin hücrel metabolizmayı ve hücrel gen ifadesini düzenlediği, insülin direncini ve obeziteyi önlediği gösterilmiştir (8).

Yapılan alışmalar sonucunda elde edilen bulgular, merkezi nöropeptitlerin ve periferik hormonların iştah kontrolünde önemli görevler aldığını belirtmektedir. Yakın zamanda keşfedilen MOTS-c'nin de enerji metabolizması üzerinde etkili olabileceği belirtilmektedir. İştah kontrolündeki etkisi ise insülin direncini dūřürdüđu ve obeziteyi azalttığına dair çalışmalarla desteklenmektedir. Bu bilgiler ışığında bu çalışmada, merkezi olarak enjekte edilen MOTS-c'nin plazma açlık-tokluk hormonları ile iştahın merkezi düzenlenmesinden sorumlu nöropeptitler üzerindeki etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mitokondriyal DNA Türevli Peptid (MOTS-c)

#### 2.1.1. Keşfi

Mitokondriyal DNA'dan (mtDNA) sentezlenen birçok peptid bulunmakla birlikte, Hashimoto ve ark. tarafından 2001 yılında bu aile için ilk tanımlanan peptid Humanin'dir (9). 2015 yılında ise Lee ve arkadaşları tarafından mitokondriyal DNA'dan sentezlenen MOTS-c peptidi keşfedilmiştir. MOTS-c "The Mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance" başlıklı çalışma ile literatürdeki yerini almıştır.

#### 2.1.2. Biyokimyasal Yapısı

İnsan mtDNA'sı çift zincirli, 16.569 baz çiftinden oluşan, 13 adet protein kodlayan 37 gen, 22 tRNA ve 2 rRNA'dan oluşan dairesel bir moleküldür. MOTS-c ise mtDNA'nın 12 S rRNA bölgesinden sentezlenen ve 16 aminoasitten oluşan bir peptittir (8). MOTS-c'nin, Met-Arg-Trp-Gln-Glu-Met-Gly-Tyr-Ile-Phe-Tyr-Pro-Arg-Lys-Leu-Arg'den oluşan bir moleküler yapıya sahip olduğu ve ilk 11 aminoasitin 14 memeli türünde yüksek oranda korunduğu ortaya konulmuştur (8, 10).

#### 2.1.3. Reseptörü

MOTS-c'nin reseptörünü belirlemeye yönelik yapılan araştırmalar oldukça kısıtlı olup bu konu üzerinde kısmen ilerleme kaydedilmiştir. Kim ve ark.'nın yaptığı çalışmada MOTS-c'nin sitoplazmadan çekirdeğe geçerek DNA'ya bağlandığı ve hücresel yanıt oluşturduğu ve bu reaksiyonları gerçekleştirirken fonksiyonel olarak etkileşimde bulunduğu tek molekülün adenozin monofosfat ile aktifleşen kinaz (AMPK) olduğu ileri sürülmüştür. MOTS-c'nin hücre çekirdeğindeki porlardan serbestçe geçebilecek kadar küçük bir molekül olduğu bu nedenle kromatin iplikle olan ilişkisinin çekirdekte bu peptidin birikimine veya azalmasına yol açtığı için herhangi bir taşıyıcı sisteme ihtiyaç duymadığı düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında şimdiye kadar yapılan çalışmalarda henüz MOTS-c'ye özgü herhangi bir reseptör tanımlanmamıştır (11, 12).



#### **2.1.4. Dokulardaki Lokalizasyonu**

Lee ve arkadaşlarının yaptığı immünohistokimyasal incelemelerde MOTS-c'nin farelerde iskelet kası, böbrek, kalp, kalın bağırsak ve testis dokularında daha yoğun olmakla birlikte beyin, karaciğer, dalak, damar duvarı ve ince bağırsak dokularında da bulunduğu tespit edilmiştir (8). Buna karşın sıçanlar üzerinde yapılan incelemede ise kalp, testis ve iskelet kasında daha yoğun gözlenirken beyin, karaciğer, böbrek, dalak, kalın ve ince bağırsak dokularında da bulunduğu belirlenmiştir (8). Yine aynı çalışma grubu tarafından yapılan araştırmada serum ve plazmada MOTS-c'nin varlığı ortaya konulmuş ve alınan kan örnekleri üzerinde ELISA yöntemi kullanılarak yapılan incelemede fare plazmasında MOTS-c miktarının yaklaşık 250 pg/ml, sıçan plazmasında ise yaklaşık olarak 300 pg/ml ve insanda plazmada yaklaşık 200 pg/ml olduğu rapor edilmiştir (8).

#### **2.1.5. Etki Mekanizması**

Aşırı MOTS-c üreten HEK293 hücre hattıyla yapılan çalışmada MOTS-c'nin folat-metiyonin döngüsünü hedefleyerek *de novo* pürin biyosentez yolağına bağlandığı ve bu iki döngüde rol alan enzimlerin gen ifadelerini değiştirdiği bildirilmiştir (8). MOTS-c'nin folat döngüsünü 5-metil-tetrahidrofolat (5Me-THF) seviyesinde durdurduğu, böylece 5Me-THF ve metiyonin seviyelerini düşürdüğü buna karşı homosistein ve betain seviyelerini arttırdığı rapor edilmiştir (8). 5Me-THF seviyesindeki düşüşün *de novo* pürin biyosentezini engelleyerek hücre içinde 5-aminoimidazol-4-karboksamid ribonükleotit (AICAR) birikimine neden olduğu belirtilmiştir. AICAR'ın AMPK'yı aktive ettiği ve böylece glikoz ve yağ asidi metabolizmasının uyarıldığı ortaya konulmuştur. Bunun yanında MOTS-c'nin dokulardaki glikoz alımını arttırırken bazal oksijen tüketim hızını azaltarak crabtree etkisi gösterdiği belirtilmiştir (8).

#### **2.2. MOTS-c'nin Enerji Metabolizması Üzerindeki Etkileri**

MOTS-c'nin karnitin ve  $\beta$  oksidasyon seviyelerini arttırdığı, yağ asidi kullanımındaki artışa bağlı olarak uzun zincir yağ asit seviyesini azalttığı bildirilmiştir (8). Sfingolipid metabolizması, tip-2 diyabet ve insülin faaliyetiyle alakalı metabolitleri teşkil etmektedir. MOTS-c sfingolipid metabolizmasına ait olan sfinganin-1-fosfat, palmitoil sfingomiyelin, stearoil sfingomiyelin, sfingozin-1-fosfat ve sfingomiyelin gibi metabolitlerin seviyelerini düşürürken, glikosfingolipid seviyesini yükselttiği rapor edilmiştir (13). Monoaçilgliserol metabolizması triaçilgliserolün hidrolize edilerek

monoaçilgliserole dönüştürülmesi ve hücreye girmesini sağladığı bildirilmiştir. MOTS-c enjekte edilen farelerde 2-oleoilgliserol, 1-linoleoilgliserol, 2-linoleoilgliserol ve dokosaheksaenoilgliserol gibi metabolitlerin seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (13). Bu verilerin yanında dikarboksilat metabolizmasını da etkileyerek suberat, sebakat, andekanediodat, tetradekanediodat seviyelerini düşürdüğü ortaya konulmuştur (13). Ovariectomize (OVX) farelerde MOTS-c'nin plazma gliserol seviyesiyle birlikte lipogenezden sorumlu genleri baskılayarak plazma lipid seviyesini de önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (14). Beyaz yağ dokusunun (BYD) enerji depolama rolü üstlenirken kahverengi yağ dokusunun (KYD) ısı üreterek vücut sıcaklığının korunmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir. OVX farelerde KYD'de bulunan lipid damlacıklarının büyüdüğü ancak MOTS-c tedavisi uygulandığında yağ damlacıklarının küçüldüğü ve yağ dokusundaki trigliserit oranının azaldığı belirtilmiştir (14). KYD'deki bu değişim sayesinde fareler akut soğuğa maruz bırakıldığında soğuğa daha rahat adaptasyon göstermiş ve enerji tüketimini artırarak vücut sıcaklıklarını koruyabildikleri iddia edilmiştir (14, 15). Soğuk maruziyeti nedeniyle karaciğerde yağ birikiminin arttığı ancak MOTS-c'nin glikojen metabolizmasını etkilemeden karaciğerdeki yağ metabolizmasını kontrol altına aldığı rapor edilmiştir (15).

### **2.3. MOTS-c'nin Patofizyolojiler Üzerindeki Etkileri**

#### **2.3.1. Obezite ve İnsülin Direnci Üzerindeki Etkileri**

Obezitenin birçok sistemik hastalığa temel teşkil etmekle birlikte insülin direnciyle yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (16). Lee ve ark.'nın yaptığı çalışmada hiperinsülinemik-öglisemik klempt uygulanan farelere MOTS-c tedavisi uygulanarak tüm vücutta insülin duyarlılığının %30 arttığı bildirilmiştir. Normal yemle beslenen farelerin vücut ağırlığına herhangi bir etkisi olmazken yüksek yağlı diyet yemi (YYDY) ile beslenen farelerde besin miktarından bağımsız olarak obeziteyi önlediği; ayrıca yaşla birlikte azalan insülin duyarlılığının da MOTS-c ile arttırıldığı rapor edilmiştir (8). Cataldo ve ark.'larının zayıf ve obez bireylerle yaptığı çalışmada açlık durumunda zayıf bireylerde insülinemi, laktatemi ve gliseminin daha düşük olduğu, glikoz yüklemesi sonucunda da zayıf bireylerdeki değerlerin obezlere oranla daha düşük olduğu ancak plazma MOTS-c seviyesinin gruplar arasında fark göstermediği bildirilmiştir (17). Zayıf bireyler kendi içlerinde değerlendirildiğinde açlık laktat seviyesi ve homeostatik model değerlendirmesi (HOMA) MOTS-c ile pozitif korelasyon gösterirken, Matsuda indeksiyle negatif korelasyon gösterdiği ancak obez bireylerde herhangi bir fark olmadığı rapor edilmiştir (17). Benzer bir çalışmada obez erkek çocuklarda yetişkinlere

göre MOTS-c seviyesinin düşük olduğu ancak kız çocukları ve yetişkinler arasında fark olmadığı ortaya konulmuştur. Ayrıca insülin direnci olan obez bireylerde MOTS-c seviyesinin normal bireylerden daha düşük olmasına karşı insülin direnci olmayan obez bireylerle kontrol grubu arasında bir fark olmadığı bildirilmiştir (18). Kadın çocuk ve yetişkin bireylerde insülin direnci olan ve insülin direnci olmayan gruplar arasında herhangi bir fark bulunmadığı ancak erkek bireylerde insülin direnci gelişen obez bireylerde sağlıklı bireylere göre MOTS-c seviyesinin düşük olduğu ileri sürülmüştür (18). Bunun yanında erkek bireylerde beden kitle indeksi (BKİ), standardize beden kitle indeksi (BKİ-SDS), bel çevresi, bel-kalça oranı, açlık insülin seviyesi, HOMA insülin direnci (HOMA-İD) ve hemoglobin A1c (HbA1c) değerlerinin MOTS-c seviyesiyle negatif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (18). MOTS-c tedavisinin besin alımına ve vücut ağırlığındaki değişime etki etmediği ancak insülin ve leptin seviyesini düşürdüğünü ve YYDY ile oluşan obezitede insülin duyarlılığını arttırdığı bildirilmiştir (13). D-galaktoz müdahalesinin farelerin subkutan dokusunda ve karaciğerinde aşırı yağ birikimine neden olduğu ve MOTS-c tedavisinin bu fazla yağı azalttığı rapor edilmiştir (19). OVX kaynaklı kilo artışında MOTS-c'nin olumlu etkileri bildirilmiştir. İç organlarda ve kas kütlelerinde herhangi bir ağırlık değişimi olmaksızın sadece yağ miktarını azaltarak kilo artışını engellediği ve glikoz toleransını arttırdığı ortaya konulmuştur (14).

### **2.3.2. Vasküler Hastalıklar Üzerindeki Etkileri**

Endotel disfonksiyon (ED) fizyolojik ya da farmakolojik strese karşı verilen uygunsuz vazomotor cevap olarak tanımlanmıştır. ED'nin kardiyovasküler hastalıklara yol açan etkenlerle ilişkili olduğu belirtilmiştir (20) MOTS-c'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Ancak Qin ve ark. tarafından ED ile MOTS-c arasında ilişki olduğuna dair bir çalışma ortaya konulmuştur (21). Bu çalışmada MOTS-c'nin dolaşımında düşük dozda bulunmasının ED'ye bozukluklara yol açtığı, buna karşı mikrovasküler fonksiyondan bağımsız olarak endotel tabakayla MOTS-c seviyesi arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığı belirtilmiştir (21). Bu nedenle MOTS-c'nin vasküler endotel üzerinde etkisi olacağı düşünülen çalışmada. renal arter stenozu oluşturulan sıçanlara ön tedavi sürecinde MOTS-c uygulandığında asetil kolinle birlikte maksimum gevşemeyi sağladığı gözlemlenmiş ancak direkt olarak vazodilatör etkisi olduğu saptanmamıştır (21).

Vasküler kalsifikasyon (VK) kalsiyum fosfat kristallerinin damardaki mediyal ve intimal duvarlarda çökelerek aşırı birikmesiyle oluştuğu ve ilerlemesiyle birlikte birçok sistemik hastalığa yol açtığı belirtilmiştir (22). Vitamin-D3 ve nikotinle damarlarında vazodilatasyon oluşturulan sıçanlarda VK oluşturulmuş ve sıçanlara MOTS-c uygulanarak MOTS-c'nin sol ventrikül internal diastol ve sistol sonu çaplarını arttırdığı, bunun yanında sol ventrikülde oluşan hipertrofiyi azaltarak duvar kalınlığını azalttığı bildirilmiştir. Sistolik ve diyastolik kan basınçlarını da kontrol grubuna yakın düzeye indirmediği ortaya konulmuştur (10). Aort damarından alınan örneklerde MOTS-c'nin kalsiyumu %55.7, alkalın fosfataz (ALP) aktivitesini ise %50.1 oranında azalttığı ve elastik lif yapısında oluşan bozuklukları azaltarak vasküler duvar yapısını iyileştirdiği rapor edilmiştir. VK nedeniyle AMPK fosforilasyonunda görülen düşüşü engellediği de ileri sürülmüştür (10).

### **2.3.3. Osteoporoz ve Osteolizis Üzerindeki Etkileri**

Osteoporoz kemik yapının şekillenmesi ve emilimi arasındaki dengenin bozulmasına yol açan kemik kütlelerini azaltan ve mikro yapıda bozukluklara yol açan patolojik bir durum olarak tanımlanmaktadır (23, 24). Osteoporozun en yaygın görülen tipinin postmenopozal osteoporoz olduğu ve östrojen seviyesinin azalmasıyla kemik yapıda osteoklast aktivitesinin artmasıyla oluştuğu belirtilmiştir (25, 26). Osteoklast hücrelerinin kemik yıkımına neden olan hücreler olduğu ve monosit/makrofaj hücrelerinden köken alarak farklılaştığı ortaya konularak bu farklılaşmayı sağlayan temel sitokin, nükleer faktör- $\kappa$ B ligand reseptörü aktive edicisi (RANKL) olduğu bildirilmiştir (27-30). AMPK'nin ise RANKL aktivasyonu ile başlayan osteoklast farklılaşmasını durduran bir etken olduğu rapor edilmiştir (31-33).

Daha önce de belirtildiği üzere MOTS-c'nin hücrede ilişkide olduğu tek molekül AMPK olduğundan MOTS-c'nin de osteoporoz üzerinde olumlu etkileri olduğu belirtilen çalışmalar mevcuttur. OVX kaynaklı osteoporoz modeli oluşturulan farelerle yapılan çalışmada cerrahi işlemi takip eden süreçte intraperitoneal olarak MOTS-c verilmiş ve deney sonunda sol femur ve 5.lomber diskten alınan kemik örnekleri mikro bilgisayarlı tomografiyle görüntülenmiş ve histolojik olarak incelenmiştir (34). Bu çalışmaya göre MOTS-c'nin AMPK'yi aktive ederek RANKL'i inhibe ettiği, osteoklast hücrelerinin ata hücrelerden farklılaşarak oluşumunu engellediği ve bu nedenle OVX kaynaklı kemik kaybını azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca C3H10T1 hücre hattıyla yapılan çalışmada MOTS-c'nin osteoblast oluşumuna herhangi bir etkisi olmadığı ortaya

konulmuştur (34). Hu ve ark. kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin (BMSC) dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ )/Smad yolağıyla osteoblast hücrelerine dönüştüğü (32) bilgisinden yola çıkarak yaptıkları çalışmada MOTS-c'nin kök hücrelerde osteojenik farklılaşmaya katkıda bulunduğunu rapor etmişlerdir (35). Che ve ark yaptıkları çalışmada, hFOB1.19 hücre hattına MOTS-c'nin uygulanmasının proliferasyonu iyileştirdiğini, TGF- $\beta$ , SMAD7, COL1A1 ve COL1A2 transkripsiyonunu ve sentezini arttırdığını, bu bulgulara bağlı olarak da TGF- $\beta$  yolağını kullanarak tip-1 kolajen sentezini arttırdığını bildirmişlerdir (37).

Yan ve ekibi tarafından yapılan çalışmada ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen (UHMWPE) uygulanarak osteolizis oluşturulan fare modeli üzerinde MOTS-c'nin etkisi araştırılmıştır. Yapılan immünohistokimyasal incelemeler sonucunda MOTS-C'nin kemik kütlesini koruduğu, osteoprotegerin (OPG)/ RANKL oranını arttırdığı, AMPK aracılığıyla osteosit salgısını düzenleyerek osteoklastogenezi engellediği ortaya konulmuştur (38).

### **2.3.4. İnflamasyon Üzerindeki Etkileri**

Bakteriyel enfeksiyon öncesi MOTS-c tedavisinin farelerde hayatta kalma oranını %20'den %78,75'e çıkardığı, enfeksiyon sonrası uygulanan MOTS-c tedavisiyle ise %50'den %100'e çıktığı ve vücut sıcaklıklarının daha düşük olduğu ayrıca proinflamatuvar sitokin seviyesini düşürürken antiinflamatuvar sitokin seviyesini arttırdığı ileri sürülmüştür (39). Periprostetik aseptik inflamasyonda uygulanan MOTS-c'nin kemik kaybını engellediği ve kemik kütlesinin korunduğu ayrıca tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve interlökin-6 (IL-6) seviyelerini azaltırken interlökin-10 (IL-10) seviyesini artırarak antiinflamatuvar etki gösterdiği belirtilmiştir (34). OVX kaynaklı obezitede vücutta oluşan inflamatuvar yanıt üzerinde MOTS-c'nin olumlu etki göstererek IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerini düşürdüğü belirtilmiştir (14).

### **2.4. Hipotalamus**

Hipotalamus talamusun altında yer alan ve yaklaşık 5 gr ağırlığında olan, beyin kitlesinin %1'inden azını oluşturmasına rağmen vücutta homeostazı sağlayan tüm işlemlerin kontrol merkezi olduğu bilinmektedir (40).

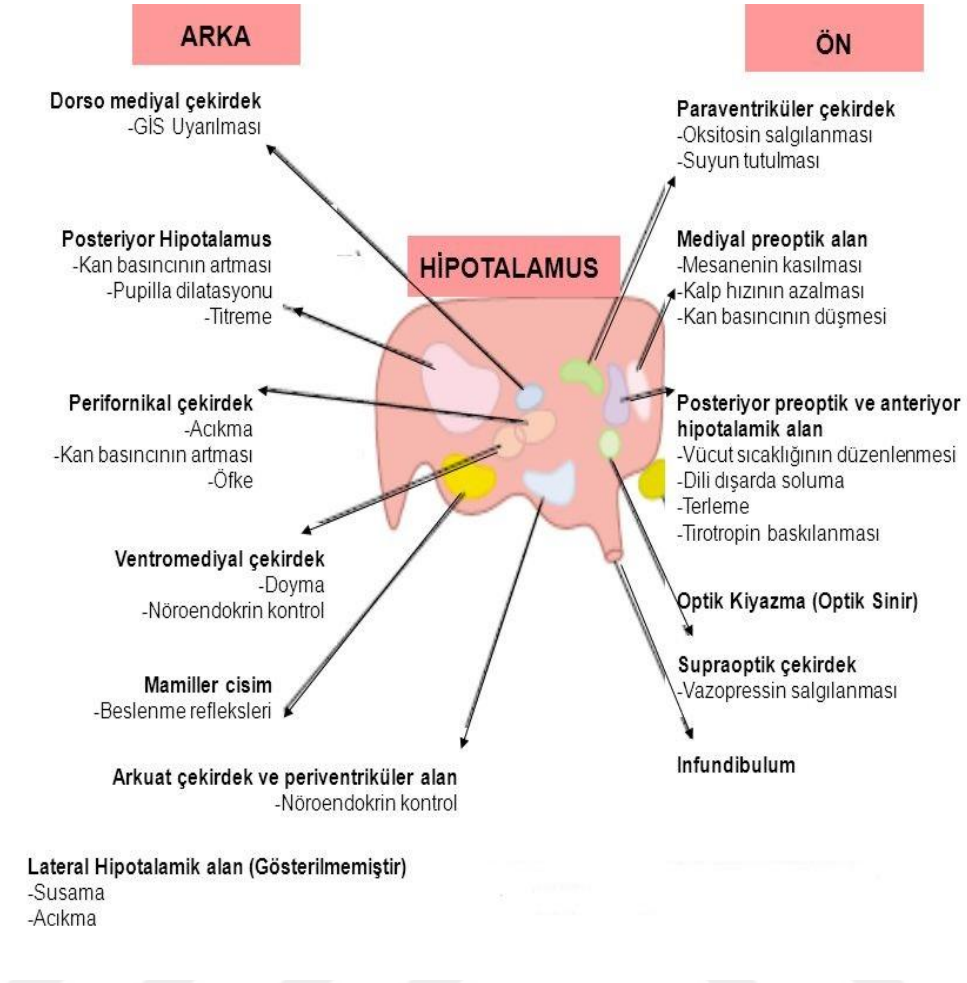
#### **2.4.1. Hipotalamusun Fonksiyonları**

Hipotalamus otonom sinir sistemi ile ilgili iki temel fonksiyonu yerine getirmektedir. Öncelikle otonom sinir sisteminin üst beyin merkezleri ve endokrin sistem arasındaki geçişinde köprü görevi görmektedir, bunun yanında tüm vücutta otonom yanıtların davranışsal dürtülere ya da otonomik ve çevresel uyarılara dönüşümünde rol almakta bu bağlamda hipotalamus açlık, susama ve cinsel istek yanıtlarını, vücut ısısının düzenlenmesini ve savunma reaksiyonlarının entegrasyonunu sağlamaktadır (41).

Hipotalamustan salgılanan tritropin serbestleştirici hormon (TRH), kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH), büyüme hormonu serbestleştirici hormon (GHRH), büyüme hormonu baskılayıcı hormon (GHIH), gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) ve dopamin ve prolaktin inhibe edici faktör (PIF) bu dokunun aynı zamanda endokrin bez olarak da kabul edilmesini sağlamaktadır (42).

#### **2.4.2. Hipotalamik Çekirdeklerin Beslenme Davranışı Üzerindeki Rolü**

Hipotalamus sınırları tam olarak tanımlanamayan birçok çekirdekten meydana gelmiştir. Bu çekirdeklerden paraventriküler nükleus (PVN), dorsomediyal nükleus (DMN), ventromediyal nükleus (VMN), lateral hipotalamik alan (LHA) ve ARC besin alımının kontrolünde ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (43, 44). Hipotalamik çekirdekler ve bu çekirdekler tarafından kontrol edilen homeostatik olaylar şekil 2.1'de sunulmuştur.

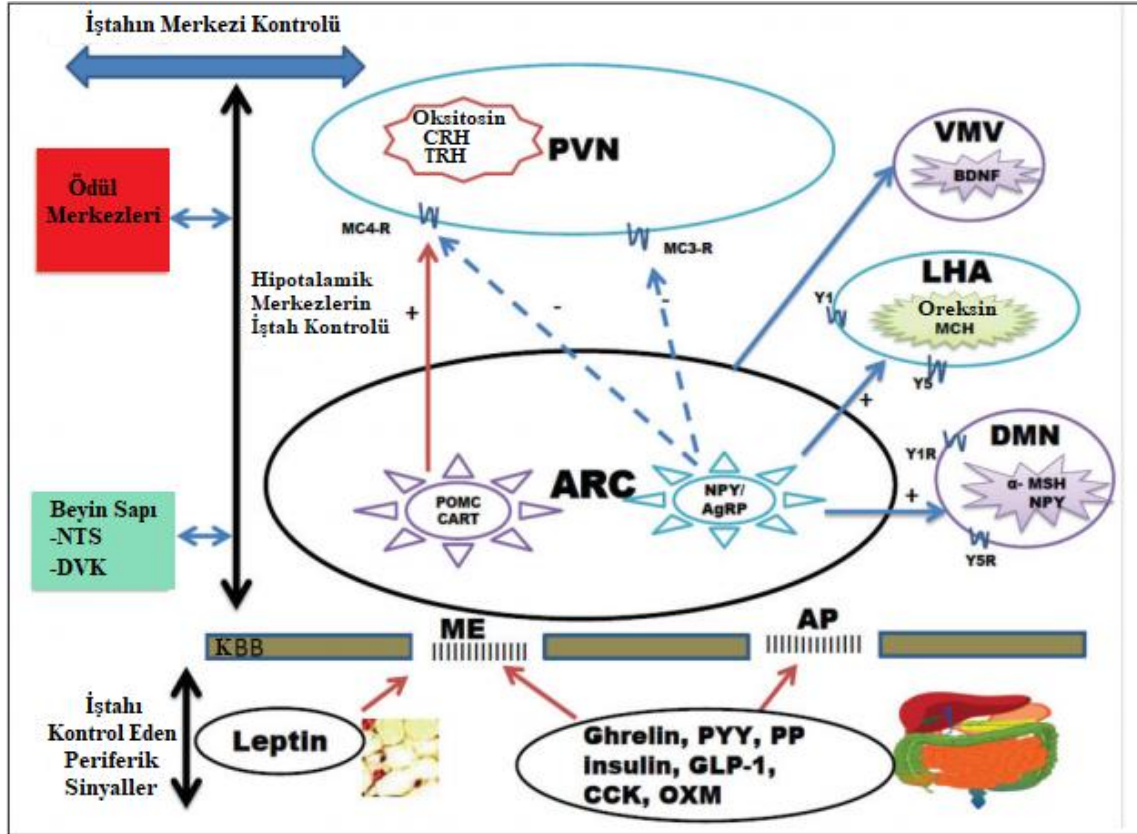


**Şekil 2.1.** Hipotalamik Çekirdekler ve Fiziyojik Roller (43)

VMN ve PVN tokluk hissinin oluşmasını sağlarken bu çekirdeklerin lezyonunda hiperfaji ve obezite gözlenmektedir. DSM ve LHA ise açlık hissinin oluşmasını sağlamakta ve bu bölgelerin harabiyeti de iştah ve kilo kaybına neden olmaktadır (45-48). Abdominal iç organlardan ve oral boşluktan gelen tat girdileri nükleus traktus solitaryusta (NTS) birleşmektedir. Mide ve ince bağırsaktan gönderilen tokluk sinyalleri, karaciğerdeki enerji metabolizması sinyalleri ve humoral sinyaller yukarı çıkan vagal lifler aracılığıyla NTS'de birleşmekte ve afferent lifler yardımıyla hipotalamusa ve diğer önbeyin bölgelerine iletilmektedir (49). PVN ve ARC'den çıkan nöronlar direkt olarak beyin sapı ve omurilikteki parasempatik ve sempatik pregangliyonik nöronlarla ilişki halindedir (43). PVN periferik organlara sempatik çıkışı kontrol etmektedir (50).

ARC periferik dolaşımdaki hormonal ve besinsel metabolik sinyalleri birleştirmekte, bunun yanında merkezi ve çevresel nöronal girdileri koordine ederek feedback oluşturulmasını sağlamaktadır (Şekil 2.2; 51). ARC oreksijenik olan NPY ve

AgRP ve anoreksijenik olan POMC ve CART nöronları olmak üzere fonksiyonel olarak antagonist olan iki grup nörondan oluşmaktadır. Oreksijenik nöron grubu iştahı uyarmakta ve enerji harcamasını azaltmakta anoreksijenik nöron grubu ise besin alımını azaltmakta ve enerji harcamasını arttırmaktadır (43).



Şekil 2.2. Besin Alımı Üzerinde Hipotalamik Çekirdeklerin Etkileri (5)

## 2.5. Obezite

Latince “obedere” kelimesinden köken alan obezite aşırı yemek yemek anlamına gelmektedir ve Dünya Sağlık Örgütü, obeziteyi sağlığı ters yönde etkileyebilecek düzeyde vücutta fazla yağ birikimi olarak tanımlayarak günümüzde de obezitenin epidemik bir hal aldığını belirtmiştir (52).

Obezitenin geçmişine bakıldığında ilk olarak Hipokrat sağlıklı olma halini kan, siyah safra, sarı safra ve balgam olmak üzere vücutta bulunan dört sıvının denge hali olarak tanımlamış ve bu sıvılardaki eksiklik ya da fazlalığın hastalıklara neden olduğunu belirtmiştir. Bu sıvılardaki fazlalığın obeziteye neden olduğunu ayrıca obezitenin infertiliteye yol açtığını bildiren ilk bilim insanı Hipokrat’tır (53, 54). Daha



sonra 1831-1832 yılları arasında Belçikalı bilim insanı Adolphe Quetelet insan gelişimiyle alakalı kesitsel bir çalışma yapmış, bu çalışma sonucunda bebeklerde ilk bir sene boyunca kilonun boyun üçüncü kuvveti kadar arttığını daha sonra puberteye kadar kilonun boyun karesi kadar arttığını rapor etmiştir. Quetelet'in 1835'te yayınladığı "İnsan ve İnsanın Yeteneklerinin Gelişimi Üzerine Bir Tez" adlı kitabında kişinin ağırlığının boyunun metre cinsinden karesine bölünerek elde edilen antropometrik ölçüme göre kilo sınıflandırması yapılabileceğini belirtmiştir. Bu ölçüm literatüre Quetelet Index olarak geçmiştir ve günümüzde de Beden Kitle İndeksi (BKİ) bu yöntemle ölçülmektedir (55). DSÖ'ya göre günümüzde kullanılan BKİ sınıflandırması tablo 2.1'de gösterilmiştir.



**Tablo 2.1.** Beden-Kitle İndeksi Sınıflandırması (55)

Beden Kitle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )		
Sınıflandırma	Referans Aralığı	Ek Referans Aralığı
Zayıflık	<18.50	<18.5
Aşırı Düzeyde Zayıflık	<16.00	<16.00
Orta Düzeyde Zayıflık	16.00-16.99	16.00-16.99
Hafif Düzeyde Zayıflık	17.00-18.49	17.00-18.49
Normal	18.50-24.99	18.50-22.99
		23.00-24.99
Fazla Kilolu	≥25.00	≥25.00
		25.00-27.49
Erken Dönem Obezite	25.00-29.99	27.50-29.99
		≥30.00
1. Dereceden Obezite	30.00-34.99	30.00-32.49
		32.50-34.99
		35.00-37.49
2. Dereceden Obezite	35.00-39.99	37.50-39.99
		≥40.00
3. Dereceden Obezite	≥40.00	≥40.00

Obezitenin kişinin sadece dış görünüşünde bozukluklara yol açmakla kalmadığı aynı zamanda morbidite ve mortaliteyi de arttırdığı ortaya konulmuştur (59). Obezitenin yol açtığı sekonder rahatsızlıkların arasında; infertilite, lipoprotein-lipit metabolizma bozuklukları, tip 2 diyabet, koroner kalp hastalıkları, yüksek kolesterol, karaciğer

problemleri, uyku bozuklukları, respiratuvar problemler, safra taşı, pankreatit, gastroözofagal reflü, osteoartrit ve kanser gibi metabolik hastalıklarla birlikte kas-iskelet sistemini etkileyen mekanik problemlerin de görüldüğü bildirilmiştir (56-59). Viseral obezite hiperglisemi, hipertansiyon ve dislipidemi gibi metabolik sendromların yanında tip 2 diyabete neden olan insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıkların temel sebebi olduğu öne sürülmüştür (58-59). Bütün bunların yanında obez olan bireylerin mekanik problemleri nedeniyle daha sedanter bir yaşam tarzına eğilim göstererek toplumdan soyutlandıkları ve sonuç olarak sosyopsikolojik problemlerle karşılaştıkları (56, 58, 59), bütün bu problemlerle birlikte yaşam sürelerinin 5 ile 10 yıl arasında azaldığı ortaya konulmuştur (59, 60).

Çocukluk çağında görülen obezitenin büyümeyi ve cinsiyet gelişimini etkilediği; erkek çocuklarda puberteyi geciktirirken kız çocuklarda pubertenin daha erken görülmesine neden olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca kız çocuklarında görülen hiperandrogenizm ve polikistik over sendromlarıyla çocukluk çağı obezitesi arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmiştir (61). Bütün bunlarla birlikte obezitenin genç popülasyonda dikkat dağınıklığı, hiperaktivite bozukluğu, anksiyete, depresyon, özgüven eksikliği ve uyku problemlerine neden olduğu belirtilmiştir (62).

Günümüzde obezitenin altında yatan asıl sebebin ne olduğu hala bilinmemektedir. Ancak birkaç teoriyle bu konuya açıklık getirilmek istenilmiştir. Bu teorilerden en yaygın olanı obeziteye insanlık tarihi süresince açlık ve kıtlık dönemlerinde evrimleşen tutumlu genlerin neden olduğu yönündedir (3). Ancak Levian ve arkadaşları genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin de obezite üzerinde etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (3). Buna karşı Hovarth ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre hipotalamus başta olmak üzere beyinde bulunan metabolizma üzerinde etkili olan dokuların ısı kontrolünün obezitenin de kontrol altına alınmasını sağlayan ve invaziv olmayan tek yöntem olduğu belirtilmiştir (3).

## **2.6. Nöropeptid Y (NPY)**

NPY 36 aminoasitten oluşan ve memelilerin beyinde geniş bir dağılım alanı gösteren, santral ve periferik sinir sistemini düzenleyen önemli bir oreksijenik nöropeptittir (63). Merkezi sinir sisteminde hipotalamus, serebral korteks ve beyin sapında tespit edilmekle birlikte ARC'de daha çok bulunduğu ve sempatik sinir sisteminde de adrenal bezlerde nöradrenalinle birlikte depolanıp salındığı bildirilmiştir (64). Periferik dokularda beyaz yağ doku ve özellikle osteoblastlarda olmak üzere

kemik dokuda bulunduğu ayrıca bu kısımlarda enerji metabolizmasını düzenlediği bunun dışında bağırsak motilitesi, pankreas ve safra sekresyonu üzerinde de etkileri olduğu belirtilmiştir (64, 65). Altı adet G protein çiftli reseptörü bulunmaktadır ve bu reseptörler 1'den 6'ya kadar (Y1, Y2, Y3, Y4, Y5 ve Y6) numaralandırılmıştır (64).

NPY besin alımını artırma ve enerjiyi yağ olarak depolama görevleri dışında sirkadiyen ritim üzerinde ve ağrı duyusunu, anksiyete ve stresi azaltmada da rol oynamaktadır (66).

Yapılan çalışmalarda intraserebral NPY infüzyonunun besin alımını arttırdığı görülmekle birlikte NPY nöronları inhibe edilen hayvanların normal bir büyüme eğrisi gösterdiği gözlenmiştir ancak uzun süreli açlık sonrası vücut ağırlıklarını ya geç kazandıkları ya da hiç kazanamadıkları da belirtilmiştir (67-68). Diyet kaynaklı obeziteye yatkın olan *Sprague Dawley* sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ARC ve NPY seviyelerinin obezite öncesinde ve obezite sonrasındaki kısa dönemde yüksekken uzun dönemde düştüğü, bu durumun bir sonucu olarak genetik yatkınlığın yüksek kalorili beslenme sonucu NPY sistem üzerinde etkili olabileceği öne sürülmüştür (69). İmmünohistokimyasal çalışmalar sonucunda NPY'nin leptin yolaklarını inhibe ettiği için hiperfajiye ve sonuç olarak obeziteye neden olduğu bildirilmiştir (70).

## 2.7. Aguti İlişkili Protein (AgRP)

AgRP, 1997'de keşfedilen yoğun olarak ARC'de NPY'nin sentezlendiği nöron gruplarında ve adrenal bezlerde; düşük seviyelerde de testis, akciğer ve karaciğerde ifade edilen oreksijenik bir peptittir (71-73). AgRP; PVN, DMN ve mediyal preoptik alana (MPO) enjekte edildiğinde beslenmeyi arttırdığı gözlenmiş ve bu nedenle temel olarak etki ettiği hipotalamik nükleusların PVN, DMN ve MPO olduğu ileri sürülmüştür (74). 3. ve 4. melanokortin reseptörlerine (MCR-3 ve MCR-4) bağlanmasından yola çıkılarak POMC ile ortak yolakta etki ettiği ileri sürülmüştür (75). Ayrıca leptin yoksunu ya da leptin dirençli farelerde AgRP seviyesindeki artıştan yola çıkılarak da AgRP'nin leptin hormonunun baskılanmasına yol açtığı belirtilmiştir (76). Bunun yanında merkezi olarak verilen ghrelinin hipotalamusta AgRP mRNA sentezini arttırdığı, ghrelinin aksine NPY ailesine ait olan PYY<sub>3-36</sub>'nın NPY/AgRP nöronlarını kısmen inhibe ederek besin alımını kısıtladığı öne sürülmüştür (77-79). AgRP'nin MCR-3 ve MCR-4'e bağlanarak  $\alpha$ -MSH'ın antagonisti olarak görev aldığı ve beslenmeyi arttırdığı ortaya konulmuştur (42, 80). Farelere intraserebroventriküler olarak verilen AgRP'nin oksijen tüketimini azalttığı bildirilmiştir (81). Qian ve

ark.'larının yaptığı çalışmayla AgRP geni tamamen yok edilen farelerde beklenilen aksine büyüme hızının, doğurganlığın ve vücut görünümünün normal olduğu sonuç olarak enerji homeostazisinin düzenlenmesi için AgRP'nin gerekli olmadığı ileri sürülmüştür (82).

AgRP'nin oreksijenik etki mekanizması iki ayrı görüşle açıklanmaktadır. Bu görüşlerden ilki AgRP'nin LHA'da bulunan oreksin nöronlarını uyararak besin alımını arttırdığı yönündedir (83). İkinci görüşe göre ise POMC nöronlarına ait akson terminallerinde  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) ile birlikte AgRP nöronlarından sentezlenen NPY'nin yer aldığı ve NPY/AgRP nöronlarının inhibe edilmesiyle birlikte GABA salınımının da inhibe edilerek POMC'nin etkisini arttırdığı ve besin alımını azalttığı öne sürülmüştür (84).

## 2.8. Proopiomelanokortin (POMC)

POMC; opioid/orfanin gen ailesine dahil olan ve serbest aminoasit ucunda melanosit uyarıcı hormonlar ( $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -MSH ve  $\gamma$ -MSH), merkezde adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve serbest karboksil ucunda opioid  $\beta$ -endorfinin bulunduğu peptid yapılı birçok hormonun öncülüdür (85, 86). Yapılan çalışmalarda POMC'nin merkezi sinir sisteminde hipofizin ön ve orta loblarındaki kortikotrop ve melanotrop dokularla birlikte arkuat nükleustaki peptiderjik nöronlar başta olmak üzere bağırsak ve pankreasta sentezlendiği belirtilmiştir (87-89). Bunun yanında POMC peptidinin hipofiz dokusu dışında düşük seviyelerde pankreas, mide, apandis, böbrek, prostat, adipoz doku, deri, iskelet kası, lenf düğümü, testis, ovaryum, plasenta, akciğer, karaciğer, tiroid ve adrenal dokularında görüldüğü rapor edilmiştir (90). Merkezi sinir sisteminde POMC üretiminin leptin tarafından uyarıldığı ve dokuya özgü bir post translasyon süreci gösterdiği belirtilmiştir (91). Ön hipofizdeki kortikotrop dokuda prohormon konvertaz 1 (PC1) ile pro- $\gamma$ -MSH, ACTH ve  $\beta$ -lipoprotein olarak ayrılırken pars intermediadaki melanotrop dokuda PC1 ve PC2 ile  $\alpha$ -MSH ve  $\beta$ -endorfine ayrıldığı ortaya konulmuştur (91).

Leptin hormonunun hipotalamusta bulunan arkuat nükleustaki POMC nöronlarını direkt olarak hedef aldığı ve POMC seviyesini düzenlediği bildirilmiştir (92). Bu nöronların uyarılmasıyla yiyecek alımının azaldığı ve enerji tüketiminin arttığı ortaya konulmuştur (42). POMC nöronlarından salgılanan  $\alpha$ -MSH'ın paraventriküler çekirdekte bulunan beş çeşit melanokortin reseptöründen (MCR) özellikle besin alımı ve enerji dengesi üzerinde etkili olan MCR-3 ve MCR-4'e etki ettiği belirtilmiştir (42).

$\alpha$ -MSH'nin nukleus traktus solitaryusa (NTS) ulaşan sinir yollarını aktive eden paraventriküler çekirdekdeki MCR-3 ve MCR-4'ü uyararak sempatik aktiviteyi ve enerji tüketimini arttırdığı bildirilmiştir (42). Ayrıca adipoz dokudan salgılanan leptinin anoreksijenik ve metabolik etkisini kısmen  $\alpha$ -MSH aracılığı ile MCR-4'ü aktifleştirerek ortaya çıkardığı belirtilmiştir (93).

MCR-4, MC4R geninin kodladığı predominant nöronal melanokortin reseptörü olarak 7 transmembran bölgeyi bir G proteini ile eşleşen reseptördür (42). Bu reseptörün POMC'nin PC1'e bağımlı kesimi ile ortaya çıkan bir melanokortin olan  $\alpha$ -MSH ile aktivasyonunun hipofajiyi indüklediği bildirilmiştir (80). MCR-4'te görülen mutasyonların ise kalıtsal obeziteye neden olduğu belirtilmiştir (94).

POMC yoksunluğunun hipokortizolemiye, hiperfajiye, hiperfajiye bağlı olarak erken başlangıçlı ciddi obeziteye ve fenotipte solgun cilt ve kızıl saç görünümüne neden olduğu rapor edilmiştir (95). Hipokortizoleminin, ACTH yoksunluğuna bağlı olarak; hiperfajinin ise azalmış hipotalamik melanokortinerjik sinyal nedeniyle ortaya çıktığı, bunun yanında tipik fenotipin ise deri ve saç foliküllerinde bulunan melanositlerdeki MCR-1'de azalmış olan sinyale bağlı olarak görüldüğü bildirilmiştir (95-98). POMC yoksunluğu olduğu halde kızıl saça sahip olmayan bir Türk çocuk rapor edilmiştir ve buna bağlı olarak kişinin etnik kökeninin kızıl saç engelleyebileceği bildirilmiştir (95).

## **2.9. Kokain-Amfetamin Düzenleyici Transkript (CART)**

Yaklaşık 2 kb uzunluğunda ve 340 nükleotitten oluşan 1 ekson ve 2 intron içeren CART geninden sentezlenen CART peptidi 1995'te Douglass ve ark.'ları tarafından keşfedilmiştir (99). Sıçanlarda 116 ve 129 aminoasitten oluşan uzun ve kısa formdaki iki çeşit CART peptidinin sentezlendiği ancak insanlarda sadece kısa formda CART<sub>(1-89)</sub> sentezlendiği bildirilmiştir (99, 100). Uzun olan proCART'ın, CART<sub>(30-102)</sub> ile CART<sub>(55-102)</sub> ve CART<sub>(62-102)</sub> formlarının öncülü olduğu belirtilmiştir (100). İnsanda bulunan CART<sub>(42-89)</sub>'ın sıçanlardaki CART<sub>(35-102)</sub>'a tekabül ettiği öne sürülmüştür (99). Merkezi sinir sistemindeki CART'ın transkripsiyonel etkinliğinin katekolaminerjik olduğu ve kortikotropin salgılatıcı faktörün (CRF) CART salınımını arttırırken CRF seçici antagonisti ve protein kinaz A (PKA)'nın inhibe ettiği bildirilmiştir (101-103).

CART peptitlerinin POMC salgılayan nöronlardan salgılandığı ve  $\alpha$ -MSH ile birlikte besin alımını azaltmasının yanında enerji tüketimini arttırdığı ortaya konulmuştur (104, 105). CART peptitlerinin merkezi sinir sisteminde hipotalamusta bulunan LHA, ARC, VMN, DMN, PVN ve perifornikal alanların yanında hipofiz

bezinden ve bağırsaklarda, böbreküstü bezlerinden ve pankreasta yer alan Langerhans adacıklarıyla birlikte diğer endokrin dokulardan salgılandığı belirtilmiştir (98, 106, 107) PVN'de CART mRNA'nın vazopressin ve CRF salgılayan nöronlarda yer aldığı buna karşın Langerhans adacıklarında bulunan CART peptidinin fonksiyonunun hala belirlenemediği öne sürülmüştür (106, 108) Bunun yanında CART peptidinin *locus coeruleusta* nörepinefrinle, bağırsaklarda asetil kolinle, LHA'da melanin yoğunlaştırıcı hormon, mediyal hipotalamik bölgede POMC, hipotalamusta oksitosin ve vazopressinle birlikte bulunduğu tespit edilmiştir (109-111). Tüm bu bilgilere karşın CART peptidine ait bir reseptör türü ya da türleri henüz tam olarak bilinmemektedir (98). Ancak hipokampal bölgeye verilen CART<sub>(55-102)</sub>'ın hücre içi kalsiyum sinyalleşmesini engellediği ve bu sinyalleşme olayında G protein reseptörlerinin yer alması nedeniyle CART'ın G protein reseptörleri ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (112, 113)

CART<sub>(55-102)</sub>'ın mide boşalmasını ve gastrik asit salgısını inhibe ettiği bunun yanında icv olarak verilen CART mRNA'nın obez sıçanlarda ağırlık artışını azalttığı bildirilmiştir (114, 115). Bunun yanında leptin sinyalizasyonu ve CART mRNA sentezi engellenen obez hayvanlara periferik olarak verilen leptinin CART mRNA sentezini uyardığı rapor edilmiştir (116-118). Bu bilgiden yola çıkılarak leptin salgılanması ve CART sentezinin birbirleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (116, 119)

## 2.10. Leptin Hormonu

Leptin hormonu 1994 yılında Zhang ve ark.'ları tarafından keşfedilmiş ve Yunanca kökenli "leptos" yani ince kelimesinden köken alarak adlandırılan leptin yağ eriten hormon olarak literatürde yerini almıştır. Aynı çalışmada 166 aminoasitten oluşan leptin hormonunu üreten insan obez geni (OB) tanımlanmıştır (120, 121). OB'nin 7. kromozomda 7q31.3 'te 18 kb büyüklüğünde 3 ekson ve 2 introndan oluştuğu ve sadece bir OB mRNA türünün insan yağ dokusunda bulunduğu bildirilmiştir (121, 122). Leptin hormonunun büyük çoğunlukla yağ dokudan salgılandığı ancak mide, plasenta, kalp dokuları ve memeli epitel dokusunda da bulunduğu bildirilmiştir (123-126). Leptin reseptörü (Ob-R) 1995 yılında keşfedilmiştir (123). Çoğunlukla koroid pleksus ve hipotalamusta yer almakla birlikte insanda damar düzeninde, mide ve plasantada; farelerde beyin, kalp, testis ve yağ dokuda bulunduğu ortaya konulmuştur (123, 127-129).

Leptinin yağ doku ve beyin arasında köprü görevi üstlendiği, yeme davranışı, metabolizma, enerji dengesi ve otonom sinir sistemini düzenleyerek vücuttaki yağ

kitlesi hakkında beyne bilgi iletimini sağladığı bildirilmiştir (130, 131). Leptinin salgılandıktan sonra hipotalamustaki oreksijenik (NPY, MCH, AgRP, galanin, ve GALP) ya da anoreksijenik (POMC, CART, CRH ve beyin türevli nörotrafik faktör-BDNF) nöropeptidlerin salınımını sağladığı belirtilmiştir (132-135). Mutasyonlu obez farelerde leptin seviyesindeki düşüklüğün NPY seviyesinde artışa neden olduğu ancak leptinin bu farelerde hiperglisemi ve hiperinsülinemiye engellediği belirtilmiş ve leptinin temel görevlerinden birinin hipotalamik NPY üretimini ve salınımını engellemek olduğu rapor edilmiştir (136-140). Serum leptin seviyesinin normal kilolu bireylerde 5 ng/ml iken vücuttaki yağ kütlesi arttıkça leptin seviyesi de artış göstererek obez bireylerde bu değerin 50 ng/ml'ye kadar çıktığı ortaya konulmuştur (141, 142). Zayıf bireylerde leptinin hücrelere bağlandığından dolayı düşük seviyelerde görüldüğü ancak obez bireylerde leptin üretiminde sorun gözlenmemesine rağmen dolaşımda bulunan serbest leptin seviyesinin fazla olmasının nedeni olarak obez bireylerde zamanla leptin direncinin gelişmesi öne sürülmüştür (127, 138). Leptinin FSH, LH, ACTH, GH ve kortizol salınımını etkilediği aynı zamanda mideden salgılanan leptinin porsiyon kontrolünü sağladığı ve ince bağırsaktan salgılanan gastrin leptinin besin sidirimine ve emilimine yardımcı olduğu rapor edilmiştir (125, 143-145).

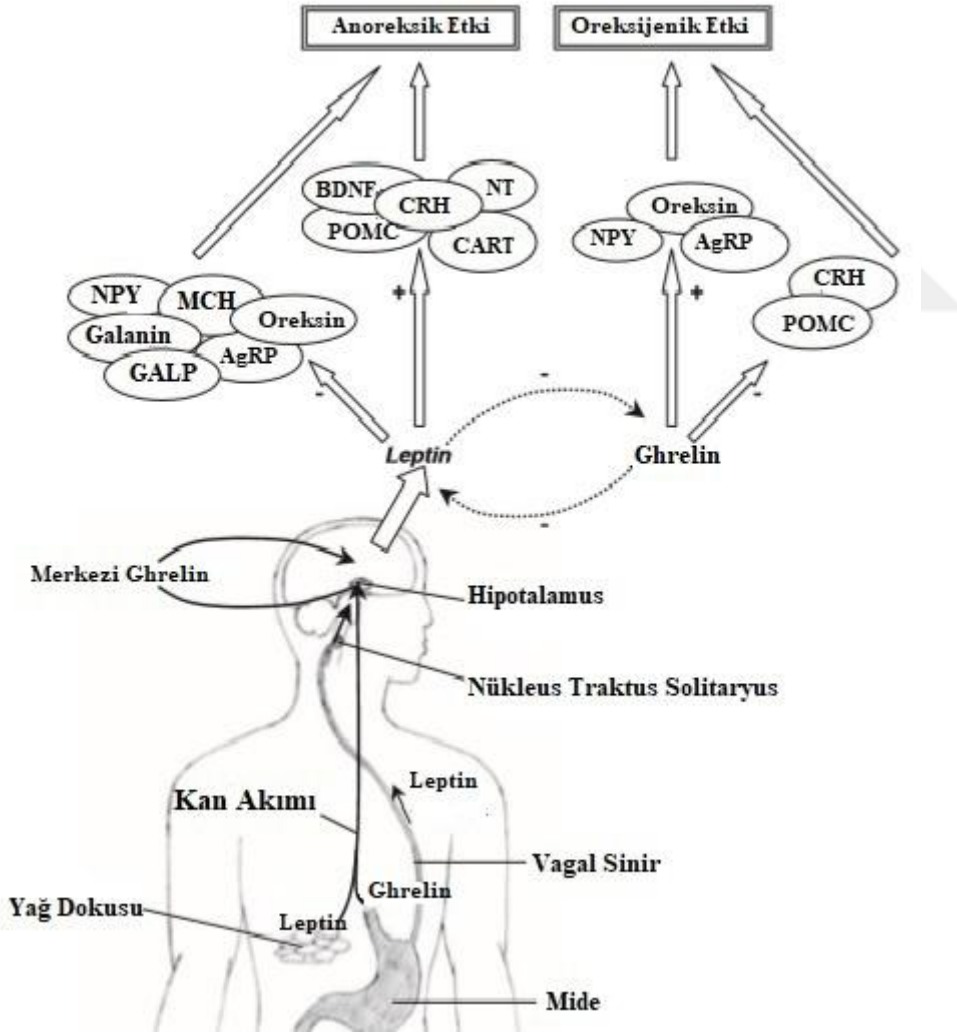
### **2.11. Ghrelin Hormonu**

İlk olarak 1999'da Masayasu ve ark. tarafından keşfedilen ghrelin 3. serin yan zincirinde N-oktanoik asit bulundurarak kendine özgü bir yapıya sahip 28 aminoasitten oluşan peptid yapıda bir hormondur. Büyüme hormonunun salgılanmasını sağladığından dolayı Latince "ghre" kelimesinden köken almıştır ve büyüme anlamına gelmektedir. Ghrelinin büyüme hormonu sekretagog reseptörüne (GHS-R) bağlandığı ileri sürülmüştür (146-148). Cowley ve ark.'nın yaptığı çalışmayla ghrelinin fare ve sıçanlarda LHA, ARC, VMN, DMN, PVN ve 3. ventrikülün ependimal tabakasında, beyin dokusunda ise akson terminallerinde, stria terminaliste, amigdalada, talamus ve nükleus habenulada bulunduğu ortaya konulmuştur (149). Ghrelinin vagus sinirini ve beyin sapı çekirdeklerini uyarak ARC'ye etki ettiği belirtilmiştir (150, 151).

Ghrelinin lokal gastrin dolaşıma salınarak kanda %5 oranında asilat ve %95 oranında deasil olmak üzere iki şekilde taşındığı ve kan-beyin bariyerini geçerek beyne ulaştığı rapor edilmiştir (150, 152). Ghrelinin 8 karbonlu yağ asidiyle asile olduğu ve bu olayın girelin O-asiltransferaz (GOAT) enzimiyle gerçekleştiği, bunun yanında deasile ghrelinin direkt olarak endokrin etkisi olmadığı gibi büyüme hormonunun



salgılanmasında herhangi bir etkisinin bulunmadığı ortaya konulmuştur (146, 147, 153, 154). Ghrelinin büyüme hormonunun salgılanmasını uyarmak dışında kortikotrop ve laktotrop salgılanması, iştahın gonadal uyarımının engellenmesi, gastrik motilitenin kontrolü, endokrin ve ekzokrin pankreatik fonksiyon, kardiyovasküler olaylar, uyku ve davranış, immün sistem ve hücre çoğalması üzerinde etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (155). Ghrelinin kahverengi yağ dokusunda termogenezi azalttığı, hipotalamus dışındaki dokularda tat duyusunun algılanmasını arttırdığı ve gastrik boşaltım ve motilitayı uyardığı bildirilmiştir (156-161). Ghrelin ve leptin hormonlarının hipotalamusu etkileyerek yol açtıkları iştahın açılması ya da baskılanması durumu şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Leptin ve Ghrelinin Hipotalamus Üzerindeki Etkileri (6)

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Araştırmanın Yapılacağı Merkez

Çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan onay ile (22.03.2019 tarih ve 2018/A-51 protokol numaralı), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ve Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.2. Gruplardaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi

Deneilerde kullanılacak hayvan sayısı, gruplar arası en büyük tahmini vücut ağırlık ortalaması farkı 10 gr, standart sapması 10 gr, tip 1 hata ( $\alpha$ ) 0.05 ve tip 2 hata ( $\beta$ ) (Güç= 0.80) ve grup sayısı 4 olduğunda; her bir grupta en az 10 hayvanın gerektiği güç analiziyle belirlendi (Minitab for Windows, 16.2.0).

#### 3.3. Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması

Çalışmada ortalama ağırlığı 30-50 gr olan *Wistar Albino* cinsi 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Bütün sıçanlar uygulama öncesi tartılarak ağırlık ortalamaları birbirine yakın olanlar bir grupta olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Bütün gruplardaki sıçanlar yüksek yağlı diyet yemiyle (Research Diet 12451,YYDY) ile 12 hafta boyunca *ad libitum* olarak beslendi ve musluk suyu içti. Özetle gruplara yapılan işlem ve araştırma planı Şekil 3.1 'de sunulmuştur.

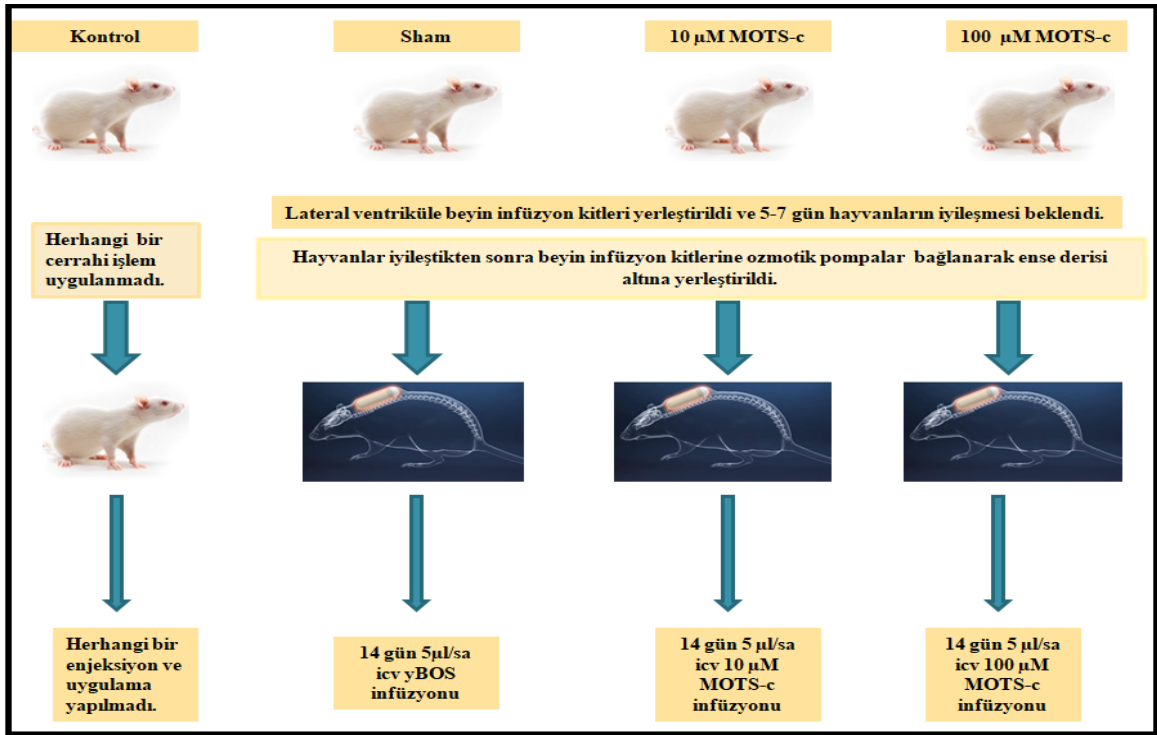
**1. Grup:** Kontrol grubu olarak belirlenen gruba herhangi bir uygulama yapılmadı. Deney boyunca günlük yem ve su tüketimleriyle birlikte vücut ağırlıkları kaydedildi. Deney sonunda dekapite edilerek kan ve beyin dokuları toplandı.

**2. Grup:** Sham grubu olan bu gruptaki sıçanların 17 hafta boyunca yem ve su tüketimlerinin yanında vücut ağırlıkları ölçüldü. 15. haftada hayvanların lateral ventriküllerine ozmotik mini pompalar (Alzet 2ML2) yerleştirilerek 14 gün boyunca günlük 120  $\mu$ l (5  $\mu$ l/sa) yapay beyin-omurilik sıvısı (yBOS) uygulandı. Bu süre boyunca da günlük yem ve su tüketimiyle birlikte vücut ağırlıkları ölçüldü. 14 günlük uygulamanın ardından sıçanlar dekapite edilerek kan ve beyin dokusu örnekleri toplandı.

**3. Grup:** 10  $\mu$ M MOTS-c uygulama yapılan sıçanlar 17 hafta boyunca YYDY ile beslendi ve yem, su tüketimi ve vücut ağırlıkları ölçüldü. 15 haftanın sonunda ozmotik mini pompalar sıçanların lateral ventriküllerine yerleştirildi ve 14 gün boyunca günlük 120  $\mu$ l MOTS-c 5 $\mu$ l/sa olacak şekilde uygulandı. Bu süreçte sıçanların günlük yem ve su tüketimleriyle birlikte vücut ağırlıkları ölçüldü ve sürecin sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve beyin dokusu örnekleri alındı.

**4. Grup:** 100  $\mu$ M MOTS-c uygulama yapılan bu gruptaki sıçanlar da 17 hafta boyunca YYDY ile beslenerek günlük yem ve su tüketimleriyle birlikte vücut ağırlıkları ölçüldü. 15. haftanın sonunda hayvanların lateral ventriküllerine ozmotik mini pompalar yerleştirilerek günlük 120  $\mu$ l MOTS-c 5 $\mu$ l/sa infüzyon olacak şekilde uygulandı. İnfüzyon süresi boyunca sıçanların günlük yem ve su tüketimleriyle birlikte vücut ağırlıkları kaydedildi, bu sürenin sonunda hayvanlar dekapite edilerek kan ve beyin dokusu örnekleri alındı.

Deney süreci şekil 3.1’de sunulmuştur. Deney boyunca sıçanlar tekli kafeslerde  $21\pm 1^\circ\text{C}$  ortam sıcaklığında ve 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda barındırıldı. Bütün hayvanların günlük yem tüketimleri ve vücut ağırlıkları her gün saat 9.00-10.00 arasında kaydedildi.



Şekil 3.1. Araştırma Planı

### 3.4. Lee İndeksi ile Skorlama

İnsanlarda obezite sınıflandırması BKİ hesaplamasına göre yapılırken kemirgenlerle yapılan çalışmalarda hayvanların obezite sınıflandırması Lee İndeks'e göre yapılmaktadır. Lee İndeks'e göre hayvanın vücut ağırlığının (gr) küp kökü, naso-anal uzunluğa (mm) bölünür ve 10 ile çarpılır. Çıkan sonuç 0.3'ten büyükse hayvanın obez olduğuna karar verilir (162). Deney kapsamında yapılan nazo-anal uzunluk ölçümleri Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Lee İndeks Hesaplaması için Nazo-anal Uzunluk Ölçümü

Çalışma kapsamında gruptaki hayvanların lee indeksi skorlamalarının 0.3'ten büyük olduğu ve tüm gruptaki sıçanların obez olduğu tespit edildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Gruptaki Hayvanların Lee İndeksi Değerleri (p> 0.05)

Kontrol	Sham	10µM MOTS-c	100µM MOTS-c
0.399±0.022	0.385±0.041	0.391±0.032	0.393±0.035

### 3.5. Uygulanacak MOTS-c Dozunun Belirlenmesi

Çalışmada literatürde yoğun olarak kullanılan 10 µM ve 100 µM konsantrasyona sahip MOTS-c infüzyonu yapıldı. Düşük doz uygulamasıyla MOST-c'nin fizyolojik konsantrasyonunun, yüksek doz uygulamasıyla MOTS-c'nin farmakolojik konsantrasyonunun etkisi incelendi.

### **3.6. Hazırlık**

#### **3.6.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının Hazırlanması ve Uygulanması**

Yapay beyin omurilik sıvısı (BOS) iki farklı solüsyonun (A ve B), 1:1 (v/v) oranda karıştırılmasıyla elde edildi. A solüsyonu; 8.66 gr NaCl, 0.224 gr KCl, 0.206 gr CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 0.163 gr MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500 ml distile suda karıştırılarak hazırlandı. B solüsyonu ise 0.214 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 0.027 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500 ml distile suda karıştırılarak hazırlandı (163). Elde edilen çözelti por çapı 0.22 µm olan filtre kullanılarak süzüldü daha sonra biyolojik emniyet kabini içerisinde UV-C ışın uygulanarak sterilize edildi.

#### **3.6.2. MOTS-c Konsantrasyonlarının Hazırlanması ve Uygulanması**

MOTS-c konsantrasyonları steril şartlarda yapay BOS içerisinde 10 ve 100 µM olacak şekilde hazırlandı. Düşük ve yüksek doz uygulanan gruplardaki sıçanların lateral ventriküllerine 14 gün boyunca 10 ve 100 µM derişimdeki MOTS-c'nin 5 µl/sa hacminde infüzyonu sağlandı.

#### **3.6.3. Ozmotik Mini Pompaların Hazırlanması**

Deneyde kullanılan mini pompalar (Alzet 2ML2, ABD) 14 gün süreyle 5 µl/sa intraserebroventriküler infüzyon yapma özelliğine sahip olup ozmotik pompa setinde bulunan iğneyle sham grubu için yBOS, deney grupları için ise 10 µM ve 100 µM MOTS-c pompalara dolduruldu ve pompalar metal kanüllü kapak parçası yerleştirilerek infüzyon kitine bağlandı.

#### **3.6.4. Beyin İnfüzyon Kitlerinin Hazırlanması**

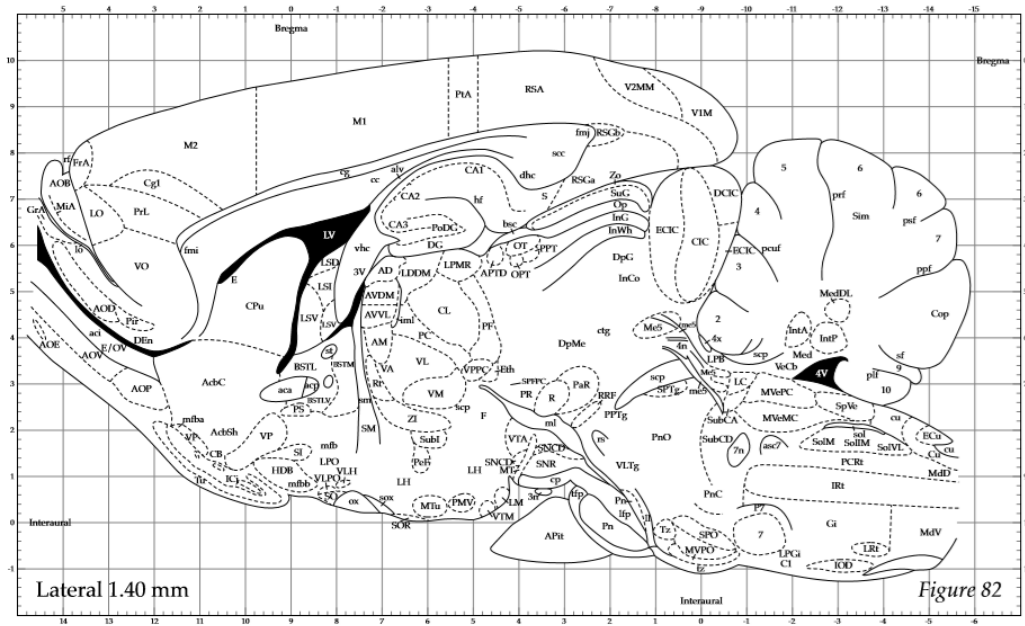
Çalışma için sıçan lateral ventrikülüne enjeksiyon yapacak şekilde dizayn edilen beyin infüzyon kitleri (Alzet, ABD) kullanıldı. Kitin içinde bulunan özel kanüller beyin infüzyon kitlerine takıldı ve hava kabarcığı kalmayacak şekilde sham grubu için yBOS, deney grupları için 10 µM ve 100 µM MOTS-c ile dolduruldu. Protokole göre hazırlanan kit ve kanüller, kanüllerin serbest uçlarından ozmotik pompayla bağlandı.

#### **3.6.5. Operasyon Aşamaları**

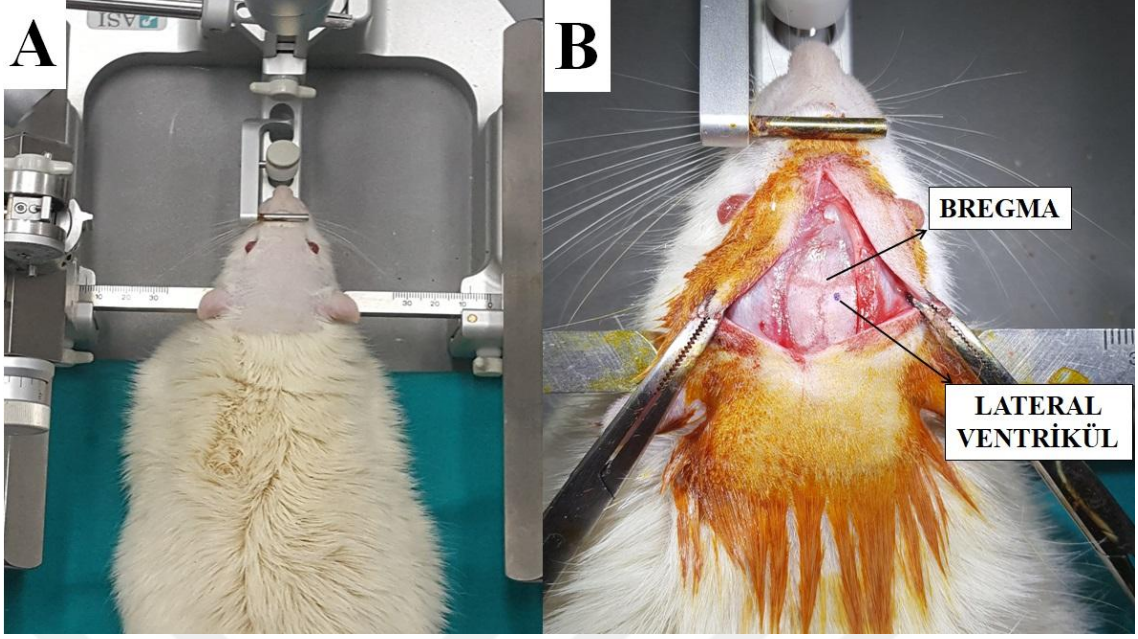
**Hayvanların Operasyona Hazırlanması:** Kontrol grubuna dahil edilen sıçanlara hiçbir cerrahi girişimde bulunulmadı. Diğer sıçanlara anestezik ajan olarak 70 mg/kg Ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya) ve 8 mg/kg Xylazine (Alfazine,

Hollanda) intramusküler enjeksiyon yapılarak uygulandı. Sıçanlara parmak kısırtma testi uygulanarak fizyolojik yanıtları izlendi ve anestezi etkisine giren sıçanlar kafa derileri tıraşlanarak operasyona hazır hale getirildi.

**Sıçanların Stereotaksik Cihaza Yerleştirilmesi:** Hayvanlar stereotaksik cihaza (Rodent Stereotaxic Instruments, Harvard Apparatus, ABD) kulaklarından ve ağız kısmından kafasının yüzeyi yere tam paralel olacak şekilde sabitlendi (Şekil 3.4A) ve tıraşlanan bölge %10 povidon iyodin sürülerek dezenfekte edilmek suretiyle yaklaşık 2.5 cm uzunluğunda bistüriyle sagittal insizyonla kafatasına ulaşıldıktan sonra bregmanın net bir şekilde ortaya çıkmasını sağlamak için kemik yüzeyi temizlendi. Patsinos & Watson Sıçan Beyin Atlası'na göre sıçanların lateral ventriküllerine ait stereotaksik koordinatları (Şekil 3.3), bregma referans noktası alınarak 1.40 mm lateral, 0.8 mm kaudal ve 4.8 mm vertikalde kalan nokta lateral ventrikül olarak belirlenerek işaretlendi (Şekil 3.4B) ve kafatası duraya zarar vermeden matkapla delindi (164).

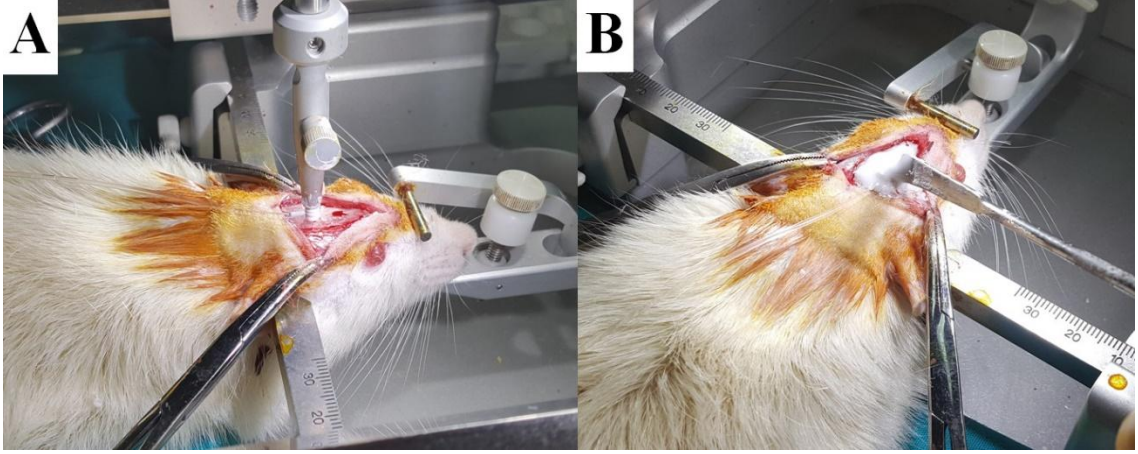


Şekil 3.3. Sıçan beyin atlasında yer alan lateral ventrikül koordinatları (164)



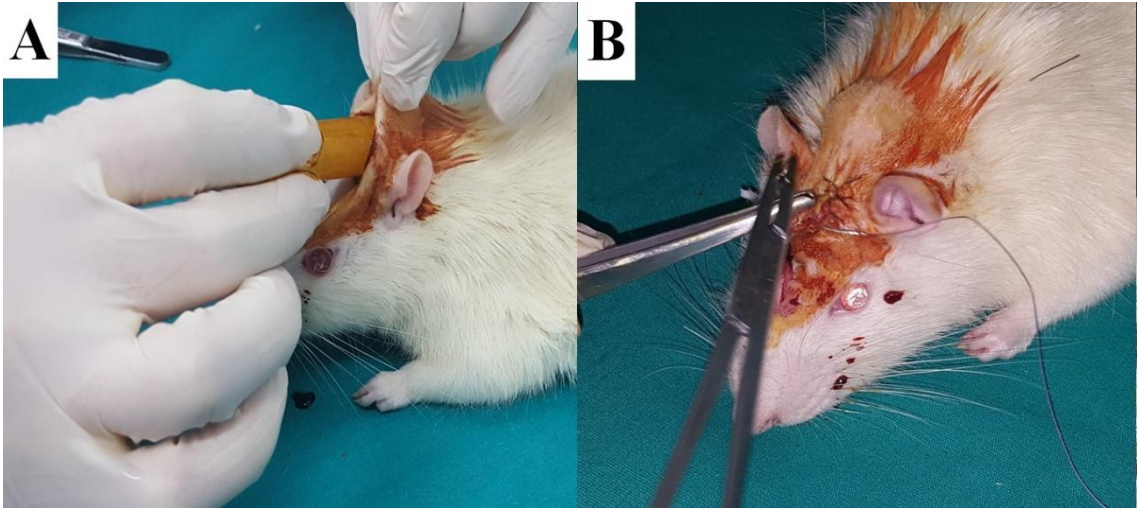
**Şekil 3.4.** Sıçanların stereotaksik cihaza yerleştirilmesi (A) ve lateral ventrikül koordinatlarının belirlenmesi (B)

Alzet pompaya bağlanacak olan beyin infüzyon kitlerine ait L şeklindeki kanüller, stereotaksik cihaz üzerindeki özel elektrot tutacağına takıldı ve açılan delikten lateral ventriküle indirildi (Şekil 3.5A). Daha sonra beyin infüzyon kitlerine ait kanüller uzun kısım caudale paralel olacak şekilde akrilik solventle karıştırılan dental sement vasıtasıyla kafatasına sabitlendi ve yaklaşık 4 dk kuruması beklendi. Daha sonra beyin infüzyon kiti üzerinde yer alan özel Alzet tutacağına bağlanan kısım kesildi ve üstüne tekrar dental sement sürülerek düzeltildi (Şekil 3.5B). Daha sonra kesi yeri dikilerek kapatıldı. Operasyon sonrası tekli kafeslere alınan hayvanların günlük olarak vücut ağırlıkları, yem ve su tüketimleri kaydedildi.



**Şekil 3.5.** Beyin infüzyon kitine ait kanülün lateral ventriküle indirilmesi (A) ve kanülün dental sementle kafatasına sabitlenmesi (B).

Bir haftalık iyileşme sürecine tabi tutulan sıçanlar tekrar anestezi altına alınarak operasyona alındı ve ozmotik mini pompalar beyin infüzyon kitlerine bağlanarak sıçanların ense derisinin altına, kafa derisinde açılan insizyon vasıtasıyla, midskapular alana yerleştirildi (Şekil 3.6A). İnsizyon bölgesi 3.0 ipek (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş. Trabzon/ Türkiye) ile dikildi ve insizyon bölgesine %10 povidon iyodin sürülerek dezenfekte edildi (Şekil 3.6B).



**Şekil 3.6.** Osmotik mini pompaların deri altına yerleştirilmesi (A) ve insizyon bölgesinin dikilmesi (B).



Hayvanlar anestezi etkisini yitirdikten sonra tekli kafeslere alındı. 14 gün boyunca yem ve su tüketim miktarıyla birlikte vücut ağırlıklarındaki değişiklikler her gün saat 09.00-10.00 arasında kaydedildi.

### **3.6.6. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması**

Hayvanlar dekapite edilirken kanüllerin lateral ventrikülde olduğunun doğrulanması için kanüller kesilerek metilen mavisi enjekte edildi.

Deney sonrası tüm gruplardan beyin ve kan örnekleri alındı. Sıçanların beyin dokuları kafatasından çıkarılarak sagittal olarak ikiye ayrıldı ve hipotalamus dokuları alındı. Sağ hipotalamus dokuları Western Blot analizlerinin yapılabilmesi için formaldehite konularak histolojik analizler yapılincaya kadar; sol hipotalamusları ise RT-PCR analizleri için içerisinde 700 µl RNA saklama solüsyonu (RNA later) bulunan DNA ve RNA'dan arındırılmış ependorf tüplere soğuk zincirde alındı ve -80°C'de muhafaza edildi. Kan örnekleri ise; 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumlarına ayrılarak ELISA analizleri yapılincaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

## **3.7. Analizlerin Yapılması**

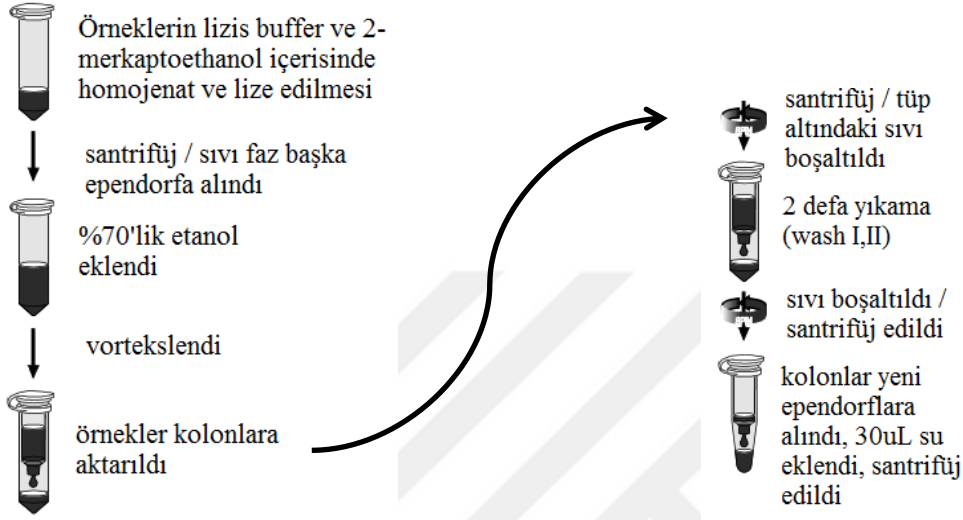
### **3.7.1. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR)**

Sıçanların hipotalamuslarından NPY, AgRP, POMC ve CART mRNA seviyeleri RT-PZR analizi ile belirlendi.

**Total RNA İzolasyonu:** Beyin dokularında ve kas dokularında RNA izolasyonu için PureLink RNA mini kiti kullanıldı. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

Kit içerisindeki lizis solüsyonundan 1 mL ve 2-merkaptoetanol'dan 10 µL falkon tüpüne alınıp karıştırılarak lizis tampon çözeltisi elde edildi. Beyin dokuları ve kas dokuları, doku ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözeltiden 600 µL alınarak kilitli ependorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 3 dk 8. hızda parçalama işlemi yapıldı. Örnekler 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir ependorfa alınarak üzerine 500 µL %70'lik etanol eklendi ve vortekslendi. Örneklerden 700 µL alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12.000xg'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örnekler de kolonlara aktarılarak aynı şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II solüsyonları ile yapıldı. Örnekler 700 µL Wash I solüsyonu eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µL Wash II solüsyonu eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün

altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12.000xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni ependorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µL RNase içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Ependorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA içermektedir (Şekil 3.7). RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklandı.



Şekil 3.7. Dokularda RNA izolasyon basamakları (163)

**Spektrofotometrik RNA Ölçümü:** RNA ölçümü için Qubit RNA Assay Kit kullanıldı. RNA miktarı µg/mL olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. cDNA için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı.

**Komplementer DNA Sentezi:** cDNA sentezi için High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanıldı (kit içeriği; 10XRT Buffer, 25XdNTP mix, 10XRT Random Primers, MultiScribe Reverse Transcriptase). cDNA sentezi için havuz yapılan RNA örneklerinden 10 µL kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20 µL hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10 µL RNA örneği, 2 µL 10XRT random primer, 2 µL 10XRT buffer, 0.8 µL 25XdNTP mix, 4.2 µL nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1 µL MultiScribe Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı (Tablo 3.2.). Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25 °C'de 10 dk, 37 °C'de 120 dk, 85 °C'de 5 dk ve 4 °C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi (Tablo 3.3.). Oluşan cDNA örnekleri -20 °C'de saklandı.

**Tablo 3.2.** cDNA karışım miktarı

<b>Bileşik</b>	<b>Hacim(<math>\mu</math>L)</b>	<b>Katalog No</b>
<b>10XRT Tamponu</b>	2.0	4319981
<b>25XdNTP karışımı (100 mM)</b>	0.8	4367381
<b>MultiScribe Revers Transkriptaz</b>	1.0	4319983
<b>10XRT Random Primer</b>	2.0	4319979
<b>Nükleaz içermeyen H<sub>2</sub>O</b>	4.2	
<b>Reaksiyon toplamı</b>	10.0	

**Tablo 3.3.** cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

<b>PZR</b>	<b>1.Adım</b>	<b>2. Adım</b>	<b>3. Adım</b>	<b>4. Adım</b>
<b>Sıcaklık</b>	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
<b>Zaman</b>	1	0 dk	120 dk	5 dk
				$\infty$

**RT-PZR ile cDNA Amplifikasyonu:** Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında RT-PZR ile amplifiye edildi.  $\beta$ -aktin; NPY, AgRP, POMC, CART, genlerinin belirlenmesi için sıçan spesifik primerler kullanıldı. RT-PZR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu kullanıldı. RT-PZR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2  $\mu$ L kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5  $\mu$ L TaqMan Master Mix, 2.5  $\mu$ L nükleaz içermeyen su ve 0.5  $\mu$ L primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara bırakıldı ve vortekslendi. Platedeki cDNA örneklerinin üzerine 8  $\mu$ L hazırlanan karışımdan (Tablo 3.4.) bırakılarak platein üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini plate spin cihazında 1 dk santrifüj edildi.

**Tablo 3.4.** RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşik	Miktar ( $\mu$ L)
Cdna	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	2.5
Toplam	10.0

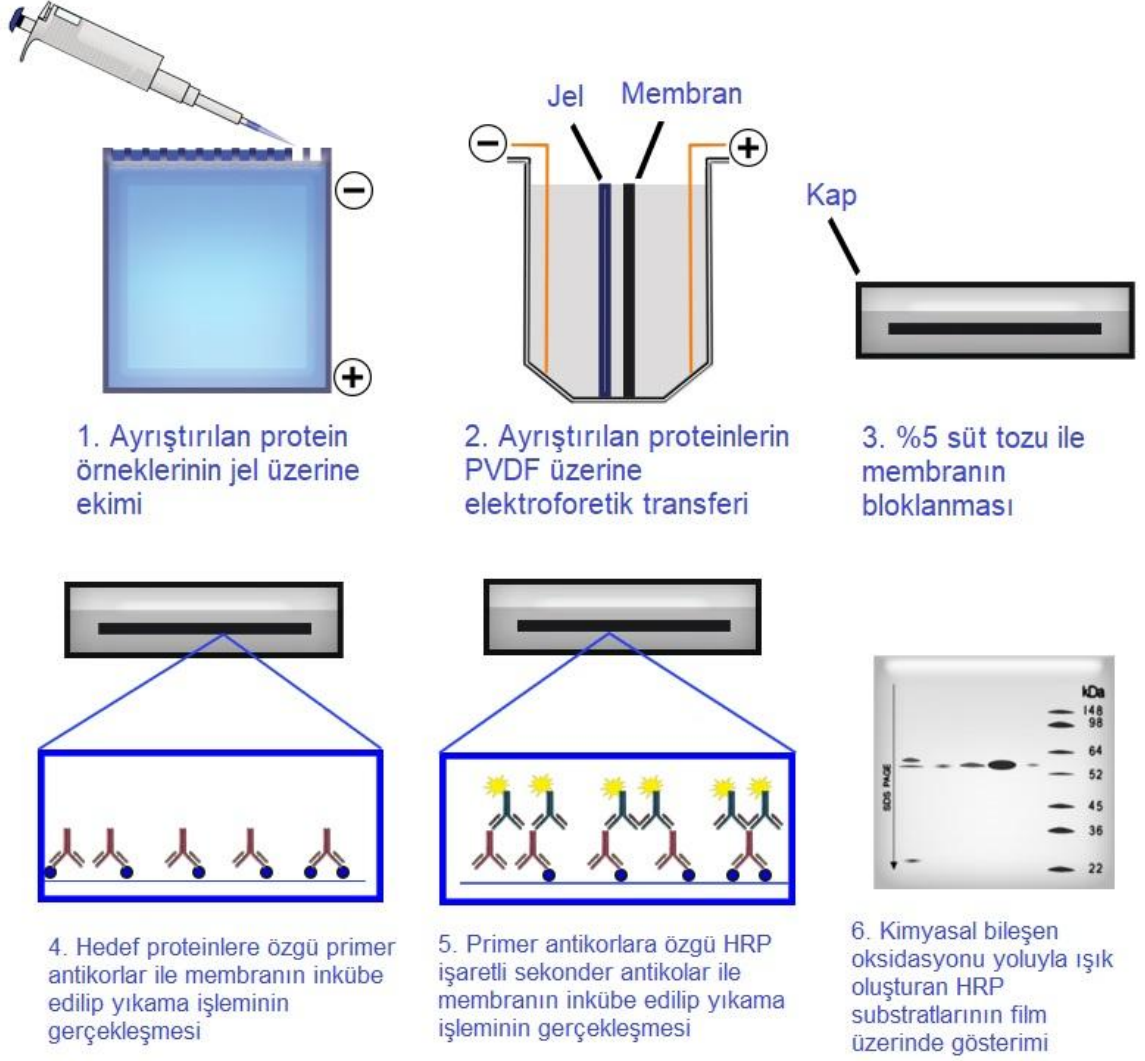
Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 RT-PZR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada  $\beta$ -aktin kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Sıcaklık koşulları 50 °C'de 2 dk, 95 °C'de 10 dk X 40 siklus, 95 °C'de 15 sn ve 60 °C'de 1 dk olacak şekilde ayarlandı (Tablo 3.5).

**Tablo 3.5.** Uygulanan RT-PZR programı (RT-PZR X 40 döngü)

	<b>1. Adım</b>	<b>2.Adım</b>	<b>3.Adım</b>	<b>4.Adım</b>
Sıcaklık	50 °C	95 °C	95 °C	60 °C
Zaman	2 dk	10 <b>dk</b>	15 sn	1 dk

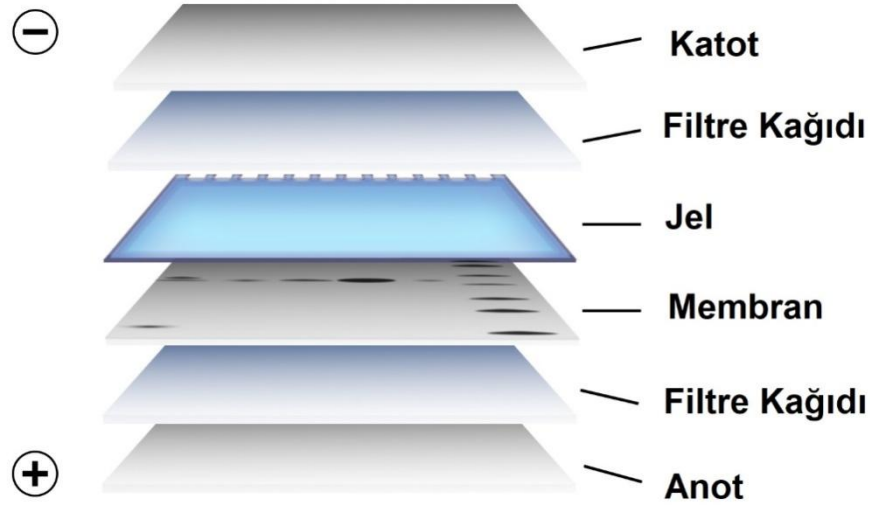
### **3.6.2. Western Blot Analizi**

Western blot analizleri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Sıçanların hipotalamuslarından NPY, AgRP, POMC ve CART protein seviyeleri western blot analizleri ile belirlendi. Yapılan Western Blot analizinin genel prosedürü Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



**Şekil 3.8.** Western blot analizine genel bakış

Alınan hipotalamus dokusu lizatları, lizis tamponu kullanılarak elde edildi. Toplam protein konsantrasyonu, protein miktarı ölçüm kiti kullanılarak tespit edildi. Her bir örnekten toplam proteinin 30  $\mu\text{g}$ 'ı, %15'lik sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezinde yürütüldü ve Poliviniliden Florür (PVDF) membranlara transfer edildi (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.** Western Blot için hazırlanan sandviçin yapısı

Membranlar TBS tamponu ile hazırlanan %5 kuru süt ile bloke edildi, yıkama aşamalarından sonra %2.5 kuru süt içinde sıçan spesifik NPY, POMC, primer antikorları ile 4°C’de gece boyunca inkübe edildi. Membranlar TBS-T ile yıkandıktan sonra, HRP konjuge edilmiş anti-tavşan veya anti-fare sekonder antikorunu ile 1 saat inkübe edildi. Yükleme kontrolü olarak fare anti- $\beta$ -aktin antikorunu kullanıldı.

Kemilüminesan tarama, Chemi Glow tarama ajanları ile gerçekleştirildi. Blotlar UVP Chemi Doc-It 2 görüntüleyici ile görüntülendi ve Image J programı ile dansitometre ölçümleri yapıldı (165, 166). Deneyde ölçülen doku protein seviyesi  $\beta$ -aktin’e oranlandı.

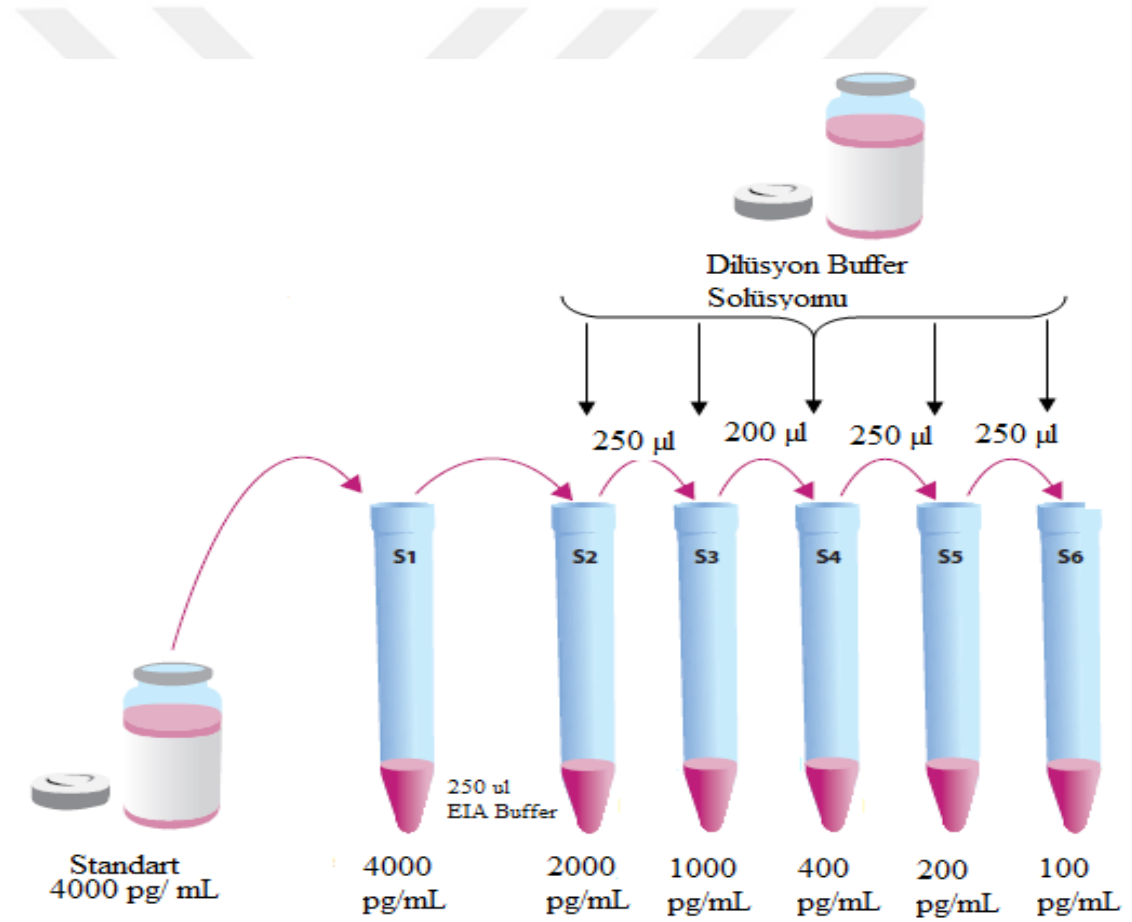
### **3.6.3. Hormonların Tayini**

ELISA analizleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarlarında yapıldı. Serum leptin seviyesini belirlemek için sıçan için spesifik rat leptin ELISA kiti, serum ghrelin seviyesini belirlemek için rat ghrelin ELISA kiti kullanıldı.

Bu parametrelerin tayini fotometrik yöntemle Cobas Integra 1600 tam otomatik biyokimya analizatör (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ile belirlendi.

**Serum Leptin Seviyelerinin ELISA Yöntemiyle Belirlenmesi:** Serum leptin seviyesini belirlemek için ELISA kiti ile birlikte gelen deney protokolü uygulandı. Analizlere başlamadan önce kit içinde bulunan 4000 pg/ml konsantrasyona sahip standart, dilüsyon buffer solüsyonu kullanılarak;

1. Standart (S1) 4000 pg/ml,
2. Standart (S2) 2000 pg/ml
3. Standart (S3) 1000 pg/ml,
4. Standart (S4) 400 pg/ml,
5. Standart (S5) 200 pg/ml,
6. Standart (S6) 100 pg/ml final konsantrasyonlara sahip olacak şekilde dilüe edildi (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10.** Serum leptin ELISA standart solüsyonunun dilüe edilmesi

Hazırlanan standartlar, numuneler, ELISA tamponu ve antikor, 96 kuyucuklu ELISA Kit plağına Şekil 3.11’de gösterildiği gibi pipetlendi.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	S1	S1	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
<b>B</b>	S2	S2	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
<b>C</b>	S3	S3	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
<b>D</b>	S4	S4	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
<b>E</b>	S5	S5	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
<b>F</b>	S6	S6	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
<b>G</b>	BLK	BLK	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
<b>H</b>	BLK	BLK	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40

**Şekil 3.11.** Serum leptin düzeyinin belirlenmesinde kit plağının düzeni (BLK: Boş kuyucuk, S: Serum numunesi)

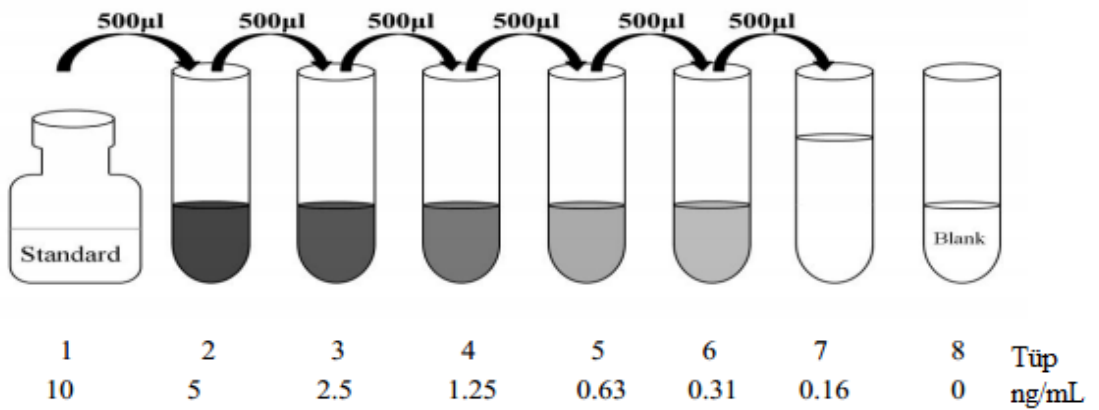
Analiz için kit plağının düzeni sağlandıktan sonra aşağıda belirtilen ELISA analiz protokolü uygulandı.

- Standartlar, kontroller, dilüsyon bufferları ve dilüe edilmiş örnekler 100 µl hacminde plak düzeninde gösterildiği şekilde pipetlendi (Şekil 3.11).
- Plak oda sıcaklığında (25 °C) 1 saat inkübe edildi ve mikropate çalkalayıcıda 300 rpm'de çalkalandı.
- Yıkama solüsyonu ile (her kuyucuğa 0,35 ml) plak 3 defa yıkandı. En son yıkamadan sonra plate kağıt havluya ters çevrilerek vuruldu.
- İşaretli antikordan tüm kuyucuklara 100 µl eklendi.
- Tekrar plak oda sıcaklığında (25 °C) 1 saat inkübe edildi ve mikropate çalkalayıcıda 300 rpm'de çalkalandı.
- Tekrar yıkama solüsyonu ile (her kuyucuğa 0,35 ml) plak 3 defa yıkandı. En son yıkamadan sonra plate kağıt havluya ters çevrilerek vuruldu.
- Tüm kuyucuklara 100 µl Streptavidin-HRP konjuge solüsyonu eklendi.
- Tekrar plak oda sıcaklığında (25 °C) 30 dk inkübe edildi ve mikropate çalkalayıcıda 300 rpm'de çalkalandı.

- Plak tekrardan yıkama solüsyonu ile (her kuyucuğa 0,35 ml) 3 defa yıkandı. En son yıkamadan sonra plate kağıt havluya ters çevrilerek vuruldu.
- Her kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu eklendi ve plak aliminyum folyoyla sarılarak gün ışığı engellendi.
- Plak 15 dk (10-20 dk arası uygun) oda ısısında inkübe edildi.
- Renk gelişimini durdurmak için 100 µl stop solüsyonu (tüm kuyucuklara) eklendi.
- 450 nm dalga boyunda ELISA plate okuyucusunda okuma yapıldı.

**Serum Ghrelin Seviyelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi:** Sıçanların serum ghrelin seviyesini belirlemek için ELISA kiti ile birlikte gelen deney protokolü uygulandı. Analizlere başlamadan önce kit içinde bulunan 10 ng/mL konsantrasyona sahip standart, dilüsyon buffer solüsyonu kullanılarak;

1. Standart (S1) 10 ng/mL,
2. Standart (S2) 5 ng/mL,
3. Standart (S3) 2.5 ng/mL,
4. Standart (S4) 1.25 ng/mL,
5. Standart (S5) 0.63 ng/mL,
6. Standart (S6) 0.31 ng/mL,
7. Standart (S7) 0.16 ng/mL, final konsantrasyonlara sahip olacak şekilde dilüe edildi (Şekil 3.12).



**Şekil 3.12.** Serum ghrelin ELISA kit standartının dilüe edilmesi

Hazırlanan standartlar, numuneler, ELISA tamponu ve antikor, 96 kuyucuklu ELISA kit plağına Şekil 3.13'te gösterildiği gibi pipetlendi.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S1	N1	N1	N9	N9	N17	N17	N25	N25	N33	N33
B	S2	S2	N2	N2	N10	N10	N18	N18	N26	N26	N34	N34
C	S3	S3	N3	N3	N11	N11	N19	N19	N27	N27	N35	N35
D	S4	S4	N4	N4	N12	N12	N20	N20	N28	N28	N36	N36
E	S5	S5	N5	N5	N13	N13	N21	N21	N29	N29	N37	N37
F	S6	S6	N6	N6	N14	N14	N22	N22	N30	N30	N38	N38
G	S7	S7	N7	N7	N15	N15	N23	N23	N31	N31	N39	N39
H	BLK	BLK	N8	N8	N16	N16	N24	N24	N32	N32	N40	N40

**Şekil 3.13.** Serum ghrelin düzeyinin belirlenmesinde kit plağının düzeni. (S: Standart eklenen kuyucuk, BLK: Boş kuyucuk, N: Serum numunesi)

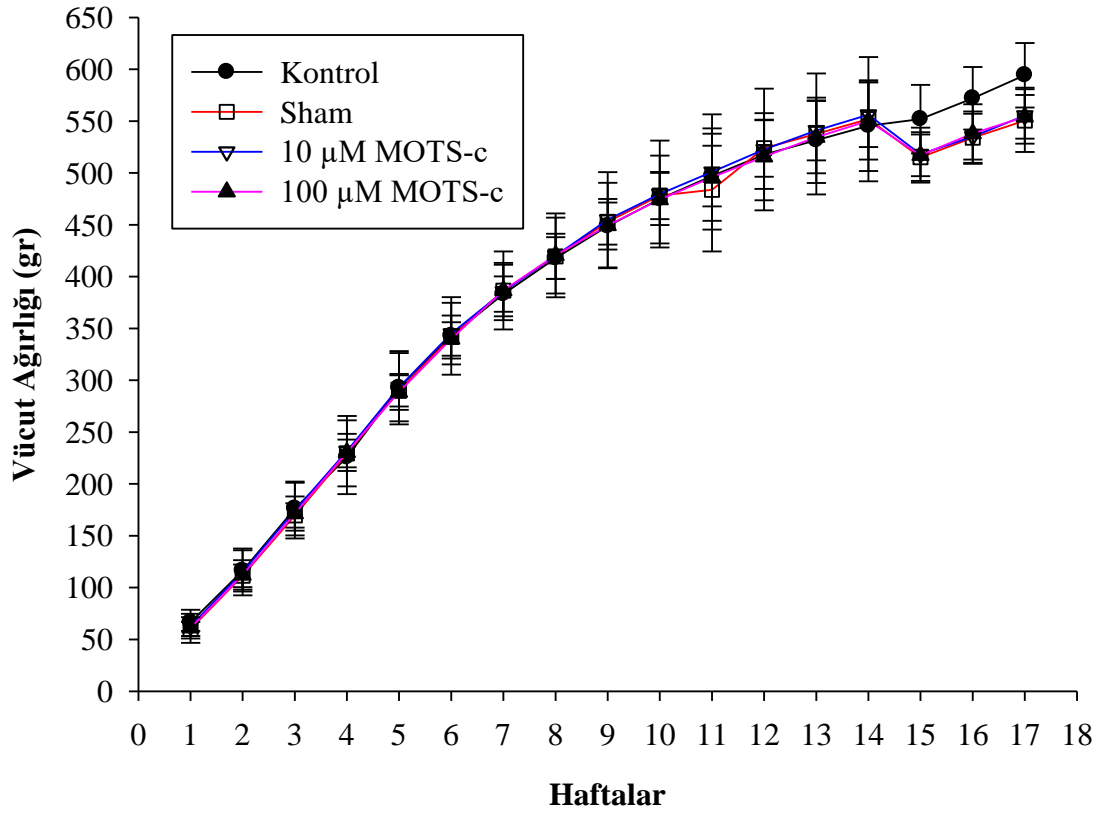
Analiz için kit plağının düzeni sağlandıktan sonra aşağıda belirtilen ELISA analiz protokolü uygulandı.

- 50 µl standart ve örnekler ELISA plakına eklendi.
- Her kuyucuğa 50 µl kit içerisinde gelen Biotinilat eklendi.
- Plak 45 dk 37 °C’de inkübe edildi.
- Aspirasyon ve yıkama işlemi 3 defa tekrarlandı.
- Her kuyucuğa kit içerisinde HRP Conjugate’tan 50 µl eklendi.
- Plak 30 dk 37 °C’de inkübe edildi.
- 5 kez aspire ve yıkama işlemi uygulandı.
- 90 µl substrate Reagent eklendi.
- Plak 15 dk 37 °C’de inkübe edildi.
- Renk gelişimini durdurmak için 50 µl stop solüsyonu (tüm kuyucuklara) eklendi.
- 450 nm dalga boyunda ELISA plate okuyucusunda okuma yapıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sıçanlara İcv MOTS-c Uygulanmasının Vücut Ağırlığı Üzerine Etkileri

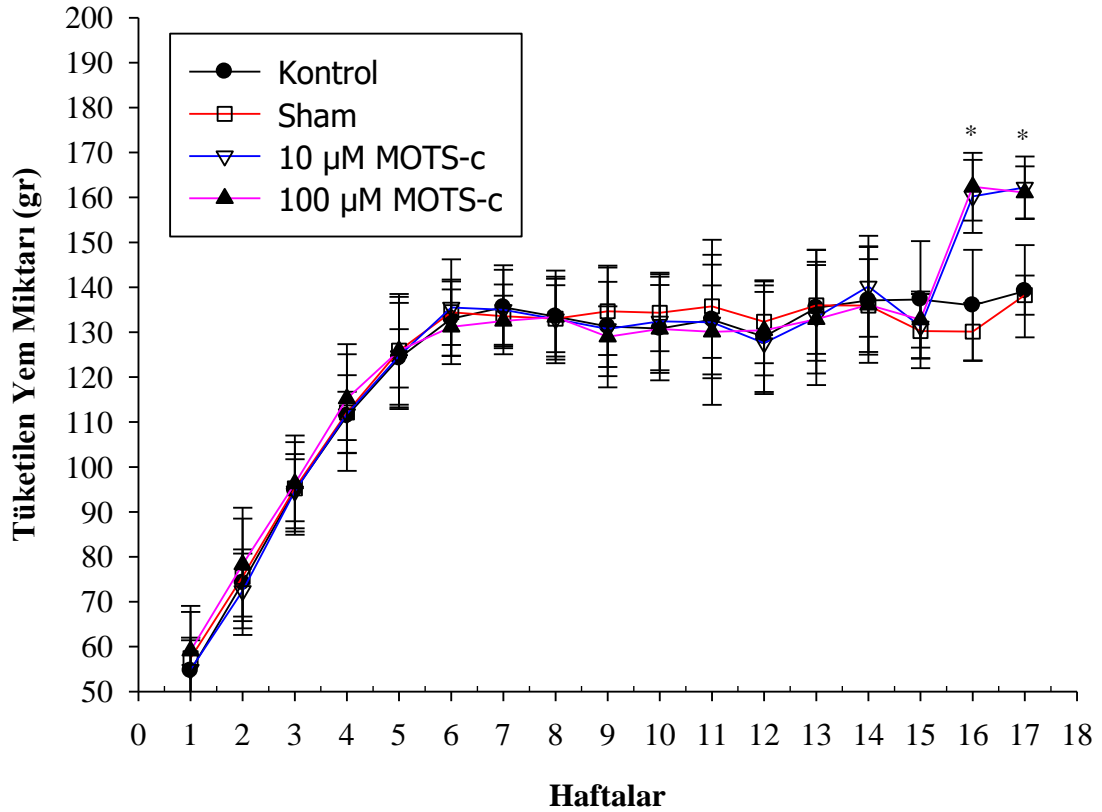
MOTS-c uygulamasının obezite oluşturulan sıçanlarda vücut ağırlığı üzerindeki etkileri Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Kontrol grubu dışındaki sıçanlarda operasyon sonrası dönemde vücut ağırlığının azaldığı ancak dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ).



Şekil 4.1. Kontrol, sham ve deney gruplarının vücut ağırlıkları (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H Testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi;  $p>0.05$ )

## 4.2. Sıçanlara İcv MOTS-c Uygulanmasının Besin Alımı Üzerine Etkileri

MOTS-c'nin besin alımı üzerindeki etkileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Operasyon öncesi (14 hafta) gruplar arasında yem tüketiminde anlamlı bir fark belirlenmedi ( $p>0.05$ ). 14. Haftadan sonra icv MOTS-c uygulamasının besin alımını arttırdığı görüldü ( $p<0.05$ ). Kontrol grubuyla sham grubu ve MOTS-c uygulanan deney grupları kendi içlerinde kıyaslandığında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ).

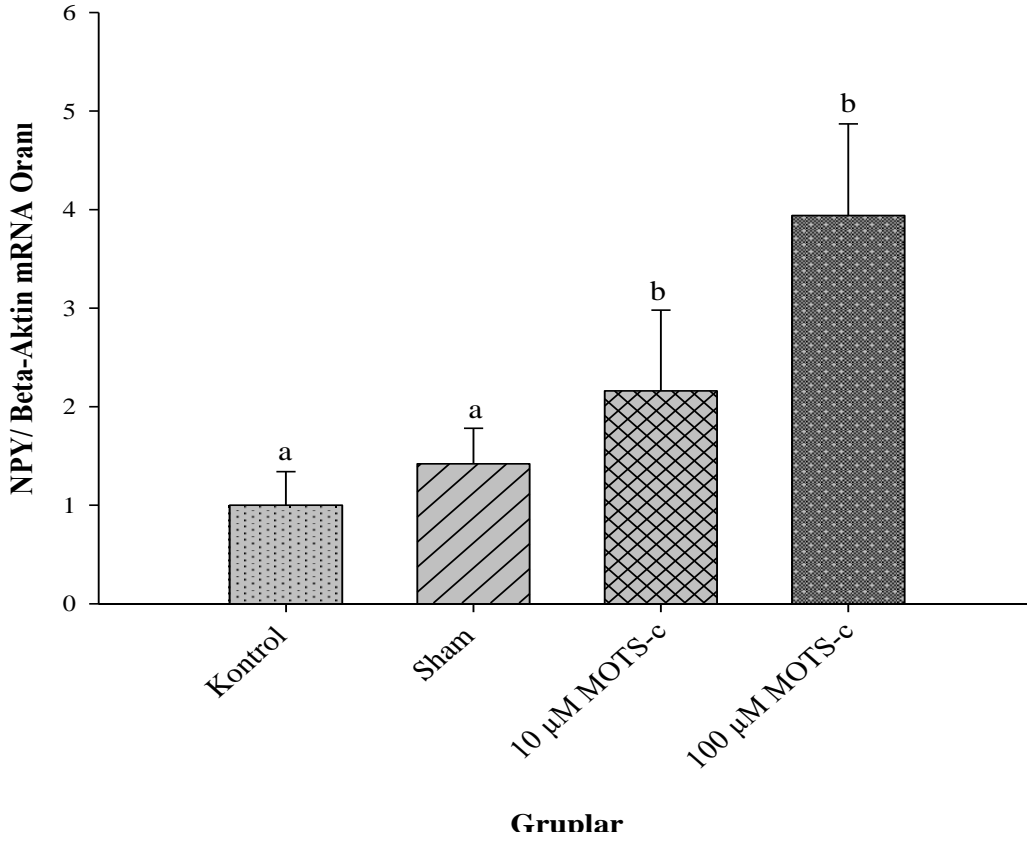


Şekil 4.2. Kontrol ve deney gruplarının besin tüketim miktarları (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H Testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. \* gruplar arası farklılığı göstermektedir; \*  $p<0.05$ )

### 4.3. İcv MOTS-c Uygulanmasının Hipotalamustaki mRNA Seviyeleri Üzerine Etkisi

#### 4.3.1. NPY mRNA Seviyesine Etkisi

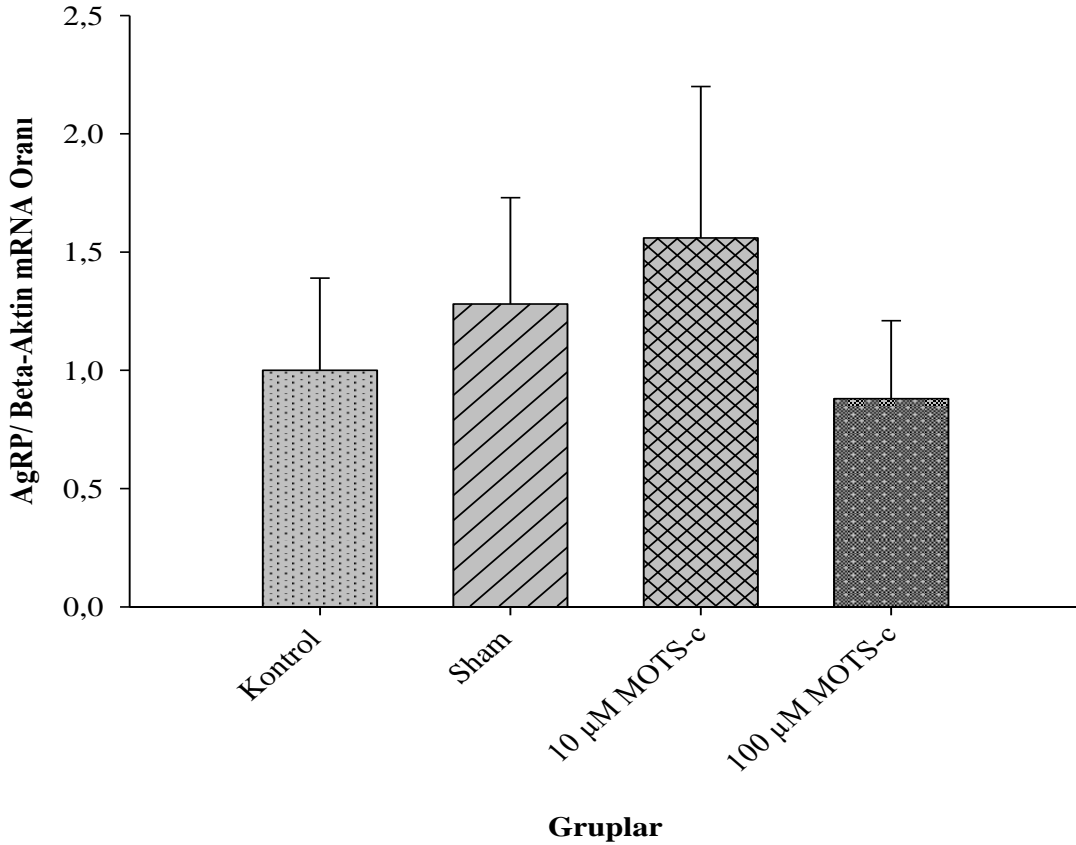
İcv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki NPY mRNA seviyesi üzerindeki etkisi Şekil 4.3'te gösterilmiştir. MOTS-c uygulanan gruplarda NPY mRNA seviyesinin kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda yüksek olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). MOTS-c uygulanan gruplar kıyaslandığında NPY mRNA düzeyinin doza bağımlı olarak arttığı belirlendi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.3.** Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki NPY/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H Testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı olup farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $^{a,b}p < 0.05$ )

### 4.3.2. AgRP mRNA Seviyesine Etkisi

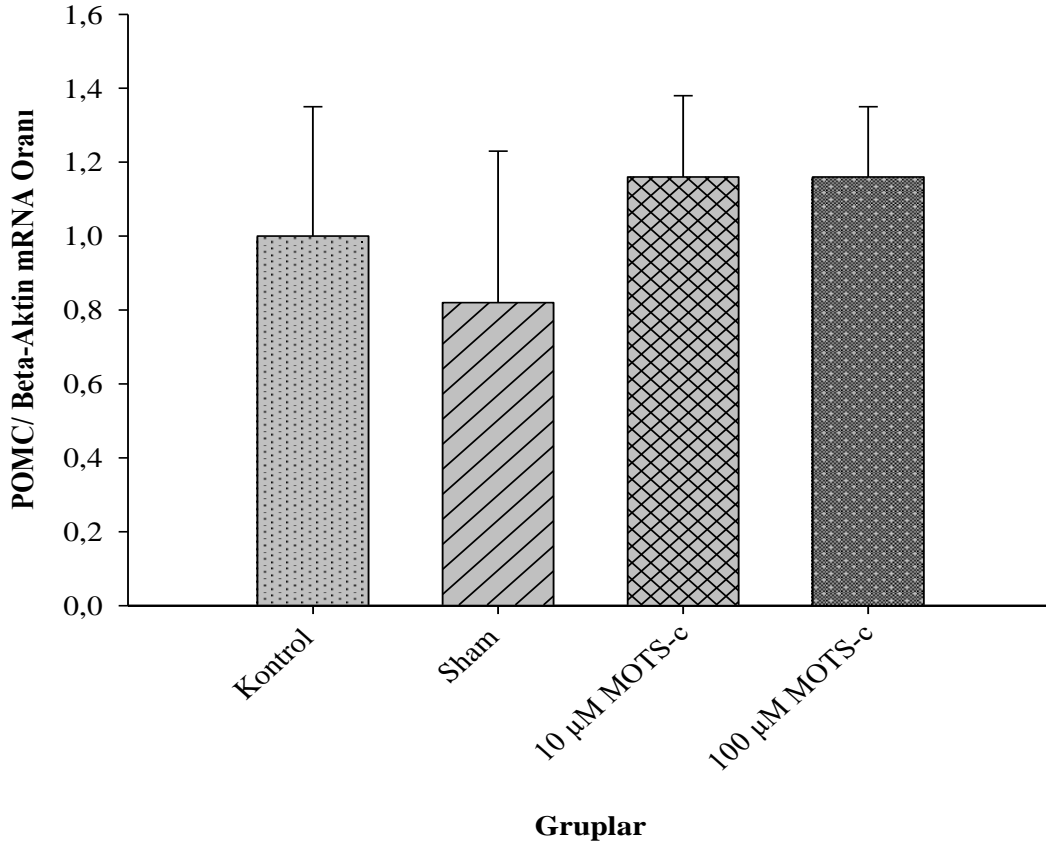
MOTS-c uygulamasının AgRP mRNA seviyeleri üzerindeki etkisi Şekil 4.4.'te belirtilmiştir. Analiz sonuçlarına göre uygulanan MOTS-c'nin dört grup arasında AgRP mRNA seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı seviyede etkilemediği görüldü ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4.4.** Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki AgRP/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H Testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi,  $p>0.05$ ).

### 4.3.3. POMC mRNA Seviyesi Üzerindeki Etkisi

MOTS-c uygulamasının hipotalamik POMC mRNA seviyesinde oluşturduğu etkiler Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Uygulanan MOTS-c'nin POMC mRNA düzeyi üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ )

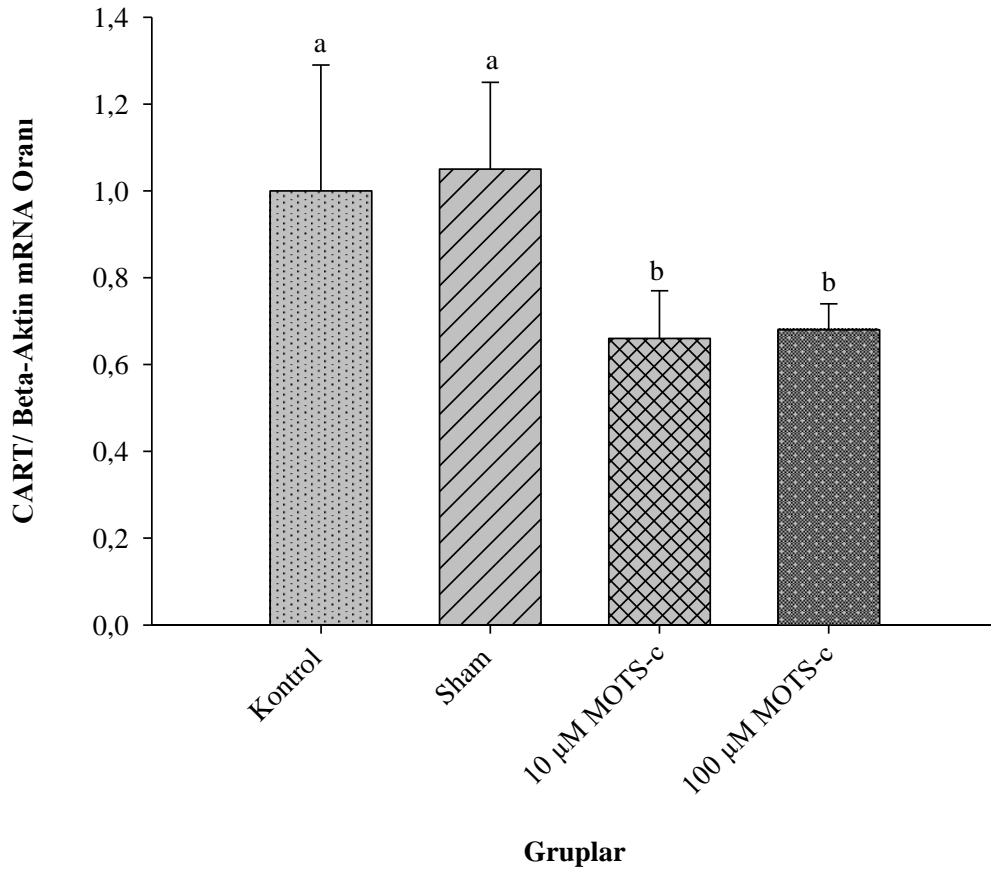


**Şekil 4.5.** Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki POMC/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi;  $p>0.05$ )



#### 4.3.4. CART mRNA Seviyesine Etkisi

İcv MOTS-c uygulamasının CART mRNA ifadesi üzerine etkisi Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler doğrultusunda MOTS-c'nin CART mRNA düzeyini anlamlı seviyede azalttığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ). 10  $\mu$ M VE 100  $\mu$ M MOTS-c uygulamasının CART mRNA seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ).

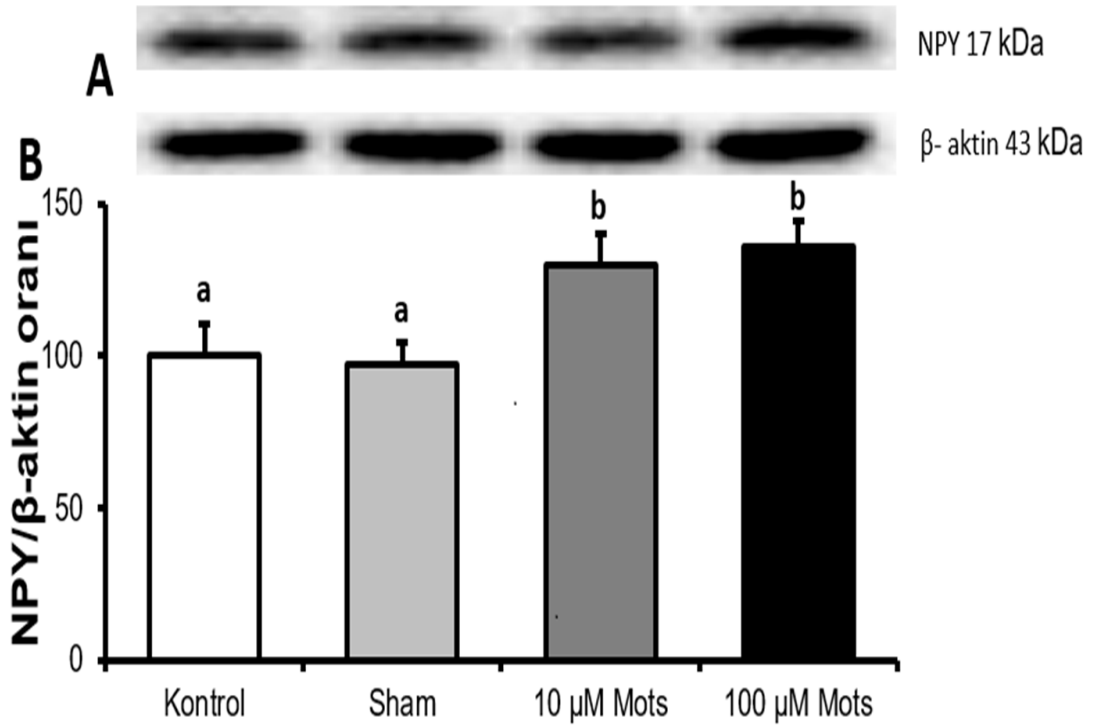


**Şekil 4.6.** Sıçanlara icv MOTS-c uygulamasının hipotalamustaki CART/ $\beta$ -Aktin mRNA oranına etkisi (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. a ve b gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi;  $p < 0.05$ )

#### 4.4. İcv MOTS-c Uygulamasının Hipotalamik Protein İfadeleri Üzerine Etkileri

##### 4.4.1. NPY Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi

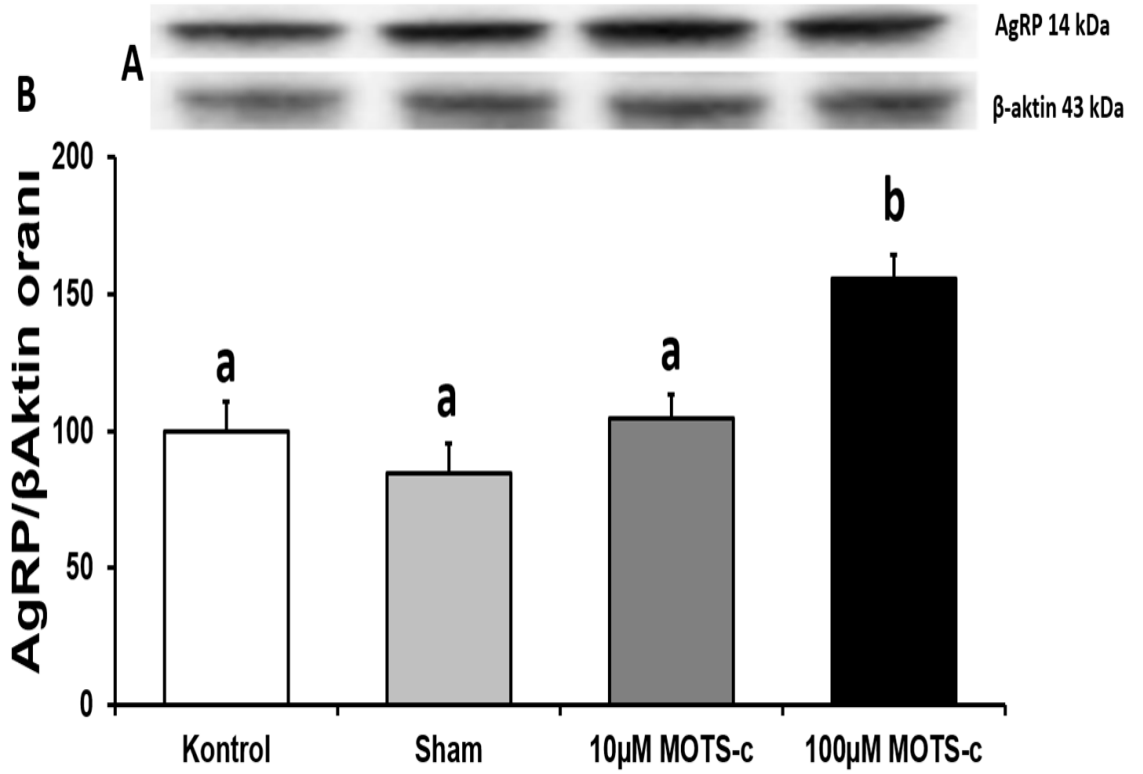
MOTS-c'nin sıçanlara icv MOTS-c uygulaması sonrasında hipotalamus dokularındaki NPY protein ifadesi düzeylerindeki değişiklikler Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. 10 ve 100  $\mu$ M MOTS-c uygulamasının NPY protein ifadesini artırdığı ve meydana gelen bu artmanın istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.7.** Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda NPY protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve NPY bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B) (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı olup farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $^{a,b}p<0.05$ ).

#### 4.4.2. AgRP Protein İfadesi Üzerindeki Etkileri

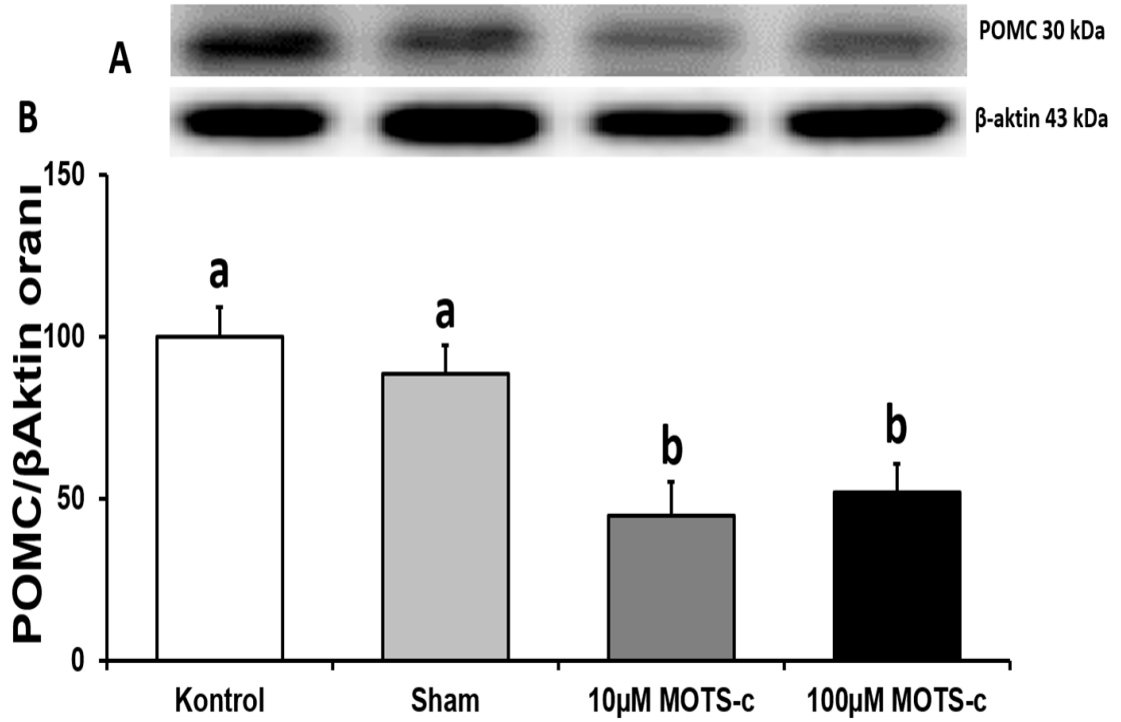
MOTS-c uygulamasının AgRP protein ifadesi düzeylerinde oluşturduğu değişiklikler Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. 100 µM MOTS-c uygulamasının AgRP protein ifadesini istatistiksel olarak anlamlı seviyede arttırdığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Kontrol, sham ve 10 µM MOTS uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4.8.** Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda AgRP protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve AgRP bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B) (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı olup farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $^{a,b}p<0.05$ ).

#### 4.4.3. POMC Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi

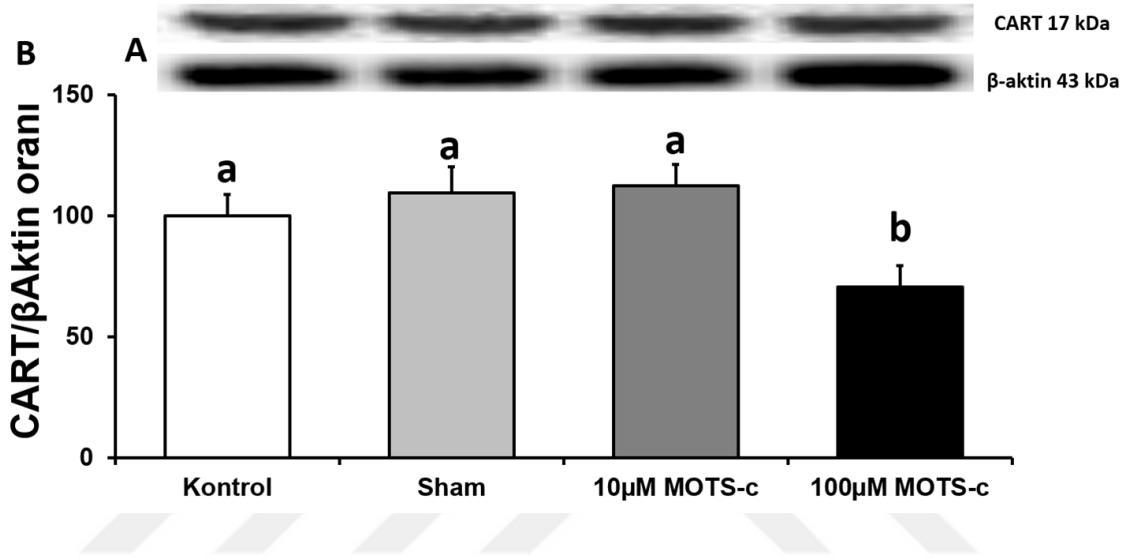
İcv MOTS-c uygulamasının POMC protein ifadesi seviyelerinde oluşturduğu değişiklikler Şekil 4.9.'da gösterilmiştir. MOTS-c uygulamasının POMC protein ifadesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Kontrol ve sham grupları kıyaslandığında ve deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında doza bağımlı anlamlı fark olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).



Şekil 4.9. Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda POMC protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve POMC bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B) (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı olup farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $^{a,b}p<0.05$ ).

#### 4.4.4. CART Protein İfadesi Üzerindeki Etkisi

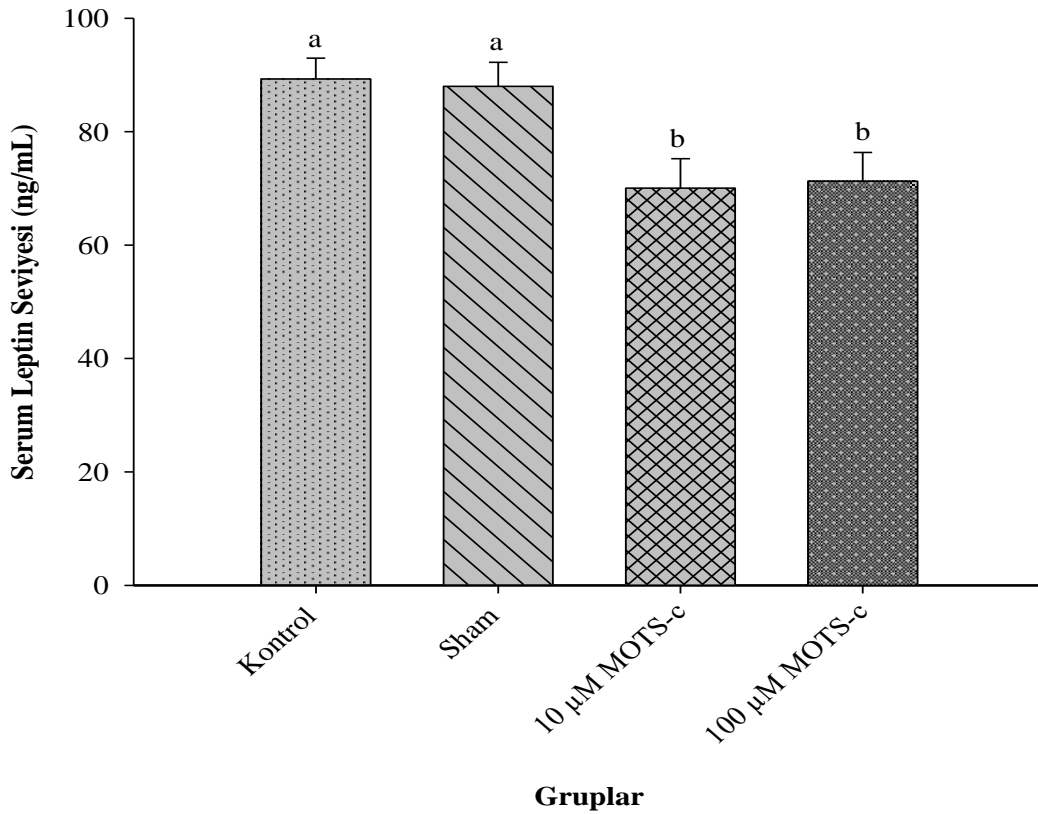
İcv olarak uygulanan MOTS-c'nin hipotalamus dokularında CART protein ifadesi düzeylerinde oluşturduğu değişiklikler Şekil 4.10.'da gösterilmiştir. 10 µM MOTS-c uygulanan grup, kontrol ve sham grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ) 100 µM MOTS-c uygulamasının CART protein ifadesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).



Şekil 4.10. Sıçanlarda icv MOTS-c uygulamasının hipotalamus dokusunda CART protein oranına etkisinin Western Blot jel görüntüsü (A) ve CART bantlarının dansimetrik analizinin gösterilmesi (B) (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı olup farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $^{a,b}p<0.05$ ).

#### 4.5. MOTS-c'nin Serum Leptin Seviyesi Üzerine Etkisi

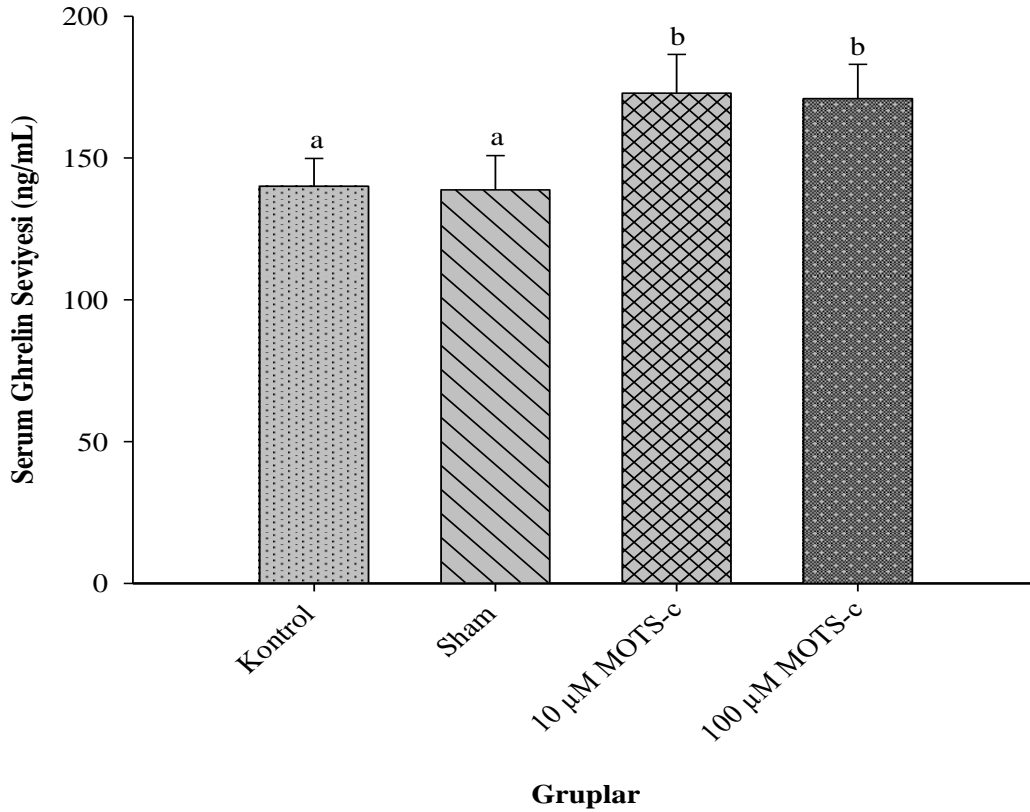
İcv olarak uygulanan MOST-c'nin serum leptin seviyesi üzerindeki etkisi Şekil 4.8.'te gösterilmiştir. MOTS-c uygulanan gruplarda, kontrol ve sham gruplarına kıyasla serum leptin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ( $p<0.05$ ). 10  $\mu$ M ve 100  $\mu$ M MOTS-c uygulamasının serum leptin seviyesinde anlamlı bir farka yol açmadığı saptandı ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4.11.** İcv MOTS-c uygulamasının serum leptin seviyelerine etkisi (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. a ve b gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi; <sup>a,b</sup> $p<0.05$ )

#### 4.6. MOTS-c'nin Serum Ghrelin Seviyesi Üzerine Etkisi

Sıçanlara uygulanan icv MOTS-c uygulamasının serum ghrelin seviyesi üzerinde yol açtığı değişiklikler Şekil 4.7'te gösterilmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda MOTS-c'nin serum ghrelin seviyesini anlamlı ölçüde yükselttiği belirlendi ( $p<0.05$ ). Buna karşın MOTS-c'nin ghrelin seviyesine doz bağımlı bir etkisi olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4.12.** İcv MOTS-c uygulamasının serum ghrelin seviyesi üzerindeki etkisi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. a ve b gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi;  $p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. MOTS-c'nin Vücut Ağırlığı ve Gıda Alımı Üzerine Etkileri

Hipotalamus, iştah mekanizması üzerinden gıda alımının kontrolünü sağlayan önemli bir merkezdir (167). Memelilerde LHA'nın açlık VMN'nin ise tokluk sinyallerinin değerlendirildiği alanlar olduğu bilinmektedir. PVN lezyonları obezite ile sonuçlanırken, LHA lezyonları anoreksi ile sonuçlanır(168). Vücut ağırlığında meydana gelen kayıba yanıt olarak LHA'daki nöronlar aktive olup PVN nöronlarından anoreksijenik sinyal iletiminde meydana gelen azalmayla birlikte gıda alımı artar. Enerji dengesi arkuat çekirdekte yer alan iki nöron tipiyle düzenlenmektedir. Birinci tip nöronlar, POMC ve CART salgılayan nöronlar, besin alımını azaltırken enerji harcanmasını artırır. İkinci tip nöronlar ise NPY ve AgRP üretilen besin alımını arttırarak enerji harcanmasını azaltır (167). POMC nöronlarından salınan  $\alpha$ -MSH, NTS'ye ulaşan nöral yolları aktive ederek PVN'deki melanokortin reseptörlerini (MCR-4) uyarır, bu yolla sempatik aktiviteyi ve enerji harcanmasını arttırır (169). AgRP ise MCR-4 antagonisti olarak etkisini gösterir (170). İnsülin, leptin ve kolesistokinin, AgRP-NPY nöronlarını baskılayıp komşu POMC-CART nöronlarını uyararak besin alımını azaltan hormonlardır. Ghrelin ise mideden salgılanarak AgRP-NPY nöronlarını uyarıp besin alımında artışa neden olur (42).

Mevcut literatürde MOTS-c ile vücut ağırlığı kısmen ilişkilendirilmeye çalışılmış; ancak MOTS-c'nin gıda alımı üzerine etkisinin araştırıldığı detaylı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Literatürde MOTS-c hakkında bilinenler oldukça kısıtlı olmakla beraber yapılan çalışmalar genellikle farklı hastalık ve modellerde MOTS-c'nin olası etkilerini belirlemeye yöneliktir. Lee ark. tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada MOTS-c'nin hücre metabolizma üzerindeki etkisi araştırılmış ve sürekli değişen metabolitler gözlenmiş; purin metabolizması ve dipeptid metabolizması ile ilgili olanlar sürekli azalırken, asilkarnitin metabolizması ve metiyonin döngüsü ile ilgili olanlar önemli ölçüde artmıştır (8). *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda MOTS-c uygulamasına bağlı olarak hücre içi glukoz girişinin arttığı ayrıca akut MOTS-c uygulamasının kan glukoz seviyelerini düşürdüğü gösterilmiş ve MOTS-c'nin glukoz kullanımı ve insülin duyarlılığı üzerinde birtakım roller üstlendiği ortaya konulmuştur (8). Yapılan bir başka çalışmada ise farelere 7 gün süresince intraperitoneal olarak uygulanan MOTS-c'nin insülin duyarlılığını ve glukoz klirensini arttırdığı tespit edilmiştir (8). MOTS-c'nin



insülin duyarlılığını ve glukoz homeostazını artırması bu peptidin obezite ile de ilişkili olabileceği düşündürmüştü ve farelere ip olarak uygulanan MOTs-c'nin normal yem ile beslenen farelerde vücut ağırlığına anlamlı bir etkisi olmadığı, YYDY ile beslenen farelerde şişmanlığı belirgin şekilde önlediği tespit edilmiştir (8). Ayrıca MOTs-c tedavisinin YYDY'nin neden olduğu hiperinsülinemiye önlediği, glukoz homeostazında iyileşmeye neden olduğu ve hepatik lipid birikimini büyük ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (8). Yine Lee ve ark.'larının çalışmasında MOTs-c uygulanan farelerde respiratuvar değişim hızı ve vücut ısıları ölçülmüştür. Her iki parametrenin artışından yola çıkılarak MOTs-c'nin glikoz metabolizmasını hızlandırdığı ve enerji kullanımını arttırdığı varsayılmıştır (8). YYDY ile indüklenen obezite modelinde yapılan bir çalışmada farelere uygulanan MOTs-c enjeksiyonunun insülin duyarlılığını arttırdığı tespit edilmiştir (13). Yapılan bir başka çalışmada MOTs-c'nin, akut soğuk stresinde vücut sıcaklığını arttırdığı ve var olan vücut sıcaklığının korunmasına yardımcı olduğu, bunun yanında BYD'nin kahverengileşmesine yardımcı olarak BYD ve KYD'de bulunan termojenik gen faaliyetlerini arttırdığı ileri sürülmüştür. Her iki yağ dokuda oksijen tüketim hızının arttığı ortaya konulmuştur (14). Yapılan çalışmalar ısı üretimi de dâhil olmak üzere enerji tüketimini artırarak, glukoz kullanımını ve insülin duyarlılığını iyileştirerek YYD kaynaklı obeziteyi önlediğini ileri sürmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda MOTs-c'nin yem tüketimi ve vücut ağırlığı üzerinde anlamlı bir artışa yol açmadığı belirlenmiştir (8, 13, 14).

Çalışmamızda sıçanların (herhangi bir işleme maruz kalmadan) 14 hafta süresince günlük yem tüketimleri ile vücut ağırlıkları ölçüldü. Hayvanların yem tüketimleri ve vücut ağırlıkları açısından birbirleriyle karşılaştırıldığında bir farklılığın meydana gelmediği belirlendi. Bu sonuç sıçanların yeme yönelme ve beslenme davranışları bakımından benzer olduğunu göstermektedir.

Mevcut literatürde MOTs-c'nin yarılma süresine yönelik herhangi bir bulgunun olmaması ve çalışmalarda intraperitoneal uygulamalar yapılması nedeniyle çalışmamızda kronik uygulama yapmak amacıyla infüzyon yöntemi tercih edilmiştir. Kontrol grubu dışındaki tüm sıçanların sağ lateral ventriküllerine 15. haftanın sonunda beyin infüzyon kitleri implante edilerek cerrahi girişimle beyin infüzyon kitine bağlı kanülün diğer ucuna ozmotik mini pompalar bağlandı. 14 gün süresince (16-17. haftalar) sham grubuna yBOS, uygulama gruplarına ise 10 ve 100 µM MOTs-c infüzyonu (5 µl/saat) gerçekleştirildi. İnfüzyon dönemi olarak adlandırılan 16-17. haftalar da sıçanların günlük yem ve vücut ağırlıklarının ölçümüne devam edildi.

Gruplar birbirleriyle kıyaslandığında yapılan MOTS-c infüzyonunun yem tüketimini sham ve kontrol grubuna kıyasla arttırdığı görüldü. MOTS-c uygulanan gruplar sham grubuyla kıyaslandığında ise vücut ağırlıklarının benzer düzeyde olduğu belirlendi. Bu karşılaştırma sıçanların infüzyondan önce tükettikleri yem miktarları ve vücut ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında ise MOTS-c'nin yem tüketimini önemli ölçüde arttırdığını, vücut ağırlığını ise etkilemediği belirlendi. İcv MOTS-c uygulanmasının sıçanlarda yem tüketimi ve vücut ağırlığı üzerine meydana getirdiği etki detaylı incelendiğinde, her iki MOTS-c dozu arasında (10 ve 100 µM) bir farklılığın olmadığı görüldü. Sonuçta merkezi olarak uyguladığımız MOTS-c'nin hem fizyolojik hem de farmakolojik konsantrasyonda sıçanların yem tüketimini arttırdığı, ancak artan yem tüketimine rağmen vücut ağırlığının bu artıştan etkilenmediği belirlendi. Çalışmamız bu bakımdan özgündür ve sonuçlarımız literatürde bu yönde elde edilen ilk bulgulardan biridir.

### **5.2 MOTS-c'nin Serum Leptin ve Ghrelin Hormonları Üzerine Etkisi**

Leptin ve ghrelin, gıda alımını ve vücut ağırlığını düzenlemede önemli rol oynar. Her iki peptid, merkezi sinir sistemine ve özellikle de hipotalamusa periferik sinyalleri farklı yollardan iletirek iştah mekanizmasına etki ederler (171, 172) . Yem tüketiminde MOTS-c'nin meydana getirdiği artışın, MOTS-c'nin iştahı artıran ghrelin ve baskılayan leptin gibi faktörleri etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla MOTS-c'nin leptin ve ghrelin hormonları üzerine etkisini belirlemek amacıyla sıçanların serum örneklerinden ilgili hormonların düzeyleri belirlendi. Yaptığımız analizler sonucunda MOTS-c infüzyonuna bağlı olarak serum ghrelin seviyesinin artış gösterdiği, leptin seviyesinde ise azalma meydana geldiği belirlendi. Bu etkinin fizyolojik ve farmakolojik dozda uygulanan MOTS-c için benzer düzeyde olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bizim çalışmamızda artan yem tüketiminin MOTS-c'nin serum leptin seviyesini baskılamasından ve ghrelin seviyesini arttırmasından kaynaklandığını ve MOTS-c'nin bu hormonlar üzerinden iştah mekanizmasına etki ettiğini düşündürmektedir.

### **5.3 MOTS-c'nin NPY, AgRP, POMC ve CART mRNA ve Protein Seviyesi Üzerine Etkisi**

Hipotalamik arkuat çekirdek, besin alımı üzerindeki etkisiyle birlikte besin elverişliliğinde de çevresel değişimlere karşı metabolik koşullara uyum sağlamak için insülin duyarlılığını düzenler. Hipotalamustaki iki tip nöron, bu işlemlerin kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Bunlar NPY ve AgRP'yi birlikte eksprese eden nöronlar ile

moleküler POMC,  $\alpha$ -MSH ve CART'ı eksprese eden nöronlardır (173). Bu nöropeptitler, gıda alımı ve enerji homeostazı üzerinde ters etkilere sahiptir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla NPY'nin gıda alımı üzerindeki uyarıcı etkisinden bağımsız olarak periferik dokularda insülin etkisini kontrol etmede etkin rol aldığı belirtilmiştir (174, 175) . Serumda artan ghrelin ve azalan leptinin ya NPY/AgRP nöron aktivitesini artırarak ya da POMC/CART nöron aktivitesini baskılayarak iştahın kuvvetli bir şekilde uyarılmasını sağladığı bilinmektedir (176) . Çalışmamızda 10 ve 100  $\mu$ M MOTS-c uygulanan gruplarda NPY mRNA seviyesinin arttığı ve artışın doz bağımlı bir etki olduğu görüldü. Sıçanlara MOTS-c uygulaması sonrası AgRP mRNA ve POMC mRNA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. CART mRNA seviyesinde ise MOTS-c'nin her iki konsantrasyonunun (10 ve 100  $\mu$ M) uygulandığı gruplarda azalma meydana getirdiği belirlendi. Mevcut literatürlerde MOTS-c NPY, AgRP, POMC ve CART mRNA seviyeleri üzerine nasıl bir etki oluşturduğu araştırılmamış olup, sonuçlarımız bu yönde elde edilen ilk bulgulardandır. MOTS-c infüzyonu sonrası sıçanların NPY mRNA seviyesinin arttırması, AgRP ve POMC mRNA seviyesinde bir değişiklik olmaması ve CART mRNA seviyesinin ise azalması MOTS-c'nin iştahı arttırmak için leptin-ghrelin-AgRP yerine leptin-ghrelin-NPY veya leptin-ghrelin-CART yolağını etkilediğini bizlere düşündürmektedir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde muhtemel mekanizmanın MOTS-c'nin leptin seviyesini azaltarak, leptinin NPY nöronları üzerindeki baskılayıcı rolünü ortadan kaldırdığı aynı zamanda ghrelin seviyesini arttırarak CART nöronları üzerinde baskılayıcı tarzda bir etki meydana getirirken NPY nöronlarını aktive etmesi kuvvetle muhtemeldir.

Bu genlere ait protein düzeyleri incelendiğinde ise uygulanan MOTS-c'nin NPY protein seviyesini arttırdığı, AgRP protein seviyesini MOTS-c'nin sadece 100  $\mu$ M uygulanan grupta arttırdığı belirlendi. POMC protein seviyesinde 10 ve 100  $\mu$ M MOTS-c uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi. CART protein seviyesinde ise sadece 100  $\mu$ M uygulanan grupta anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Çalışma sonuçlarımız hipotalamik hücrelerdeki ilgili genlere ait mRNA seviyesindeki artışa bağlı olarak protein sentezinde bir artış olduğu (NPY mRNA seviyesi ile protein seviyesinin artış göstermesi), mRNA seviyesindeki azalmaya bağlı olarak ilgili protein sentezinde bir azalma olduğu (POMC ve CART mRNA seviyesi ile protein seviyesinin azalması) ve Western Blot protein analiz sonuçlarının RT-PZR sonuçları ile paralellik gösterdiği görülmektedir. Hücrel olaylar dizisinin son basamağı olan protein sentezi

sonuçlarına göre MOTS-c'nin leptin-ghrelin-AgRP yerine hem mRNA düzeyinde hem de protein düzeyinde gözlenen artıştan dolayı leptin-ghrelin-NPY yolağını etkileyeceğini düşünmekteyiz. Bunun yanında leptin-ghrelin-POMC veya leptin-ghrelin-CART yolaklarından birini ya da bir kaçını etkilediği kanısı ayrıca desteklenmektedir. Ancak NPY, POMC ve CART nöronlarını leptin veya ghrelin hormonları dışında başka herhangi bir faktör üzerinden direkt olarak da gösterebilir.

MOTS-c'nin etki mekanizmasının tam anlamıyla belirlenmesi ve organ sistemleri üzerindeki etkilerinin aydınlatılması için daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

MOTS-c'nin besin alımını arttırırken vücut ağırlığında anlamlı bir değişikliğe neden olmaması enerji tüketimini arttırdığının ve obeziteyi engellemede önemli bir rol üstlendiğinin göstergesidir. Deney sonunda hipotalamus dokuları üzerinde yapılan RT-PCR analizleri ile MOTS-c'nin oreksijenik nöropeptit ajanlar olan NPY'yi arttırırken, AgRP mRNA seviyesine etki etmediği ve anoreksijenik nöropeptit ajanlar olan POMC ve CART mRNA düzeylerinde azalmaya neden olduğu görüldü. Western Blot yöntemiyle yapılan analizler sonucunda NPY ve AgRP protein ifade düzeyleri artarken POMC ve CART protein ifade seviyelerinin azaldığı. RT-PCR ve Western Blot analizleri ile elde edilen sonuçların birbirleriyle örtüştüğü belirlenmiştir. ELISA yöntemiyle incelenen serum örneklerinde MOTS-c'nin serum leptin seviyesini azalttığı ve serum ghrelin seviyesini arttırdığı gözlemlendi. Tüm bu verilere dayanarak MOTS-c'nin leptin-ghrelin-NPY yolağı üzerinde etki göstererek iştahı artıcı etki gösterdiği sonucuna vardık.

Ancak MOTS-c'nin hipotalamustan salgılanan nöropeptit ajanların yanında iştahı düzenleyen hormonlarla olan ilişkisini açıklayan herhangi bir çalışma henüz yayınlanmamıştır. Bunun yanında vücutta homeostatik dengeyi sağlayan organ sistemleri üzerindeki etkilerinin de araştırılması MOTS-c'nin hangi reseptörlere bağlandığı veya merkezi sinir sisteminde hangi yollar üzerinde etki gösterdiği belirlenerek salgılanma mekanizmasının aydınlatılmasına yardımcı olabilir. Kanser hücre hatları üzerinde yapılacak çalışmalarla da MOTS-c'nin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi incelenebilir. UCP genlerine periferik dokularda MOTS-c uygulaması sonrası nasıl değiştiği incelenerek MOTS-c'nin enerji metabolizması üzerindeki etkileri daha geniş aydınlatılabilir. Tiroit hormonları, kardiyovasküler sistem, gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri incelenerek sistemler üzerindeki etkileri ayrıntılı şekilde ortaya çıkarılabilir. Sıçanlarda testis dokusunda bulunmasından yola çıkılarak ve dişlilerde üreme sistemi üzerinde ne gibi etkileri olduğu gösterilebilir. Fizyopatolojik modeller üzerinde yapılacak çalışmalarla MOTS-c'nin hastalıkları önlemede ya da iyileştirmede ne kadar etkin olduğunu ortaya çıkarabilir.

## KAYNAKLAR

1. James PT. Obesity: the worldwide epidemic. *Clin Dermatol* 2004, 22: 276-80.
2. Carek PJ, Dckerson IM. Current concepts in the pharmacological management of obesity. *Drugs* 1999, 57: 883-904.
3. Monsey MS, Gerhard DM. Obesity. *Yale J Biol Med* 2014, 87: 97-8.
4. Balkancı ZD. Endokrinolojiye Giriş. İçinde: *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Çağlayan Yeğen B (Çeviri editörü). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, Guyton AC, Hall JE. 13. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2017: 925-937.
5. Abdalla MMI. Central and peripheral control of food intake. *Endocr Regul* 2017, 51: 52-70.
6. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake body weight in humans: a review. *Obes Rev* 2006, 8:21-34.
7. Kim SJ, Xiao J, Wan J, Cohen P, Yen K. Mitochondrially derived peptides as novel regulators of metabolism. *J Physiol* 2017,595: 6613-21.
8. Lee C, Zeng J, Drew BG, Sallam T, Montalvo AM, Wan J, Kim SJ, Mehta H, Hevener AL, de Cabo R, Cohen P. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance. *Cell Metab.* 2015, 21: 443-54.
9. Gong Z, Tasset I, Diaz A, Anguiano J, Tas E, Cui L, Kuliawat, Liu H, Kühn B, Cuervo AM, Muzumdar R. Humanin is an endogenous activator of chaperone-mediated autophagy. *J Cell Biol* 2018, 217: 635-47.
10. Wei M, Gan L, Liu Z, Liu L, Chang JR, Yin DC, Cao HL, Su XL, Smith WW. Mitochondrial-derived peptide MOTS-c attenuates vascular calcification and secondary myocardial remodeling via adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling pathway. *Cardiorenal Med* 2020, 10: 42-50.
11. Yong CQY, Tang BL. A mitochondrial encoded Messenger at the nucleus. *Cells* 2018, 7: 1-9.
12. Kim KH, Son JM, Benayoun BA, Lee C. The mitochondrial-encoded peptide mots-c translocates to the nucleus to regulate nuclear gene expression in response to metabolic stress. *Cell Metab* 2018, 28: 1-9.

13. Kim SJ, Miller B, Mehta HH, Xiao J, Wan J, Arpawong TE, Yen K, Cohen P. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c is a regulator of plasma metabolites and enhances insulin sensitivity. *Physiol Rep* 2019, 7: e14171.
14. Lu H, Wei M, Zhai Y, Li Q, Ye Z, Wang L, Luo W, Chen J, Lu Z. MOTS-c peptide regulates adipose homeostasis to prevent ovariectomy-induced metabolic dysfunction. *J Mol Med* 2019, 97: 473-85.
15. Lu H, Tang S, Xue C, Liu Y, Wang J, Zhang W, Luo W, Chen J. Mitochondrial-derived peptide MOTS-c increases adipose thermogenic activation to promote cold adaptation. *Int J Mol Sci* 2019, 20: e2456.
16. Lin D, Chun TH, Kang L. Adipose extracellular matrix remodelling in obesity and insulin resistance. *Biochem Pharmacol* 2016, 119: 8-16.
17. Cataldo LR, Verdejo RF, Santos JL, Galgani JE. Plasma MOTS-c levels are associated with insulin sensitivity in lean but not in obese individuals. *J Investig Med* 2018, 0: 1-4.
18. Du C, Zhang C, Wu W, Liang Y, Wang A, Wu S, Zhao Y, Hou L, Ning Q, Luo X. Circulating MOTS-c levels are decreased in obese male children and adolescents and associated with insulin resistance. *Pediatr Diabetes* 2018, 19: 1058-64.
19. Li Q, Lu H, Hu G, Ye Z, Zhai D, Yan Z, Wang L, Xiang A, Lu Z. Earlier changes in mice after D-galactose treatment were improved by mitochondria derived small peptide MOTS-c. *Biochem Biophys Res Commun* 2019, 513: 439-45.
20. Park KH, Park WJ. Endothelial dysfunction: clinical implications in cardiovascular disease and therapeutic approaches. *J Korean Med Sci* 2015, 30: 1213-25.
21. Qin Q, Delrio S, Wan J, Widmer RJ, Cohen P, Lerman LO, Lerman A. Downregulation of circulating MOTS-c levels in patients with coronary endothelial dysfunction. *Int J Cardiol* 2018, 254: 23-7.
22. Marulanda J, Alqarni S, Murshed M. Mechanisms of vascular calcification and associated diseases. *Curr Pharm Des* 2014, 20: 1-10.
23. Kwan P. Osteoporosis: from osteoscience to neuroscience and beyond. *Mech Ageing Dev* 2015, 145: 26-38.
24. Golob AB, Laya MB. Osteoporosis: screening, prevention and management. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2015, 99: 587-606.
25. Lupsa BC, Insogna K. Bone health and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2015, 44: 517-30.

26. Diab DL, Watts NB. Postmenopausal osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013, 20: 501-9.
27. Vaananen HK, Laitala-Leinonen T. Osteoclast lineage and function. *Arch Biochem Biophys* 2008, 473: 132-8.
28. Ikeda K, Takeshita S. The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. *J Biochem* 2016, 159: 1-8.
29. Boyce BF, Xiu Y, Li J, Xing L, Yao Z. NF-kappaB-mediated regulation of osteoclastogenesis. *Endocrinol Metab Seoul* 2015, 30: 35-44.
30. Kim JH, Kim N. Regulation of NFATc1 in osteoclast differentiation. *J Bone Metab* 2014, 21: 233-41.
31. Jeyabalan J, Shah M, Viollet B, Chenu C. AMP activated protein kinase pathway and bone metabolism. *J Endocrinol* 2012, 212: 277-90.
32. Lee YS, Kim YS, Lee SY, Kim GH, Kim BJ, Lee SH, Lee KU, Kim GS, Kim SW, Koh JM. AMPK kinase acts as a negative regulator of RANKL in the differentiation of osteoclasts. *Bone* 2010, 47: 926-37.
33. Kim JY, Min JY, Baek JM, Ahn SJ, Jun HY, Yoon KH, Choi MK, Lee MS, Oh J. CTRP3 acts as a negative regulator of osteoclastogenesis through AMPK-c-Fos-NFATc1 signaling in vitro and RANKL-induced calvarial bone destruction in vivo. *Bone* 2015, 79: 242-51.
34. Ming W, Lu G, Xin S, Huanyu L, Yinghao J, Xiaoying L, Chengming X, Banjun R, Li W, Zifan L. Mitochondria related peptide MOTS-c suppresses ovariectomy-induced bone loss via AMPK activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2016, 476: 412-9.
35. Zhou S. TGF-beta regulates beta-catenin signaling and osteoblast differentiation in human mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2011, 112: 1651-60.
36. Hu BT, Chen WZ. MOTS-c improves osteoporosis by promoting osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via TGF- $\beta$ /Smad pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018, 22: 7156-63.
37. Che N, Qiu W, Wang JK, Sun XX, Xu LX, Liu R, Gu L. MOTS-c improves osteoporosis by promoting the synthesis of type I collagen in osteoblasts via TGF- $\beta$ /SMAD signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019, 23: 3183-9.
38. Yan Z, Zhu S, Wang H, Wang L, Du T, Ye Z, Zhai D, Zhu Z, Tian X, Lu Z, Cao X. MOTS-c inhibits osteolysis in the Mouse calvaria by affecting osteocyte-osteoclast crosstalk and inhibiting inflammation. *Pharmacol Res* 2019, 147: e104381.



39. Zhai D, Ye Z, Jiang Y, Xu C, Ruan B, Yang Y, Lei X, Xiang A, Lu H, Zhu Z, Yan Z, Wei D, Li Q, Wang L. MOTS-c peptide increases survival and decreases bacterial load in mice infected with MRSA. *Mol Immunol* 2017, 92: 151-60.
40. Halis K. *Sağlık Bilimleri İçin Temel Fizyoloji*, 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2017, 57.
41. Yeğen B, Kurtel H, Alican İ. Otonom Sinir Sistemi. İçinde: *PDQ Fizyoloji*, Alican İ, (Çeviri editörü). *Pdq Physiology*, Ackermann U. 1. Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti., 2006:103.
42. Balkancı ZD. Endokrinolojiye Giriş. İçinde: *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Çağlayan Yeğen B (Çeviri editörü). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, Guyton AC, Hall JE. 13. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2017: 925-937.
43. Yıldırım M. Merkezi Sinir Sisteminin Bütünleştirici İşlevleri. İçinde: *Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri*. Açar E (Çeviri editörü). *Medical Physiology, Principals for Clinical Medicine*, Rhoades RA, Bell DR. 1. Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2017: 119-137.
44. Waterson MJ, Horvath TL. Neuronal regulation of energy homeostasis: beyond the hypothalamus and feeding. *Cell Metab* 2015, 22: 962-70.
45. Bellinger LL, Bernardis LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. *Physiol Behav* 2002, 76: 431-42.
46. Leibowitz SF, Hammer NJ, Chang K. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiol Behav* 1981, 27: 1031-40.
47. Milam KM, Stern JS, Storlien LH, Keeseey RE. Effect of lateral hypothalamic lesions on regulating of body weight and adiposity in rats. *Am J Physiol* 1980, 239: 337-43.
48. Shimizu N, Oomura Y, Plata-Salamán CR, Morimoto M. Hyperphagia and obesity rats with bilateral ibotenic acid-induced lesions of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Brain Res* 1987, 416: 153-6.
49. Travers JB, Travers SP, Norgren R. Gustatory neural processing in the hindbrain. *Annu Rev Neurosci* 1987, 10: 595-632.
50. Kannan H, Hayashida Y, Yamashita H. Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. *Am J Physiol* 1989, 256: 1325-30.
- 51 King PJ. The hypothalamus and obesity. *Curr Drug Targets* 2005, 6: 225-40.

52. World Health Organisation. Obesity: preventing and managing the global epidemic. [https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=AvnqOsqv9doC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Obesity:+preventing+and+managing+the+global+epidemic&ots=6VJ98j\\_SbG&sig=4\\_6znNW2TLRiX-03thWrTQpfwec&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Obesity%3A%20preventing%20and%20managing%20the%20global%20epidemic&f=false](https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=AvnqOsqv9doC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Obesity:+preventing+and+managing+the+global+epidemic&ots=6VJ98j_SbG&sig=4_6znNW2TLRiX-03thWrTQpfwec&redir_esc=y#v=onepage&q=Obesity%3A%20preventing%20and%20managing%20the%20global%20epidemic&f=false) 17.12.2018.
53. Christopoulou-Aletra H, Papavramidou N. Methods used by the hipocratic physicians for weight reduction. *World J Surg* 2004, 28: 513-7.
54. Haslam D. Obesity: a medical histroy. *Obes Rev* 2007, 8: 31-6.
55. Bierman EL, Bagdade JD, Porte Jr D. Obesity and diabetes: the odd couple. *Am J Clin Nutr* 1968, 21: 1434-7.
56. Komaroff M. For researchers on obesity: historical review of extra body weight definintions. *J Obes* 2016, 2016:1-9.
57. Corey KE, Kaplan LM. Obesity and liver disease: the epidemic of the twety-first century. *Clin Liver Dis* 2014, 18: 1-18.
58. Raveendran R, Wong J, Chung F. Morbid obesity, sleep apnea, obesity hypoventilation syndrome: are we sleepwalking into disaster ?. *Preoperative Care and Operating Room Management* 2017, 9: 24-32.
59. Ghanemi A, St-Amand J. Redifining obesity toward classifying as a disease. *Eur J Intern Med* 2018, 55:20-2.
60. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, MacInnis RJ, Moore SC, Tobias GS, Anton-Culver H, Freeman LB, Beeson WL, Clipp SL, English DR, Folsom AR, Freedman DM, Giles G, Hakansson N, Henderson KD, Hoffman-Bolton J, Hoppin JA, Koenig KL, Lee IM, Linet MS, Park Y, Pocobelli G, Schatzkin A, Sesso HD, Weiderpass E, Willcox BJ, Wolk A, Zeleniuch-acquotte A, Willett WC, Thun MJ. Body-mass index and mortality amon 1.46 million white adults. *N Engl J Med* 2010, 363: 2211-9.
61. Solorzano CM, McCartney CR. Obesity and the pubertal transition in girls and boys. *Reproduction* 2010, 140:399-410.
62. Pulgarón ER. Chilhood obesity: a review of increased risk for physical and psychological comorbidites. *Clin Ther* 2013, 35:18-32.
63. Davies L, Marks JL. Role of hypothalamic neuropeptide Y gene expression in body weight regulation. *Am J Physiol* 1994, 266: 1687-91.

64. Lin S, Boey D, Herzog H. NPY and Y receptors: lessons from transgenic and knockout models. *Neuropeptides* 2004, 38: 189-200.
65. Ekblad E, Sundler F. Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. *Peptides* 2002, 23: 251-61.
66. Loh K, Herzog H, Shi YC. Regulation of energy homeostasis by the NPY system. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2015, 26: 125-35.
67. Baird JP, Gray NE, Fischer SC. Effects of neuropeptide Y on feeding microstructure: dissociation of appetitive and consummatory actions. *Behav Neurosci* 2006, 120: 937-51.
68. Seeley RJ, Payne CJ, Wodds SC. Neuropeptide Y fails to increase intraoral intake in rats. *Am J Phys* 1995, 268: 423-7.
69. Archer ZA, Rayner DV, Rozman J, Klingenspor M, Mercer JG. Normal Distribution of Body Weight Gain in Male Sprague-Dawley Rats Fed a High-Energy Diet. *Obes Res* 2003, 11: 1376-83.
70. McKibben PE, Cotton SJ, McMillan S, Holloway B, Mayers R, McCarthy HD, Williams G. Altered neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of obese (fa/fa) Zucker rats. Possible relationship to obesity and neuroendocrine disturbances. *Diabetes* 1991, 40: 1423-9.
71. Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz, Barsh GS. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 1997, 278: 135-8.
72. Hahn TM, Breininger JF, Baskin DG, Schwartz MW. Coexpression of Agrp and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. *Nat Neurosci* 1998, 1: 271-2.
73. Broberger C, Johansen J, Johansson C, Schalling M, Hokfelt T. The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95: 15043-8.
74. Kim MS, Rossi M, Abusnana S, Sunter D, Morgan DG, Small CJ, Edwards CM, Heath MM, Stanley SA, Seal LJ, Bhatti JR, Smith DM, Ghatgei MA, Bloom SR. Hypothalamic localization of the feeding effect of agouti related peptide and alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Diabetes* 2000, 49: 177-82.
75. Fong TM, Mao C, MacNeil T, Kalyani R, Smith T, Weinberg D, Tota MR, Van der Ploeg LHT. ART (protein product of agouti-related transcript) as an antagonist of MC-3 and MC-4 receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1997, 237: 629-31.

- 76.** Mizuno TM, Makimura H, Mobbs CV. The physiological function of the agouti-related peptide gene: the control of weight and metabolic rate. *Ann Med* 2003, 35: 425-33.
- 77.** Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wajabayashi I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 2001, 50: 2438-43.
- 78.** Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001, 50: 227-32.
- 79.** Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatti MA, Cone RD, Bloom SR. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 2002, 418: 650-4.
- 80.** Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hruby VJ, Cone RD. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* 1997, 385: 165-8.
- 81.** Asakawa A, Inui A, Goto K, Yuzuriha H, Takimoto Y, Inui T, Katsuura G, Fujino MA, Meguid MM, Kasuga M. Effects of agouti-related protein, orexin and melanin-concentrating hormone on oxygen consumption in mice. *Int J Mol Med* 2002, 10: 523-5.
- 82.** Qian S, Chen H, Weingarth D, Trumbauer ME, Novi DE, Guan X, Yu H, Shen Z, Feng Y, Frazier E, Chen A, Camacho RE, Shearman LP, Gopal-Truter S, MacNeil DJ, Van der Ploeg LHT, Marsh DJ. Neither agouti-related protein nor neuropeptide Y is critically required for the regulation of energy homeostasis in mice. *Mol Cell Biol* 2002, 22: 5027-35.
- 83.** Zheng H, Corkern MM, Crousillac SM, Patterson LM, Phiber CB, Berthoud HR. Neurochemical phenotype of hypothalamic neurons showing Fos expression 23 h after intracranial AgRP. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002, 282: 1773-81.
- 84.** Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, Horvath TL, Cone RD, Low MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001, 411: 480-4.
- 85.** Eipper BA, Mains RE. Structure and biosynthesis of pro-adrenocorticotropin/endorphin and related peptides. *Endocr Rev* 1980, 1: 1-27.
- 86.** Does RM, Lecaude S, Bauer D, Danielson PB. Analyzing the evolution of the opioid/orphanin gene family. *Mass Spectrometry Rev* 2002, 21: 220-43.

- 87.** Cawley NX, Li Z, Loh YP. Biosynthesis, trafficking and secretion of pro-opiomelanocortin-derived peptides. *J Mol Endocrinol* 2016 56: 77-97.
- 88.** DeBold CR, Nicholson WE, Orth DN. Immunoreactive proopiomelanocortin (POMC) peptides and POMC-like messenger ribonucleic acid are present in many rat nonpituitary tissues. *Endocrinology* 1988, 122: 2648-57.
- 89.** Pintar JE, Schachter BS, Herman AB, Durgerian S, Krieger DT. Characterization and localization of proopiomelanocortin messenger RNA in the adult rat testis. *Science* 1984, 225: 632-4.
- 90.** Clark AJL. The proopiomelanocortin gene: discovery, deletion and disease. *J Mol Endocrinol* 2016, 56: 27-37.
- 91.** Castro MG, Morrison E. Post-translational processing of proopiomelanocortin in the pituitary and the brain. *Crit Rev Neurobiol* 1997, 11: 35-57.
- 92.** Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, Howath TL, Cone RD, Low MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001, 411: 480-4.
- 93.** Semerci CN. Obezite ve Genetik *Gülhane Tıp Dergisi* 2004, 46: 353-9.
- 94.** Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, Berndt SI; Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Bergmann S, Bennett AJ, Bingham SA, Bochud M, Brown M, Cauchi S, Connell JM, Cooper C, Smith GD, Day I, Dina C, De S, Dermitzakis ET, Doney AS, Elliott KS, Elliott P, Evans DM, Sadaf Farooqi I, Froguel P, Ghorri J, Groves CJ, Gwilliam R, Hadley D, Hall AS, Hattersley AT, Hebebrand J, Heid IM; KORA, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Herrera B, Hinney A, Hunt SE, Jarvelin MR, Johnson T, Jolley JD, Karpe F, Keniry A, Khaw KT, Luben RN, Mangino M, Marchini J, McArdle WL, McGinnis R, Meyre D, Munroe PB, Morris AD, Ness AR, Neville MJ, Nica AC, Ong KK, O'Rahilly S, Owen KR, Palmer CN, Papadakis K, Potter S, Pouta A, Qi L; Nurses' Health Study, Randall JC, Rayner NW, Ring SM, Sandhu MS, Scherag A, Sims MA, Song K, Soranzo N, Speliotes EK; Diabetes Genetics Initiative, Syddall HE, Teichmann SA, Timpson NJ, Tobias JH, Uda M; SardiNIA Study, Vogel CI, Wallace C, Waterworth DM, Weedon MN; Wellcome Trust Case Control Consortium, Willer CJ; FUSION, Wraight, Yuan X, Zeggini E, Hirschhorn JN, Strachan DP, Ouwehand WH, Caulfield MJ, Samani NJ, Frayling TM, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Deloukas P, McCarthy MI, Wareham NJ, Barroso I, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes

- RB, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Kraft P, Hankinson SE, Hunter DJ, Hu FB, Lyon HN, Voight BF, Ridderstrale M, Groop L, Scheet P, Sanna S, Abecasis GR, Albai G, Nagaraja R, Schlessinger D, Jackson AU, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet* 2008, 40: 768-75.
- 95.** Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Grüters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by pomc mutations in humans. *Nat Genet* 1998, 19: 155-57.
- 96.** Jackson RS, Creemers JW, Ohagi S, Raffin- Sanson ML, Sanders L, Montague CT, Hutton JC, O'Rahilly S, Jackson RS. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet* 1997, 16: 303-6.
- 97.** Jackson RS, O'Rahilly S, Brain C, Nussey SS. Proopiomelanocortin products and human early-onset obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, 84: 819-20.
- 98.** Yaswen L, Diehl N, Brennan MB, Hochgeschwender U. Obesity in the Mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nat Med* 1999, 5: 1066-70.
- 99.** Douglass J, McKinzie A, Couceyro P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *J Neurosci* 1995, 15: 2471-81.
- 100.** Dominguez G. The CART gene: structure and regulation. *Peptides* 2006, 27: 1913-8.
- 101.** Ludvigsen S, Thim L, Blom AM, Wulff BS. Solution structure of the satiety factor, CART, reveals new functionality of a well-known fold. *Biochemistry* 2001, 40: 9082-8.
- 102.** Dun SL, Brailoiu GC, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Cocaine-and amphetamine-regulated transcript peptide and sympatho-adrenal axis. *Peptides* 2006, 27: 1949-55.
- 103.** Dey A, Xhu X, Carrol R, Turck CW, Stein J, Steiner DF. Biological processing of the cocaine and amphetamine-regulated transcript precursors by prohormone convertases, PC2 and PC1/3. *J Biol Chem* 2003, 278: 15007-14.
- 104.** Dominguez G, Lakatos A, Kuhar MJ. Characterization of the cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide gene promoter and its activation by a cyclic AMP-dependent signaling pathway in GH3 cells. *J Neurochem* 2002, 80: 885-93.
- 105.** Dominguez G, Kuhar MJ. Transcriptional regulation of the CART promoter in CATH.a cells. *Brain Res Mol Brain Res* 2004, 126: 22-9.

- 106.** Barsh GS, Schwartz MW. Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nat Rev Genet* 2002, 3: 589-600.
- 107.** Yeo L, Fan SH, Say YH. Association of the cocaine-and amphetamine-regulated transcript prepropeptide gene (CARTPT) rs2239670 variant with obesity among Kampar health clinic patrons, Malaysia. *Malaysian J Med Sci* 2012, 19: 43-51.
- 108.** Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998, 393: 72-6.
- 109.** Murphy KG, Abbott CR, Mahmoudi M, Hunter R, Gardiner JV, Rossi M, Stanley SA, Ghatei MA, Kuhar MJ, Bloom SR. Quantification and synthesis of cocaine-and amphetamine-regulated transcript peptide (79-102)-like immunoreactivity and mRNA in rat tissues. *J Endocrinol* 2000, 166: 659-68.
- 110.** Jensen PB, Kristensen P, Clausen JT, Judge ME, Hastrup S, Thim L, Wulff BS, Foged C, Jensen J, Holst J, Madsen OD. The hypothalamic satiety peptide CART is expressed in anorectic and non-anorectic pancreatic islet tumors and in the normal islet of langerhans. *FEBS Lett* 1999, 447: 139-43.
- 111.** Kuhar MJ, Adams LD, Hunter RG, Vechia SD, Smith Y. CART peptides. *Regul Pept* 2000, 89: 1-6.
- 112.** Couceyro PR, Paquet M, Koylu E, Kuhar MJ, Smith Y. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide immunoreactivity in myenteric plexus neurons of the rat ileum and co-localization with choline acetyltransferase. *Synapse* 1998, 30: 1-8.
- 113.** Vrang N, Larsen PJ, Clausen JT, Kristensen P. Neurochemical characterization of hypothalamic cocaine- amphetamine-regulated transcript neurons. *J Neurosci* 1999, 19: RC5-RC5.
- 114.** . Hubert GW, Kuhar MJ. Colocalization of CART with substance P but not enkephalin in the rat nucleus accumbens. *Brain Res* 2005, 1050: 8-14.
- 115.** Kuhar MJ. CART Peptides and Drugs of abuse: a review of recent progress. *J Drug Alcohol Res* 2016, 5. doi:10.4303/jdar/235984.
- 116.** Koylu EO, Balkan B, Kuhar MJ, Pogun S. Cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) and the stres response. *Peptides* 2006, 27: 1956-69.
- 117.** Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, Nagata T, Kaga T, Ueno N, Fujino MA, Kasuga M. Cocaine-amphetamine-regulated transcript influences energy metabolism, anxiety and gastric emptying in mice. *Horm Metab Res* 2001, 33: 554-8.

- 118.** Broberger C, Holmberg K, Kuhar MJ, Hökfelt T. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the rat vagus nerve: A putative mediator of cholecystokinin-induced satiety. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999, 96: 13506–11.
- 119.** Kobayashi Y, Peterson BC, Waldbieser GC. Association of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) messenger RNA level, food intake, and growth in channel catfish. *Comp Biochem Physiol- A Mol Integr Physiol* 2008, 151: 219–25.
- 120.** Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold M, Friedman JM. Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994, 372: 425-32.
- 121.** Inne N, Ogawa Y, Tamura N, Masuzaki H, Mori K, Okazaki T, Satoh N, Shigemoto M, Yoshimasa Y, Nishi S, Hosoda K, Inazawa J, Nakao K. Structural organisation and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem* 1995, 270: 27728-33.
- 122.** Gong DW, Bi S, Pratley RE, Weintraub BD. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem* 1996, 271: 3971-4.
- 123.** Green ED, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, Chua SC Jr, Leibel RL, Weissenbach J, Friedman JM. The human obese (OB) gene RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res* 1995, 5: 5-12.
- 124.** Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998, 394: 790–3.
- 125.** Sobhani I, Bado A, Vissuzaine C, Buyse M, Kermorgant S, Laigneau JP, Attoub S, Lehy T, Henin D, Mignon M, Lewin MJ. Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach. *Gut* 2000, 47: 178–83.
- 126.** Hoggard N, Haggarty P, Thomas L, Lea RG. Leptin expression in placental and fetal tissues: does leptin have a functional role ? *Biochem Soc Trans* 2001, 29: 57–63.
- 127.** Deniz G, Saygı Ş. Leptin, neuropeptide Y and obesity. *T Klin J Med Sci* 2002, 22: 217-20.
- 128.** Henson MC, Swan KF, O’Neil JS. Expression of placental leptin and leptin receptor transcripts in early pregnancy and atterm. *Obstet Gynecol* 1998, 92: 1020–8.
- 129.** Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Polverini PJ,



Flores-Riveros JR. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998, 281: 1583–5.

**130.** Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of obesity gene. *Diabetes* 1996,45: 1455-62.

**131.** Donahue RP, Prineas RJ, Donahue RD, Zimmet P, Bean JA, De Courten M, Collier G, Goldberg RB, Skyler JS, Schneiderman N. Is fasting leptin associated with insulin resistance among nondiabetic individuals ? The Miami Community Health Study. *Diabetes Care* 1999, 22: 1092-6.

**132.** Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 1996, 98: 1101–6.

**133.** Meister B. Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. *Vitam Horm* 2000, 59: 265–304.

**134.** Sahu A. Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopio-melanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signaling in the hypothalamus. *Endocrinology* 1998, 139: 795–8.

**135.** Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998, 393: 72–6.

**136.** Baskin DG, Breininger JF, Schwartz MW. Leptin receptor mRNA identifies a subpopulation of NPY neurons activated by fasting in the hypothalamus. *Diabetes* 1999, 48: 828-33.

**137.** Ahima RS, Kelly J, Elmquist JK, Flier JS. Distinct physiological and neuronal responses to decreased leptin and mild hyperleptinemia. *Endocrinology* 1999, 140: 4923-31.

**138.** Nedvidkova J. Leptin. *Chesk Fysiol* 1997, 46: 182-8.

**139.** Wang JL, Chinookoswong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ. Differential effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo. *Endocrinology* 1999, 140: 2117-24.

**140.** Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995, 269: 540-3.

**141.** McNeely MJ, Boyko EJ, Weigle DS, Shofer JB, Chessler SD, Leonetti DL, Fujimoto WY. Association between baseline plasma leptin levels and subsequent development of diabetes in japanese americans. *Diabetes Care* 1999,22: 65-70.

- 142.** Güven S, El-Bershawi A, Sonnenberg GE, Wilson CR, Hoffmann RG, Krakower GR, Kissebah AH. Plasma leptin and insulin levels in weight-reduced obese women with normal body mass index. *Diabetes* 1999, 48: 347-52.
- 143.** Lewin MJ, Bado A. Gastric leptin. *Microsc Res Tech* 2001, 53: 372–6.
- 144.** Attele AS, Shi ZQ, Yuan CS. Leptin, gut, and food intake. *Biochem Pharmacol* 2002, 63: 1579–83.
- 145.** Pico C, Oliver P, Sanchez J, Palou A. Gastric leptin: a putative role in the short-term regulation of food intake. *Br J Nutr* 2003, 90: 735–41.
- 146.** Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402:656-60.
- 147.** Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005, 85: 495-522.
- 148.** Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem* 2004, 50:1511-25.
- 149.** Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003, 37: 649–61.
- 150.** Angelidis G, Valotassiou V, Georgoulas P. Current and potential roles of ghrelin in clinical practise. *J Endocrinol Invest* 2010, 33: 823-38.
- 151.** Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002, 123: 1120-8.
- 152.** Rodriguez A, Gómez-Ambrosi J, Catalán V, Gil MJ, Becerril S, Sáinz N, Silva C, Salvador J, Colina I, Frühbeck G. Acylated and deacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes. *Int J Obes (Lond)* 2009, 33: 541-52.
- 153.** Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin N, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 2008, 132: 387-96.
- 154.** Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Filtri L, Arvat E, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Nonacylated ghrelin does not possess the pituitary and

pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2003, 26: 192-6.

**155.** van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004, 25: 426-57.

**156.** Tsubone T, Masaki T, Katsuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Ghrelin regulates adiposity in white adipose tissue and UCP1 mRNA expression in brown adipose tissue in mice. *Regul Pept* 2005, 130: 97-103.

**157.** Whittle AJ, López M, Vidal-Puig A. Using brown adipose tissue to treat obesity-the central issue. *Trends Mol Med* 2011, 17: 405-11.

**158.** Mano-Otagiri A, Iwasaki-Sekino A, Nemoto T, Ohata H, Shuto Y, Nakabayashi H, Sugihara H, Oikawa S, Shibasaki T. Genetic suppression of ghrelin receptors activates brown adipocyte function and decreases fat storage in rats. *Regul Pept* 2010, 160: 1-3.

**159.** Cai H, Cong WN, Daimon CM, Wang R, Tschöp MH, Sévingy J, Martin B, Maudsley S. Altered lipid and salt taste responsivity in ghrelin and GOAT null mice. *PLoS One* 2013,8: e76553.

**160.** Matsuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 276: 905-8.

**161.** Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, Batterham RL, Benoit SC, Bowers CY, Broglio F, Casanueva FF, D'Alessio D, Depoortere I, Geliebter A, Ghigo E, Cole PA, Cowley M, Cummings DE, Dagher A, Diano S, Dickson SL, Diéguez C, Granata R, Grill HJ, Grove K, Habegger KM, Heppner K, Heiman ML, Holsen L, Holst B, Inui A, Jansson JO, Kirchner H, Korbonits M, Laferrère B, LeRoux CW, Lopez M, Morin S, Nakazato M, Nass R, Perez-Tilve D, Pfluger PT, Schwartz TW, Seeley RJ, Sleeman M, Sun Y, Sussel L, Tong J, Thorner MO, van der Lely AJ, van der Ploeg LJT, Zigman JM, Kojima M, Kangawa K, Smith RG, Horvath T, Tschöp MH. Ghrelin *Mol Metab* 2015, 4: 437-60.

**162.** Lee MO, Clark E. Determination of surface area in the rat. *Am J Physiol* 1929, 89: 24-33.

**163.** Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 5<sup>th</sup> ed. Massachusetts, Elsevier Academic Press, 2005.

**164.** Alzet. Preparation of Artificial CSF. [www.alzet.com/products/guide\\_to\\_use/csf\\_preparation.html](http://www.alzet.com/products/guide_to_use/csf_preparation.html) 20.04.2019.

- 165.** ERDEN Y. Sıçanlarda intraserebroventriküler irisin uygulamasının beyindeki eşleşme bozucu (Uncoupling) protein ailesi üzerine etkileri/ The effect of intracerebroventricular irisin application to the rats on the uncoupling protein family in brain. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2014.
- 166.** Tekedereli I, Alpay SN, Akar U, Yuca E, Ayugo-Rodriguez C, Han HD, Sood AK, Lopez-Berestein G, Ozpolat B. Therapeutic silencing of Bcl-2 by systemically administered siRNA nanotherapeutics inhibits tumor growth by autophagy and apoptosis and enhances the efficacy of chemotherapy in orthotopic xenograft models of ER (-) and ER (+) breast cancer, *Mol Ther-Nucleic Acids* 2013, 2: e121.
- 167.** Schwartz MW, Woods SC, Porte JrD, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000, 404: 661,
- 168.** Sims JS, Lorden JF. Effect of paraventricular nucleus lesions on body weight, food intake and insulin levels. *Behav Brain Res* 1986, 22: 265-81.
- 169.** Hadley ME, Haskell-Luevano C. The proopiomelanocortin system. *Ann N Y Acad Sci* 1999, 885: 1-21.
- 170.** Adan R, Tiesjema B, Hillebrand J, La Fleur S, Kas M, De Krom M. The MC4 receptor and control of appetite. *Br J Pharmacol* 2006, 149: 815-27.
- 171.** Havel PJ. Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Exp Biol Med* 2001, 226: 963-77.
- 172.** Sahu A. Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol* 2003, 24: 225-53.
- 173.** Hillebrand J, De Wied D, Adan R. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. *Peptides* 2002, 23: 2283-306.
- 174.** Marks JL, Waite K. Intracerebroventricular neuropeptide Y acutely influences glucose metabolism and insulin sensitivity in the rat. *J Neuroendocrinol* 1997, 9: 99-103.
- 175.** van den Hoek AM, Voshol PJ, Karnekamp BN, Buijs RM, Romijn JA, Havekes LM, Pijl H. Intracerebroventricular neuropeptide Y infusion precludes inhibition of glucose and VLDL production by insulin. *Diabetes* 2004, 53: 2529-34.
- 176.** Joly-Amado A, Cansell C, Denis RG, Delbes AS, Castel J, Martinez S, Luquet S. The hypothalamic arcuate nucleus and the control of peripheral substrates. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014, 28: 725-37.

# EKLER

## Ek 1. Etik Kurul Onayı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 22.03.2019  
Toplantı Yeri : Tıp. Fak. Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2018/A-51  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : *Wistar albino*  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 50 adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı: 21 Günlük/ 30-50 gr

Doç. Dr. Suat TEKİN'in yürütücüsü olduğu; “**Obezite Oluşturulan Sıçanlarda İntraserebroventriküler MOTS-c İnfüzyonunun İştah Mekanizması Üzerine Etkileri**” isimli 2018/A-51 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmesi şartıyla çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna; **oy birliği ile karar verildi.**

 Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ Başkan	 Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Metin ATAMBAY Üye
 Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN Üye	 Prof. Dr. Başak KAYHAN Üye KATILMADI	 Doç. Dr. Şengül YÜKSEL Üye
 Vet.Hek.Engin KORKMAZ Üye	 Akın ÖZ Sivil Üye KATILMADI	 Av. M. Umut YALÇIN Sivil Üye KATILMADI

## Ek 2. Özgeçmiş



Sarıgüllük Mah.

**Gsm:** 0506 118 80 44

İbrahim Bali Cad.

**E-mail:** mervedurmusfr@gmail.com

No:26 Gençlik Apt.

Kat:2 Daire: 9

Şehitkamil/ GAZİANTEP

## MERVE SOYTÜRK

**Kişisel Bilgiler:** **Doğum Tarihi:** 23.08.1991

**Ehliyet:** Var (B)

**Doğum Yeri:** Gaziantep/ Şahinbey

**Engellilik Durumu:** Yok

**Medeni Durumu:** Evli

### Eğitim Durumu:

**2017-** İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Bölümü Yüksek Lisans

**2011-2016** Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü

**2005-2009** Gaziantep Anadolu Lisesi

**2002-2005** Yüzüncü Yıl İlköğretim Okulu (Gaziantep)- Ortaokul

**1997-2002** Fehime Güleç İlköğretim Okulu (Gaziantep)- İlkokul

### Yabancı Diller:

İngilizce (Konuşma-yazma-okuma iyi derecede)

Fransızca (konuşma-okuma-yazma başlangıç seviyesi)

### İş Deneyimleri:

Özel Gaziantep Yeşeren Umutlar Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi, fizyoterapist (05.09.2016-31.12.2016)

SANKO Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi (07.11.2017- Devam ediyor)

**Katıldığı Bilimsel Çalışmalar:**

Kalkon Grupları İçeren Full Sübstitüe Organosiklofosfazen Türevlerinin A2780 ve MCF-7 Kanser Hücrelerine Karşı Sitotoksisite Özellikleri (43. Ulusal Fizyoloji Kongresi Poster Sunumu)

İntraserebroventriküler MOTS-c İnfüzyonunun Beslenme Davranışı Üzerine Etkisi (TÜBİTAK 1001 Projesi)

Okadaik Asit ile Oluşturulan Alzheimer Modelinde TRPV-1 Kanallarının Rolü

Okadaik Asit ile Oluşturulan Alzheimer Tipi Demans Modelinde Kannabinoid Tip 2 Reseptör Aktivasyonunun Etkisi

Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarına N-(p-amylcinnamoyl) Anakrilik Asitin Etkisi

