



**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI(*Oncorhynchus mykiss*)'NDA
APELİN, GHRELİN VE LEPTİN PEPTİTLERİNİN ELISA
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Müge TOKMAK BİÇER

Yüksek Lisans Tezi

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ

ARALIK-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)'NDA APELİN, GHRELİN VE
LEPTİN PEPTİTLERİNİN ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Müge TOKMAK BİÇER

(111128102)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Programı: Balık Hastalıkları

Danışman: Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 9 KASIM 2017

KASIM-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)' NDA APELİN, GHRELİN VE
LEPTİN PEPTİTLERİNİN ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Müge TOKMAK BİÇER

(11128102)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 14 Kasım 2017

Tezin Savunulduğu Tarih:

Danışman : Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ

Diğer Jüri Üyeleri

KASIM-2017

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanması ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ' ye, Yrd. Doç. Dr. Sermin ALGÜL'e, Yrd. Doç. Dr. Filiz VAROL'a, Arş. Gör. Mücahit EROĞLU' na, Uzman Biyolog Önder BARIM'a, Yüksek Mühendis Mücahit YÜNGÜL'e, Yüksek Mühendis Yüksel KAYA DOĞAN'a araştırmanın yapılabilmesi için gerekli altyapıyı sunan F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na ve Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü'ne, çalışmayı maddi yönden destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimine teşekkür ederim.

Çalışmamın bütün aşamalarında desteğini eksik etmeyen ailme, kıymetli eşim Samet BİÇER'e ve kızım Ezgi Asel BİÇER'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Müge TOKMAK BİÇER

ELAZIĞ - 2017

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	III
SUMMARY	IV
TABLolar LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
1. GİRİŞ	1
2.1. Apelin.....	2
2.2. Ghrelin	4
2.3. Leptin	7
2. MATERYAL ve METOT	11
2.1. Materyal	11
2.1.1. Balık Nakli	11
2.1.2. Anestezi İşlemi.....	12
2.1.3. Boy ve Ağırlık Ölçümü.....	12
2.1.4. Kan Alınması	13
2.1.5. Serum Eldesi	14
2.1.7. Araştırmada kullanılan araç-gereç ve kimyasal maddeler	16
2.2. Metot	16
2.2.1. Elisa Kitlerinin Uygulama Prosedürü	16
2.2.1.1. Apelin Analizi	17
2.2.1.2. Ghrelin Analizi.....	18
2.2.1.3. Leptin Analizi	21
2.2.2. İstatistiksel Analizler.....	22
3. BULGULAR	24
3.1. Apelin düzeyindeki değişmeler.....	25
3.2. Ghrelin Düzeyindeki Değişmeler.....	28
3.3. Leptin düzeyindeki değişmeler	31
4. TARTIŞMA SONUÇ	37
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖZET

Bu çalışmada gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda apelin, Ghrelin ve Leptin peptitlerinin ELISA yöntemi ile araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, ortalama ağırlığı 1.856,00 g± 188,4 olan 20 adet erkek balık ve ortalama ağırlığı 1.599,30 g± 85,2 20 adet olan dişi balık kullanıldı. Labratuvara canlı olarak getirilen alabalıkların kan serumunda bu peptitlerin varlığı boy- ağırlık, cinsiyet ayırımına göre belirlendi.

Çalışma sonucunda *O.mykiss*'in apelin, ghrelin ve leptin düzeyleri dişi ve erkek balıkların istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi.

O.mykiss' de erkek balıkların apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu, apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu, leptin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu görülmektedir.

O.mykiss' de dişi balıkların apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu, apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu, leptin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Peptitler, Apelin, Ghrelin, Leptin, Balık, ELISA

SUMMARY

To Be Researched of Apelin, Ghrelin and Leptin Peptides in *Oncorhynchus Mykiss* by Method of ELISA.

In this study it is aimed to be researched in *oncorhynchus mykiss*, the peptides apelin, ghrelin and leptin by the method of ELISA. For this purpose 20 male fish who have $1.856,00 \pm 188,4$ g weight in average and 20 female fish who have $1.599,30 \pm 85,2$ g weight in average and 20 male fish who have are used. The fish have been brought to the laboratory alive and in their blood serum the existence of the peptides is specified by looking at their length, weight and gender.

In the result of this study when it is analyzed the male and female fish's the level of apelin, ghrelin and leptin it has been seen that the difference between them is unimportant in statistical.

It has been seen that in *O.mykiss* it is unimportant in statistical that the levels of apelin and ghrelin in male fish, when the levels of apelin and ghrelin have been compared the difference is unimportant in statistical between them,when the levels of leptin and ghrelin have been compared the difference is unimportant in statistical.

It has been seen that in *O.mykiss* it is unimportant in statistical that the levels of apelin and ghrelin in female fish, while the level of leptin is higher it is unimportant in statistical, the levels of leptin and ghrelin have been compared and the difference between them is important.

Key Words: Peptides, Apelin, Ghrelin, leptin, Fish, ELISA

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Apelin için seyreltme.....	17
Tablo 2.2. Ghrelin standart hazırlığı.....	19
Tablo 2.3. Leptin için standart hazırlığı.....	21
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan <i>O.mykiss</i> 'e ait cinsiyet, ağırlık ve total boy ölçümleri....	24



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Ortama adaptasyon sağlayan balıkların tanklardan alınması.	11
Şekil 2.2.	Balıkların Anestezi Altına Alınması	12
Şekil 2.3.	Balıkların ağırlıklarının ölçülmesi.	12
Şekil 2.4.	Balıkların boylarının ölçülmesi.	13
Şekil 2.5.	Balıklardan kan alma işlemi	13
Şekil 2.6.	Kanın cam tüplere alınması.....	14
Şekil 2.7.	Kanların oda ısısında bekletilmesi	14
Şekil 2.8.	Kanların santrifüj edilmesi	15
Şekil 2.9.	Serum elde edilmesi	15
Şekil 2.10.	Ependorf tüplere aktarılan serumlar	16
Şekil 2.11.	Apelin için standart hazırlığı.....	17
Şekil 2.12.	Ghrelin için seyreltme oranları.....	19
Şekil 2.13.	Leptin için seyreltme oranı.....	21
Şekil 3.1.	Dişi ve erkek balıkların apelin düzeyleri.....	25
Şekil 3.2.	Erkek balıklarda apelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.	26
Şekil 3.3.	Erkek balıklarda apelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki.....	26
Şekil 3.4.	Dişi balıklarda apelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.	27
Şekil 3.5.	Dişi balıklarda apelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişkisi.	27
Şekil 3.6.	Dişi ve erkek balıkların ghrelin düzeyleri	28
Şekil 3.7.	Erkek balıklarda ghrelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişkisi.....	29
Şekil 3.8.	Erkek balıklarda ghrelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişkisi.	29
Şekil 3.9.	Dişi balıklarda ghrelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişkisi.	30
Şekil 3.10.	Dişi balıklarda ghrelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişkisi.	30
Şekil 3.11.	Dişi ve erkek balıkların leptin düzeyleri	31
Şekil 3.12.	Erkek balıklarda leptin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişkisi.	32
Şekil 3.13.	Erkek balıklarda leptin düzeyi ve total boy arasındaki ilişkisi.....	32
Şekil 3.14.	Dişi balıklarda leptin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişkisi.	33
Şekil 3.15.	Dişi balıklarda leptin düzeyi ve total boy arasındaki ilişkisi.	33
Şekil 3.16.	Erkek balıklarda apelin ve ghrelin düzeyleri.	34
Şekil 3.17.	Erkek balıklarda leptin ve apelin düzeyleri.....	34
Şekil 3.18.	Erkek balıklarda leptin ve ghrelin düzeyleri.	35
Şekil 3.19.	Dişi balıklarda apelin ve ghrelin düzeyleri.	35
Şekil 3.20.	Dişi balıklarda leptin ve apelin düzeyleri.....	36
Şekil 3.21.	Dişi balıklarda leptin ve ghrelin düzeyleri	36

1. GİRİŞ

Beslenmenin kontrol edilmesi ve doyunluk oldukça karışık olup, çok fonksiyonlu bir mekanizmadır. Bütün omurgalılarda vücut ağırlığı ve iştahın düzenlenmesi, bir bütün olup, beyin ve çevresel faktörlerle (sıcaklık, ışık vs.) ilişkilidir. Balıklarda, besin alımı ve enerji dengesi arasındaki ilişki vücut ağırlığının düzenlenmesini sağlar. Besin alımı ile besinsel statü, çevreden gelen sinirsel ve endokrin sinyallerle metabolik bir süreç içinde düzenlenir (Parkand ve Bloom, 2005; Volkoff, 2006).

Balıklarda besin alımı ve büyüme, hipotalamus ile nöropeptitler arasındaki bağlantılarla düzenlenerek uyarıcı (oreksijenik) veya inhibe edici (anoreksijenik) etki yapar (Strader ve Woods, 2005). Balıklarda iştahla ilgili bilinen, besin alımını artıran en önemli peptidler arasında galanin, ghrelin, bombesin, MSH (Melanin uyarıcı hormon), CRH (Kortikotropin salgılatıcı hormon), MCH (hemoglobin miktarı), CCK (kolesistokinin salgılatıcı hormon), Y (NPY) ve oreksin A-B yer alır. Bu peptitler besin alımını artıran en önemli peptitlerdendir. Diğer yandan leptin, kolesistokinin (CCK), kortikotropin uyarıcı faktör (CRF) ve bombesin (gastrin uyarıcı peptit), balıklarda besin alımını engelleyici (anoreksijenik) etkiye sahiptir (Volkoff, 2006).

İştahın düzenlenmesinde çevresel sinyaller, doyunluk işaretlerini de kapsar, bu durum gastrointestinal bölge ve yağ dokusundan kaynaklanır. Bunların kandaki düzeyleri vücutta besinlerin depolanma oranlarını ayarlar. Bu gastrointestinal peptitlerin çoğu beyin içinde sentezlenir ve böylece daha sonra beyin-bağırsak peptidi olarak gönderilir. Gastrik faktörlerden bazı sinyaller, besin alımını ve yeme oranını azaltır. Bunlardan en iyi bilinenlerinden iki tanesi, yağ dokusu hücrelerinden salgılanan, yağ dokusu sinyali olan leptin ve beta pankreatik hücrelerden salgılanan insülin dir. Bütün bu çevresel sinyaller, beyini etkiler ve iştahla ilgili nöropeptitlerin uyarılmasını modüle eder ve sonuçta besin alımını etkiler (Volkoff vd, 2005).

Nöropeptitlerin işlevlerinin anlaşılması balıklarda beslenme mekanizmasının ve yem değerlendirilmesinin anlaşılması açısından önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tanımlanan bazı balık nöropeptitlerinin memelilerin beslenme ile ilgili peptitlerine homolog olduğunu göstermektedir. Balıklarda tanımlanan peptitlerin balık

beslenmesindeki düzenleyici rolleri ve aralarındaki ilişkiler yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Volkoff vd., 2005).

Balıklarda enerji homeostasisi, besin alımı ve metabolizmanın düzenlenmesi hakkında bilgiler sınırlıdır (Volkoff, 2006). Balıklarda beslenme ve iştah ile yapılan çalışmalar daha çok yem kompozisyonu ve sindirimle ilgili ya da çevresel faktörlerin etkisinin belirlenmesiyle ilgilidir (Petit vd., 2003). İştahın sinirsel iletilerle düzenlenmesine ilişkin çalışmalar son yıllarda başlanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda, elektriksel uyarılar veya spesifik beyin bölgelerindeki lezyonlar göstermiştir ki memelilerde olduğu gibi, balıklarda da besin alımının kontrolü hipotalamus bölgesidir (Yamamoto vd., 2002).

Gökkuşluğu alabalığında apelin, ghrelin ve leptin düzeylerinin belirlenmesinde enzim linked immunosorbent assay (ELISA); yüksek duyarlılıkta olması, diğer testlere göre daha kısa sürede sonuç alınması, çok sayıda örneğin eş zamanlı muayene edilebilmesi ve sonuçların tekrarlanabilirliğinin yüksek olması gibi avantajlarından dolayı tercih edilmektedir. ELISA'nın kullanılması maliyet, iş gücü ve zaman açısından büyük avantajlar sağlayacaktır.

Bu çalışmada *Oncorhynchus mykiss* (*O.mykiss*) 'de beslenme ile ilgili peptitlerden apelin, ghrelin ve leptin düzeylerinin tespiti amaçlanmıştır.

2.1.Apelin

Totemato vd. tarafından 1998 yılında tanımlanan apelin, ilk olarak sığır midesinden izole edilmiştir. Vücudun çeşitli bölümlerinde endotelial hücrelerinden üretilen bu peptid, adipoz dokunun yeni bir üyesidir (Kleinz ve Davenport, 2005). Apelin; birçok bölgeden genellikle DNA kontrolünde 77 prepropeptid olarak sentezlendikten sonra apelin-12, apelin- 13, apelin-17 ve apelin-36 gibi farklı sayıda aminoasitlere sahip fragmanlar oluşmaktadır (Heinonen vd., 2009).

Apelinin biyolojik etkileri formlarına göre değişiklik göstermektedir. 13 ve 17 aminoasitten oluşan apelinin, 36 aminoasit içeren apelin formundan daha güçlü bir biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Apelin-13'ün yüksek biyolojik aktiviteye sahip olması nedeniyle araştırmalar apelinin bu formu üzerine yoğunlaşmıştır (Tatemoto vd., 1998). Yapılan çalışmalar, apelinin kardiyovasküler fonksiyonlar (Katugampola vd., 2003), ön hipofiz fonksiyonları ve sıvı homeostazisinin düzenlenmesi üzerinde rolünün

olduğunu (Reaux vd., 2001) ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunda da bir koreseptör olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur (Cayabyab vd., 2000).

Yeni bir adipokin olan apelinin birçok fizyolojik etkileri bulunmaktadır. Özellikle kardiovasküler sistem ve hipotalamusta hem sirkülasyon hem de parakrin olarak apelinin bir nörotransmitter olarak davrandığına dair kanıtlar vardır. Apelin benzersiz özellikleri olan ve yararlı özellikler gösteren yeni bir adipositokindir (Lee vd., 2006).

Memelilerde apelinin, gastrointestinal sistem, adipoz doku, merkezi sinir sistemi, beyin, akciğer, böbrek, karaciğer, meme bezi, yumurtalık ve kalp damar sistemi gibi pek çok doku, organ ve vücut sıvılarında mevcut olduğu (Tatemoto vd., 1998), kardiyovasküler fonksiyonları düzenleyerek, kan basıncı ve kan akışını kontrol edip (Kleinz vd., 2005) sıvı hemostazını düzenlediği bildirilmiştir. (Llorens-Cortes ve Moos, 2008).

Balıklarda apelinin işlevi ve yapısı hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Apelinin balıklarda enerji hemostazının düzenlenmesinde ve beslenmede önemli bir düzenleyici olabileceği ileri sürülmektedir. Apelinin balıklarda bağışıklık, osmoregülasyon ve üreme gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynadığını belirtmişlerdir (Volkoff ve Wyatt, 2009)

Yapılan bir çalışmada (Quertermous, 2007; Zeng vd., 2007; Volkoff ve Wyatt, 2009), apelinin *Danio rerio*'da kardiyovasküler fonksiyonları düzenlediği, ayrıca apelin seviyesinin artıp azalması ile kardiyovasküler gelişimde eksikliklere neden olduğu ifade edilmiştir.

Volkoff ve Wyatt, (2009) *Carassius auratus*' da apelin cDNA sekansını belirlemiş, PCR yöntemiyle apelin mRNA'nın beyin, dalak, böbrek, karaciğer, kas, sindirim kanalı, gonad, solungaç, kalp ve yağ dokuda mevcut olduğunu saptamış, ayrıca besin alımı ve enerji dengesinde önemli bir regülasyon olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Köprücü ve Algül ., (2014) tarafından *Capoeta trutta* ve *Cyprinus carpio* üzerine yapılan bir çalışmada kan serumunda apelin-13 seviyeleri ELİSA yöntemi ile incelenmiş ve apelin-13 'ün *Capoeta trutta*'nın kan serumunda *Cyprinus carpio*' ya göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

2.2.Ghreltin

Ghreltin 1999 yılında Japon bilim adamları (Kojima vd.,1999) tarafından keşfedilmiştir ve temel olarak mide fundusundan salınan 28 amino asitlik (aa) lipopeptid yapıda bir hormon olduğu bildirilmiştir.

Ghreltin hormonunun ana kaynağının midenin fundus ve piloris bölgelerindeki nöroendokrin hücreler olduğu ve burada üretildikten sonra dolaşıma katıldığı ifade edilmiştir (Date vd., 2000).

Gastrik ghreltin üretiminin hormonal ve besinsel faktörler tarafından düzenlendiği bildirilmiştir (Pinkney vd., 2002; Fujino vd., 2003).

Ghreltin peptidi, midede üretilen hazmettirici peptidlerden farklı olarak, sadece gastrointestinal bölgede sınırlı kalmayıp gastrik kan damarları içine salınarak, bütün vücut boyunca sirküle olmaktadır. Hatta yapılan çalışmalarda ghreltin hormonunun kan-beyin bariyerini geçtiği de tespit edilmiştir (Masuda vd., 2000; Banks vd., 2002; Dass vd., 2003).

Bu hormonun mideden başka, hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, bağırsaklar (duodenum, ileum, sekum ve kolon), böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, merkezi sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem (Kojima ve Kangawa 2005; Aydın vd., 2006), meme (Aydın vd., 2006; Kierson vd.,2006) ve dişlerde de sentezlendiği bildirilmiştir (Kojima vd., 1999; Sakata vd., 2002; Aydın vd.,2007).

Ghreltin mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmekle birlikte miktar olarak en fazla mide fundusunda bulunmuş, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, mide antrumu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, ovaryum, prostat, sağ kolon, ileum, dalak, fallopian tüp, lenfositler, testis, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriyum, tiroid, miyokardiyum ve derinin takip ettiğini belirlenmiştir (Gnanapavan vd., 2002). Ayrıca yapılan başka çalışmada ghreltin mRNA'sına beyinde, kalpte, akciğerde, karaciğerde, uterusda, böbrekte, bağırsakta, yağ dokuda, testiste (Kojima vd.,1999; Tena-Sempere vd., 2002), plasental dokuda (Guallino vd., 2001), immün hücrelerde (Hattari vd., 2001; Wang vd., 2002), pankreasta (Volante vd., 2002; Lai vd., 2005), tükrükte (Aydın vd., 2005a, 2006b) ve prostat dokusunda da rastlanmıştır (Wang vd., 2002).

Yarılanma ömrü 15-20 dakika olan ghrelin; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır (Aydın vd., 2006). Bünyesinde oktanil grubu içeren ghrelin aktif ghrelin (aGAH). Bünyesinde yağ asidi içermeyen ghrelin ise desaçile ghrelin (dGAH) ve desaçile ghrelin inaktif ghrelin olarak da bilinmektedir (Korbonits vd., 2004; Aydın vd., 2006).

Balıklardaki ghrelinin amino asit sayısı memelilerdekinden az olup genellikle 19 ve 21 aa arasında değişmektedir ve omurgalılarda ghrelin salgılanmasının enerji homeostazını sürdürmede rol aldığı ifade edilmiştir (Kojima ve Kangawa 2005).

Volkoff vd., (2005) yaptıkları araştırmalar sonucunda ghrelinin balıklarda beslenme, metabolizma ve üremede önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir.

Unniappan vd., (2002) *Carassius auratus*'un midesinde ghrelin izole etmişler ve ghrelin DNA karakterizasyonunun, kısmi gen yapısı ve besin alımında uyarıcı rolü olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *Carassius auratus*'da ghrelin mRNA ekspresyonunu beyinde, hipofizde, bağırsakta, karaciğerde, dalakta ve solungaçta PCR, Southern blot analizleri ile bağırsakta ise Northern blot analizi ile tespit etmişlerdir.

Kaiya vd., (2003a) *O.mykiss*'in midesinde ghrelini tespit etmişler, ghrelin mRNA ekspresyonunu da en yüksek midede, orta seviyede ise, beyin, hipotalamus ve bağırsaklarda saptamışlardır. Ghrelin mide dışındaki çeşitli dokularda ekspre edildiğinden dolayı hücresel fonksiyonda lokal bir düzenleyici olarak önemli rol oynayabileceğini göstermiştir.

Oreochromis mossambicus' da ghrelin'in, büyüme hormonu ve prolaktin salınımına etkileri üzerine yapılan bir çalışmada *Oreochromis mossambicus* midesinde ghrelin ve cDNA kodlayan protein tespit edilmiştir. Midede yüksek seviyelerde, beyinde, böbrekte ve solungaçta ise düşük seviyelerde gen ekspresyonuna sahip olduğu yapılan PCR analizi ile ortaya konulmuştur (Kaiya vd., 2003b).

Oreochromis niloticus'da PCR analizi kullanılarak yapılan çalışmada (Parhar vd. 2003) ghrelin mRNA' nın en fazla midede bulunduğu, beyinde, hipofizde, kalpte, böbrekte, yumurtalıkta ve testislerde ise bulunmadığı ortaya konulmuştur. Bununla birlikte midede bulunan ghrelinin yaş/vücut boyutuna bağlı olarak artış gösterdiği görülmüştür. Ayrıca ghrelin mRNA düzeylerinin, aç bırakılan cinsel olgunluğa erişmiş balıklarda

değişmediğini, dişilerde erkeklere kıyasla belirgin olarak daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Northern blot ve RT-PCR analizleri ile *Anguilla japonica*'da yapılan çalışmada midede yüksek seviyede; beyin, bağırsak ve böbrekte ise düşük seviyede ghrelin gen ekspresyonunun olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, ghrelinin, prolaktin hormonunu uyardığını, bunun da ghrelinin direkt olarak hipofiz üzerinde etkisinin bulunduğu bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (Kaiya vd., 2003c).

Lota lota' da yapılan bir çalışmada (Nieminen vd., 2003), yumurtlama öncesi döneminde ghrelin düzeyindeki değişimin düşük olduğu, *Acanthopagrus schlegeli* üzerinde yapılan çalışmada da (Chan ve Cheng, 2004) beyin ve hipofiz içinde özellikle hipotalamusda fazla oranda ghrelin salgılandığı belirlenmiştir.

Son yıllardaki çalışmalar, balıklarda beslenmenin kontrolünde ghrelininde rolü olduğunu göstermiştir. Merkezi ve çevresel enjeksiyonlar, *Carassius auratus*' da besin alımını uyarmıştır. *Carassius auratus*' da, serumdaki ghrelin düzeyinin azalmasıyla, doygunluk sonrasında hipotalamus ve sindirim sisteminde ghrelin oluşumunu sağlayan mRNA sentezi de azalmıştır. Tokluk öncesinde ghrelindeki değişiklik, beyinde ve bağırsakta mRNA sentezi ile serum ghrelin düzeyini ayarlamaktadır. *Carassius auratus* 'da 7 günlük açlık durumunda, hipotalamus ve bağırsakta ghrelin mRNA sentezini arttırdığını göstermiştir (Uniappan vd., 2004). Bununla birlikte bu dönem, karaciğer glikojenoliz ve lipid mobilizasyonunun oranının yüksek olması ile karakterize edilmiş, fakat yumurtlamadan sonra ghrelin derişimi artmış, karaciğer glikojenoliz baskılanmış ve glikoneogenezis oranının arttığı bildirilmiştir (Mustonen vd., 2002).

Sakata vd. (2004) erkek ve dişi *O.mykiss*' de gastrointestinal sistemindeki ghrelin üreten hücrelerin varlığını immünohistokimyasal yöntemler kullanarak belirlemişlerdir. Ghrelin hücrelerini, midenin mukozal tabakasında bulmuşlar, ancak myenterik pleksusta ve gastrointestinal sistemin diğer bölgelerinde ghrelin hücresi gözlemlememişlerdir. Ghrelin hücrelerinin yoğunluğu, her iki cinsiyette de midenin pilorik kısımlarına doğru yavaş yavaş artmış ve birim alan başına ghrelin hücrelerinin sayısı dişilerde erkeklerden daha yüksek olarak bulunmuştur.

Kaiya vd. (2006) *Anguilla japonica* plazmasında radyoimmunoassay ve histokimyasal yöntemler kullanarak midede çok sayıda immunoreaktif ghrelin türü tespit etmişlerdir.

2.3.Leptin

Zhang vd. tarafından 1994 yılında keşfedilen leptin, sitokinlere benzeyen ve 167 aminoasit içeren protein yapısında bir hormondur. Leptin memelilerde yağ dokusu tarafından salgılanan bir peptid hormonudur (Zhang vd., 1994; MacDougald vd., 2006) ve obezite geninin ürünü olarak (Halaas vd., 1995) bulunmaktadır. Aynı zamanda mide, iskelet, hipofiz (Björbaek ve Kahn, 2004; Harvey ve Ashford, 2003), beyin, hipotalamus (Håkansson vd., 1998; Harvey ve Ashford, 2003) gibi diğer organlarda üretildiği belirtilmiştir.

Leptin, vücutta beyin (özellikle hipotalamus) üzerine iştah azaltıcı sinyal göndermek, memelilerde gıda alımını düzenlemek (Friedman ve Halaas, 1998; Makimura vd., 2001, Poykko vd. 2003; Banks vd., 2004), üreme (Moschos vd., 2002; Poykko vd. 2003; Zieba vd., 2005;), bağışıklık fonksiyonu (Fantuzzi ve Faggioni, 2000), enerji harcanması (Myers ve Simerly, 2010; Kobayashi vd., 2011), lipit ve karbonhidrat metabolizması (Havel, 2004; Lu vd., 2012) gibi bir dizi fizyolojik fonksiyonlarda önemli rol oynamaktadır. Leptin aynı zamanda vücut ağırlığı, büyüme, stres reaksiyonları, kardiyovasküler fonksiyon, kemik metabolizması, termoregülasyon, anjiyojenez, tiroid fonksiyonunu (Zhang vd., 2013, Harvey ve Ashford, 2003, Poykko vd. 2003; Rahmouni ve Haynes 2004; Gimble ve Nuttal 2004; Qi vd., 2007), cinsel gelişim, kan yapımı, gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi, sempatik sinir sistemi uyarılması ve yeni damar oluşumunda çok önemli rollere sahiptir (Poykko vd. 2003; Qi vd., 2007).

Leptin günlük ve düzenli olarak salınır. Serum leptininin en yüksek düzeyi sabah erken saatlerde olurken, en düşük düzeyi öğleden sonradır (Aslan vd., 2004, Gültürk ve Demirkazık 2007).

Leptin vücudun sahip olduğu enerji deposu ve beslenme durumuna göre yağ dokusu kitlesi ile orantılı olarak salgılanıp ihtiyaca göre iştahı arttırarak veya azaltarak enerji tüketimini düzenleyip vücudun kitle kontrolünü sağlamaktadır (Nogueiras vd., 2007)

Leptin etkisinin en hızlı ve güçlü olduğu yer hipotalamustaki arkuat ve paraventriküler çekirdeklerdir. Bu çekirdekler vücuda besin alımı ve enerji harcamasını ayarlayan hormonların etkinliklerini düzenlemektedir. Arkuat çekirdekte besin alımını kontrol eden iki farklı sinir hücresi grubu vardır. Bir grubu besin alımını hızlandırır ve enerji harcamasını azaltır, diğer grup ise besin alımını azaltarak enerji harcamasını artırır. Besin alımını hızlandıran sinir hücreleri NPY sentezlerler ve iştah açıcı etki ile beslenmeyi uyarırlar. Diğer grup ise melanokortin peptidleri sentezlerler, aynı beyin bölgesine etki eder, fakat gıda alımını baskırlar. NPY yapan sinir hücreleri aynı zamanda “Agouti-related peptide” (AgRP) de yaparlar ve melanokortin ağlaçlarını etkisizleştirirler. Leptinin ana etki mekanizması, birçok hipofizer hormonun düzenlenmesinde görev alan ve asıl etkisi iştahı artırmak olan NPY'nin, arkuat nükleus'dan salınımı baskılamaktır (Zhang vd.,2005)

Günümüzde leptin, sadece memelilerde ve kuşlarda izole edilmiştir (Doyon vd., 2001). Bununla birlikte yeni yapılan çalışmalarla, balık ve diğer aşağı omurgalılarda da leptinin salgılandığı belirlenmiştir (Mustonen vd., 2002; Nieminen vd., 2003; Volkoff vd., 2005). Leptin benzeri immünreaktifler amfibilerin kan ve dokusunda (Muruzabal vd., 2002), sürüngenlerde (Boorse ve Libbon 2010; Murazabal vd., 2002; Volkoff vd., 2005), kertenkelelerde bulunmaktadır (Paolucci vd., 2001).

Balıklarda, leptin ilk olarak *Takifugu rubripes* (Kurokawa vd., 2005), *Cyprinus carpio* (Huising vd., 2006), *O.mykiss* (Murashita vd., 2008), *Oryzias latipes* (Kurokawa ve Murashita, 2009), *Danio rerio* (Gorissen vd, 2009), *Salvelinus alpinus* (Froiland vd., 2007) *Salmo salar* (Ronnestad vd., 2010), *Ctenopharyngodon idella* (Li vd., 2010) ve *Epinephelus coioides* (Zhang vd., 2013) dahil olmak üzere diğer balık türlerinde bulunduğu belirtilmiştir.

Oncorhynchus kisutch (Baker vd., 2000) ve *Ictalurus punctatus* (Silverstein ve Plisetskaya, 2000) ile yapılan çalışmalarda, leptin uygulamasının besin alımı ve ağırlık kaybı üzerine etki yapmadığı rapor edilmiştir.

Oncorhynchus kisutch (Baker vd., 2000) ve *Lepomis cyanellus* (Londrville ve Duvall, 2002) ile yapılan araştırmalarda leptin uygulamasının gıda alımına veya vücut ağırlığına etki etmediği ifade edilirken, *Carassius auratus*'da leptinin periferik ve merkezi

enjeksiyonuyla gıda alımının azaldığı belirtilmiştir(Volkoff vd., 2005). *Lepomis cyanellus*' da leptinin gıda alımını etkilemediği gözlemlenmiştir (Londraville ve Duvall, 2002).

Ettore vd. (2012), *O.mykiss* ve *Maccullochella peelii peelii* 'de gastrointestinal sistem ve kanda ghrelin ve leptin seviyelerinin farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Francisco vd. (2002), alabalık, kurbağa, kertenkele ve yılan midelerinde immunohistokimyasal olarak leptin varlığını, Vegusdal vd., (2003), ise salmon yağ dokusu içinde leptin benzeri proteini belirlemişlerdir.

Volkoff vd., (2003), *Carassius auratus*'da leptininin hem çevresel hem merkezi injeksiyonunda besin alımının azaldığını belirtmiştir. Nieminen vd., (2003) soğuk sularda yaşayan ve aç bırakılan *Lota lota*' larda ghrelin ve leptinin enerji metabolizması üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve leptin ile ghrelini karaciğerde tespit etmişlerdir.

Murashita vd. (2008) tarafından *O.mykiss* de leptini kodlayan tam uzunlukta cDNA belirlenmiş ve cDNA'ya dayanarak, *Escherichia coli*'de saf rekombinant leptin üretilerek *O.mykiss*'de gıda alımının nihai veriminin 20 mg/L olarak arttığı gözlemlenmiştir. Peter vd. (2009) tarafından ise *O.mykiss*'de açlık süresince plazma da yüksek oranda leptinin varlığı radyoimmünoassay yöntemi ile belirlenmiştir. *O.mykiss* de yapılan diğer bir çalışmada (Pfundt vd., 2009) ise immünohistokimyasal yöntem kullanılarak karaciğer dokusunda leptin immünreaktivitesi gösterilmiştir. Yine *O.mykiss* üzerine yapılan başka bir araştırmada (Peter vd., 2009) aç bırakılan balıkların plazmalarında leptin seviyelerinin arttığı ifade edilmiştir.

Salvelinus alpinus' da ghrelin ve leptinin mevsimsel değişimlerinin, uzun vadeli enerji homeostazisinin düzenlenmesinde rolü olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte sonbaharda karaciğerde leptin ekspresyonundaki artışın cinsel olgunlaşma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Eirik vd., 2009).

Teleostlarda leptinin fizyolojik rolü ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlar; iştah, vücut ağırlığını düzenleme ve metabolizma işleviyle ilgilidir (Mustonen vd., 2002; Denver vd., 2011), bunun yanında teleostların çoğalmasında leptinin herhangi bir rolünün olduğu keşfedilmemiştir (Trombley ve Schmitz, 2013).

Teleostlarda, leptin reseptörü ilk olarak *Oryzias melastigma*' dan tespit edilmiştir (Wong vd., 2007). Bundan sonra, çeşitli balık türlerinde leptin reseptörü klonlanmış ve leptin reseptörünün aracılık ettiği eylemin beslenme davranışı üzerindeki etkileri, iştah kontrolü ve büyümede rol alan nöropeptidler araştırılmıştır (Li vd., 2010; Ronnestad vd., 2010; Fuentes vd., 2012; Kling vd, 2012; Won vd, 2012; Choi vd, 2014).

Cyprinus carpio ve *Capoeta trutta*' nın kan serumundaki leptin seviyesinin belirlenmesi amaçlanan çalışmada leptin düzeyleri, iki tür arasında ve her türün cinsiyetleri arasında karşılaştırılmış ve buna ek olarak, leptin seviyeleri hem *C. trutta* hem de *C. carpio*' nun vücut ağırlığı ve uzunluğu ile kıyaslanmış *C.trutta* kan serumundaki leptin seviyesi *C.carpio* 'ya göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Köprücü ve Algül., 2014).

Balıklarda, leptin ağırlıklı olarak memelilerde olduğu gibi yağ depolamadan ziyade karaciğerde enerji depoladığı konusunda araştırma yapılmış; balıklarda ve omurgalı hayvanlarda beslenme durumuyla somatik büyümeyi koordine etmek için önemli bir mekanizma olabileceğini bildirmişlerdir (Eugene vd., 2015).

Oreochromis mossambicus' de leptinin metabolik durumu, kontrolü, insülin benzeri büyüme faktörleri, hipofiz büyüme hormonu ve hepatik büyüme hormonu reseptörleri arasındaki düzenleyici etkileşimlerinin incelenmesi sonucunda, balıklardaki enerji homeostazını ve metabolizmasını düzenleyebileceği kanısına varmışlardır (Jonathan vd., 2016).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan balıklar (*Onchorhynchus mykiss*) Elazığ iline 45 km uzaklıktaki Keban ilçesinde bulunan Keban Alabalık Anonim Şirketine ait tesisten elde edildi. Çalışmada ortalama ağırlığı $1.856,00 \pm 188,4$ g ortalama total boyu $51,19 \pm 1,8$ cm olan toplam 20 adet erkek gökkuşuğu alabalığı ve ortalama ağırlığı $1.599,30 \pm 85,2$ g ortalama total boyu $50,43 \pm 0,98$ olan toplam 20 adet dişi gökkuşuğu alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) kullanıldı.

2.1.1. Balık Nakli

Keban Alabalık Anonim Şirketine ait tesisten alınan canlı alabalıklar oksijenli balık nakil tankıyla taşınarak Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Deneyle Uygulama Laboratuvarına getirildi. Laboratuvarında su giriş ve çıkışı olan 95x80x75 cm boyutlarında olan 4 adet fiberglass teknelere yerleştirildi. Balıkların ortama adaptasyonları sağlandı (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Ortama adaptasyon sağlayan balıkların tanklardan alınması.

2.1.2. Anestezi İşlemi

Adaptasyonu sağlanan balıkların her birine 5 ml/L olacak şekilde fenoksietanol uygulanarak (Matson ve Ripley, 1989) genel anestezi yapıldı (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Balıkların anestezi altına alınması

2.1.3. Boy ve Ağırlık Ölçümü

Anestezi edilen balıkların boy ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Balıkların ağırlıkları dendi marka terazi (Şekil 2.3.) ile boyları ise ölçüm tahtası kullanılarak (Şekil 2.4.) ölçüldü.



Şekil 2. 3. Balıkların ağırlıklarının ölçülmesi



Şekil 2.4. Balıkların boylarının ölçülmesi

2.1.4. Kan Alınması

Boyları ve ağırlıkları ölçülen balıkların kavdal yüzgecinin gövdeyle birleştiği yerden kesilerek (Şekil 2.5.) kavdal venden gelen kan kapaklı cam biyokimya tüplerine alındı (Şekil 2.6.).



Şekil 2.5. Balıklardan kan alma işlemi



Şekil 2.6. Kanın cam tüplere alınması

2.1.5. Serum Eldesi

Biyokimya tüplerindeki kanlar oda ısısında 2 saat bekletildikten sonra (Şekil 2.7.), dakikada 4000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serum elde edildi(Şekil 2.8.).



Şekil 2.7. Kanların oda ısısında bekletilmesi

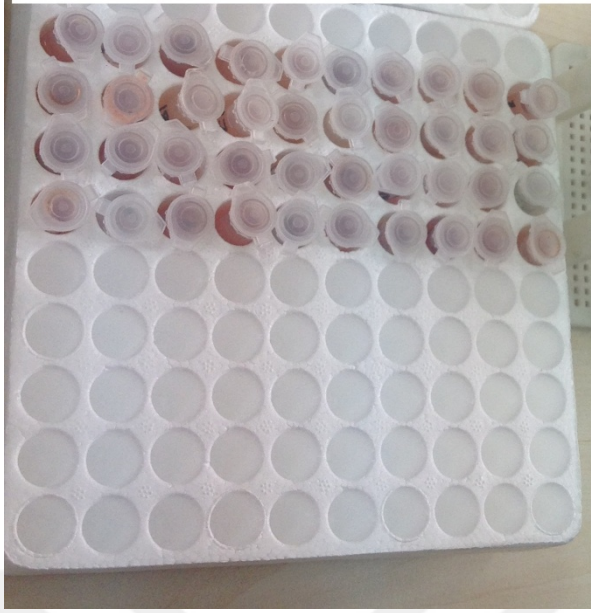


Şekil 2.8. Kanların santrifüj edilmesi

Santrifüjden sonra ayrılan serum (Şekil 2.9.) mikro pipet yardımıyla ependorf tüplere aktarıldı (Şekil 2.10.). Serum örnekleri testlerin uygulanacağı güne kadar Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarında bulunan -20°C ' deki derin dondurucuda muhafaza edildi.



Şekil 2. 9. Serumun elde edilmesi



Şekil 2.10. Ependorf tüplere aktarılan serumlar

2.1.7. Araştırmada kullanılan araç-gereç ve kimyasal maddeler

ELISA yıkama cihazı: Bio Tek ELX800

ELISA okuma cihazı: Bio Tek ELX800

Apelin : Rat Apelin 13 (AP13) ELISA Cusabio Catalog Number: CSB-E14367r

Ghrelin : General Protocol For Enzyme Immunoassay Kıt Phoenix Pharmaceuticals
Catalog Number: EK-031-31 (range: 0-100 ng/ml)

Leptin : Rat / Mouse Leptin Elısa Kıt Avıscera Bioscience Catalog Number: sk00050-08

Etüv , Santrifüj, Shaker, Otomatik pipet, Vorteks, Deepfreze, Ölçüm tahtası, Terazı,
Ependorf tüp, Biyokimya tüpleri, Bıstürı, Makas, Mavi pipet ucu, Sarı pipet ucu

2.2. Metot

2.2.1. Elisa Kitlerinin Uygulama Prosedürü

Çalışmadaki apelin, ghrelin ve leptin hormonlarının düzeyleri ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak belirlendi.

2.2.1.1. Apelin Analizi

Numunedeki apelin düzeyini ELİSA’da belirlemek için ticari kit Cusabıo (Rat Apelin 13 (AP13) ELISA Catalog Number : CSB-E14367r) kullanıldı.

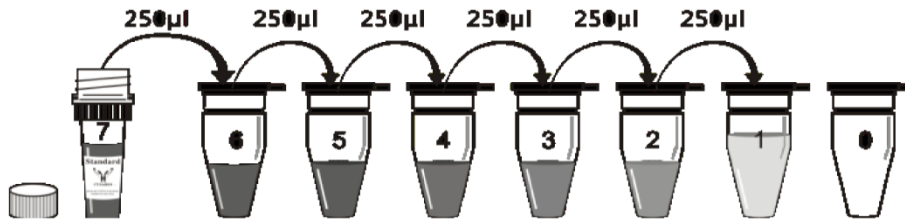
Analize başlamadan önce tüm örnek ve reaktif hazırlıkları yapıldı. -20° C de muhafaza edilen serum örnekleri ve buzdolabında muhafaza edilen kitin içerisinden çıkan tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.

1.Biotin-antibody (1x) hazırlanışı: Biotin-antibody açılmadan önce santifüj edildi ve 10 µl Biotin-antibody ve 990 µl Biotin-antibody diluent karıştırılıp 1x Biotin-antibody elde edildi.

2. HRP-avidin (1x) hazırlanışı: HRP-avidin açılmadan önce santrifüj edildi 10 µl HRP-avidin ve 990 µl HRP-avidin diluent karıştırılıp 1x HRP-avidin elde edildi.

3.Wash Buffer (1x) hazırlanışı: 20 ml Wash Buffer üzerine 500 ml distile su eklendi.

4.Standard hazırlanışı: Standardı 6000-10000 rpm ‘de 30 sn santrifüj ettikten sonra, standart ile 1.0 ml Sample diluenti vortexle karıştırıldı aşağıdaki gibi standart hazırlığı (Şekil2.11.) yapıldı.



Şekil 2.11. Apelin için standart hazırlığı

Tablo 2.1. Apelin için seyreltme

Tüp	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
ng/ml	10	5	2.5	1.25	0.63	0.31	0.16	0

Hazırlıklar tamamlandıktan sonra aşağıdaki sıralamaya göre işlemler yapıldı.

Tüm reaktifler, örnekler ve standart kitte belirlenen gibi hazırlandı.

1. Kitin kağıdı numaralandırıldı.
2. Standartlar belirlenen kuyucuklara 100 µl konulduktan sonra ağzı kitin içinden çıkan kağıtla kapatılarak 2 saat 37° C' de inkübe edildi.
3. İnkübasyon işleminden sonra kağıt kaldırıldı ve kuyucukların içi yıkama yapılmadan yıkama cihazı ile boşaltıldı.
4. 100 µl Biotin-antibody (1x) tüm kuyucuklara (kör kuyucuk hariç) eklendi ve üzeri kapalı olacak şekilde 37° C' de 1 saat inkübe edildi.
5. 200 µl Wash Buffer ile 3 kez yıkama yapıldı.
6. 100 µl HRP-avidin (1x) tüm kuyucuklara (kör kuyucuk hariç) eklendi ve üzeri kapalı olacak şekilde 37°C de 1 saat inkübe edildi.
7. 200µl Wash Buffer ile 5 kez yıkama yapıldı.
8. 90 µl TBM substrat (kör kuyular hariç) eklendi 15-30 dk 37° C de mutlak suretle ışıktan korunarak inkübe edildi.
9. 50 µl stop solüsyonu (kör kuyular hariç) eklendi.
10. Tüm bu aşamalar tamamlandıktan sonra en geç 5 dk içerisinde 450nm dalga boyunda okuma yapıldı elde edilen sonuçlar ise SPSS programında değerlendirildi.

2.2.1.2.Ghrelın Analizi

Numunedeki ghrelın düzeyini ELISA'da belirlemek için ticari kit Phoenix Pharmaceuticals (general protocol for enzyme immunoassay kít (range: 0-100 ng/ml)) kullanıldı.

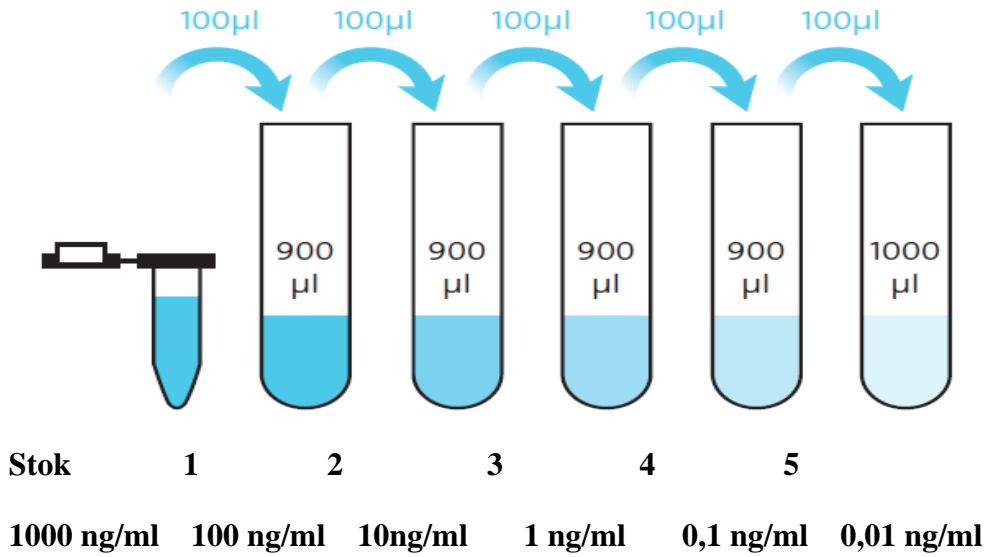
Analize başlamadan önce tüm örnek ve reaktif hazırlıkları yapıldı. -20° C de muhafaza edilen serum örnekleri ve buzdolabında muhafaza edilen kitin içerisinden çıkan tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Hazırlıklar tamamlandıktan sonra aşağıdaki sıralamaya göre işlemler yapıldı.

1. Kullanılacak olan kit oda sıcaklığında 25-30 °C bekletildi.

2. 950 ml distile su ile 50 ml Assay Buffer karıştırılıp 1x Assay Buffer elde edildi. (Kristalize yapılar gözlenseydi bu yapılar eriyene kadar 30 dk karıştırılacaktı.)
3. Standardı hazırlamak için aşağıdaki aşama takip edildi ve oda sıcaklığında 10 dk bekletildikten sonra kullanıma hazır hale getirildi.

Tablo 2. 2. Ghrelin standart hazırlığı

Standart numarası	Standart	1x Assay Buffer	Konsantrasyon
Stok	1000 μ l		1,000 ng/ml
1	100 μ l stok	900 μ l	100 ng/ml
2	100 μ l 1	900 μ l	10 ng/ml
3	100 μ l 2	900 μ l	1 ng/ml
4	100 μ l 3	900 μ l	0,1 ng/ml
5	100 μ l 4	900 μ l	0,01 ng/ml



Şekil 2.12. Ghrelin için seyreltme oranları

4. Primer antikorun içerisine 5 ml 1x Assay Bufer ekleyip 5 dk bekletildikten sonra iyice karıştırıldı.

5. Biotinlenmiş peptit içerisine 5 ml 1x Assay Bufer ekleyip 5 dk bekletildikten sonra iyice karıştırıldı.

6. Pozitif kontrolü 4000 rpm de 2-3 dk süre ile santriüj ettikten sonra üzerine 200 µl 1x Assay Bufer ekleyip karıştırdıktan sonra 5 dk süre ile bekletildi ve kit üzerinde belirlenen kuyucuklara eklendi.

7. Kör kuyucuklar kit prosedürüne göre belirlendi.

8. 50 µl total bağlayıcı olarak belirlenen kuyucuklara eklendi.

9. Hazırlanan standartlar belirlenen kuyucuklara 50 µl olarak konuldu.

10. Pozitif kontrol belirlenen kuyucuklara 50 µl olarak konuldu.

11. Oda sıcaklığına getirilen örnekler kör kuyucuk hariç tüm kuyucuklara 50 µl olarak konuldu.

12. Hazırlanan primer antikordan kör kuyular hariç olmak üzere 25 µl ilave edildi.

13. Biotinlenmiş peptiden kör kuyular hariç olmak üzere 25 µl ilave edildi.

14. Pleytin ağzı kitin içerisinde çıkarılan kağıt ile kapatıldıktan sonra 350 rpm de orbital Shakerda 2 saat oda sıcaklığında bekletildi.

15. SA-HRP kitin içerisinde 30 µl var bunu 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra 12 µl alınarak 12 µl 1x Assay Buffer ile karıştırılıp vortexlenecek.

16. Shaker dan çıkarılan pleytin kağıdı kaldırıldı.

17. 350 µl 1x Assay Buffer ile 4 kez yıkama yapıldı.

18. Hazırlanan SA-HRP'dan 100µl alınıp tüm kuyucuklara (kör kuyucuklar dahil) eklendi.

19. Ağzını kapatıp 300-400 rpm de oda sıcaklığında 1 saat bekletildi.

20. Pleytin kağıdı kaldırıldı.

21. 350 µl de 4 kez 1x Assay Buffer ile yıkama yapıldı.

22. Enzimin reaksiyona girmesi için 12 ml TBM (substrat solüsyonu)'den 100 µl her kuyucuga eklendi.

23. Ağzı kapatılan pleyt oda sıcaklığında 1 saat bekletildi.

24. 2N HCl'den (stop solüsyonu) 100µl tüm kuyucuklara eklendi. Rengin maviye dönüştüğü gözlemlendi.

25. Stop solüsyonunu ekledikten sonra 20 dk içerisinde okuma yapıldı ve sonuçlar SPSS de değerlendirildi.

2.2.1.3. Leptin Analizi

Numunedeki leptin düzeyini ELISA'da belirlemek için ticari kit Avıscera Bioscience (Rat / Mouse Leptin Elısa Kıt Catalog Number: sk00050-08) kullanıldı.

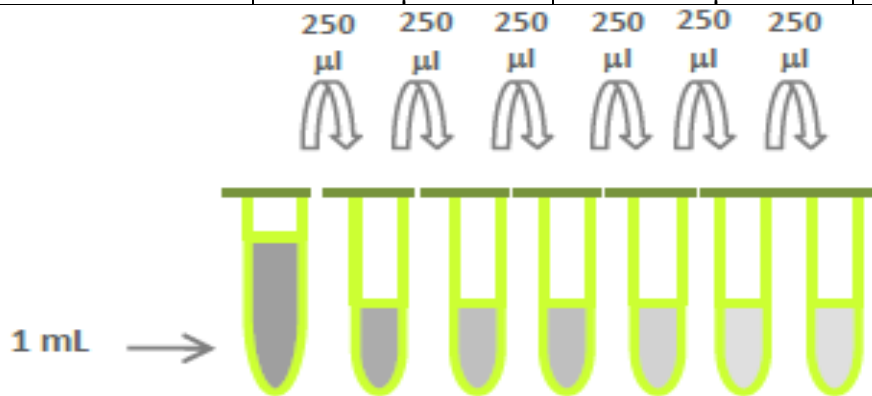
Analize başlamadan önce tüm örnek ve reaktif hazırlıkları yapıldı. -20° C de muhafaza edilen balık kan serumları ve buzdolabında muhafaza edilen kitin içerisinde çıkan tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.

1.Wash Buffer (1x) hazırlanışı: 1.Wash Buffer hazırlığı: 50 ml wash buffer ile 450 ml saf su karıştırılıp 500 ml 1x wash buffer elde edildi.

2.Standard hazırlanışı: Aşağıdaki tabloda belirtilen oranlarda hazırlığı yapıldı.

Tablo 2.3. Leptin için standart hazırlığı

Tüp	Standart	Seyreltme Tamponu	Konsantrasyon
Stok	Toz	1000µl	8000 pg/ml
1	250µl Stok	250µl	4000 pg/ml
2	250µl 1	250µl	2000 pg/ml
3	250µl 2	250µl	1000 pg/ml
4	250µl 3	250µl	500 pg/ml
5	250µl 4	250µl	250 pg/ml
6	250µl 5	250µl	125 pg/ml



Standart	Stok	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon	8000	4000	2000	1000	500	250	125 pg/ml

Şekil 2. 13. Leptin için seyreltme oranı

3.Detection Antibody Hazırlığı: 9,45 ml dilüe bufferı 15 ml'lik santrifüj tüpüne ekleyip üzerine 1,05 ml detection antibody ilave edildi ve 10,5 ml detection antibody elde edildi.

4. Streptavidin-HRP Hazırlığı: 11,94 ml dilüe buffer ile 60 ml Streptavidin-HRP karıştırılıp 15 ml'lik santrifüj tüpüne eklendikten sonra ışıktan korunarak muhafaza edildi.

5.Pozitif Kontrol Hazırlığı: 1,0 ml dilüe buffer ile pozitif kontrol karıştırıldı.

Hazırlıklar tamamlandıktan sonra aşağıdaki sıralamaya göre işlemler yapıldı.

1. Ön hazırlıklar tamamlandı.
2. Tüm malzemelerin kontrolü yapıldı.
3. 100 µl dilüe bufferden belirlenen kuyucuklara konuldu.
4. Hazırlanan standarttan, pozitif kontrolden ve örneklerden 100 µl belirlenen kuyucuklara bırakıldı ve ağzı kapalı olarak oda ısısında shakerde 2 saat bekletildi.
5. 4 kez 300 µl wash buffer ile yıkama yapıldı.
6. 100 µl detection antibodyden tüm kuyucuklara ekle ağzı kapalı olarak 2 saat oda sıcaklığında shakerde bekletildi.
7. 4 kez 300 µl wash buffer ile yıkama yapıldı.
8. 100 µl Streptavidin-HRP den tüm kuyucuklara eklendi 1 saat oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak ışıktan korumak suretiyle bekletildi.
9. 4 kez 300 µl wash buffer ile yıkama yapıldı.
10. 100 µl substrat solüsyonu eklendi ve 2-8 dk bekletildi.
11. 100 µl stop solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi. Rengin maviden sarıya dönüşümü gözlemlendi. 15 dk içerisinde okuma yapılması amaçlandı.
12. 450 nm de okuma yapıldı.

2.2.2. İstatistiksel Analizler

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıklarının incelenen parametrelerinde meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY-

ANOVA) ile test edildi (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010). $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Grafiklerin çiziminde ise EXCEL programından yararlanıldı.



3.BULGULAR

Çalışmada kullanılan balıkların cinsiyet belirlenmesi, total boy ve ağırlık ölçümleri Tablo 3. 1. 'de gösterilmiştir. Cinsel olgunluğa erişmiş dişi ve erkek *O. mykiss*'in apelin, ghrelin, leptin düzeyleri ELİSA yöntemiyle incelenmiş sonuçlar SPSS programında değerlendirilerek grafikler Excelde çizilmiştir.

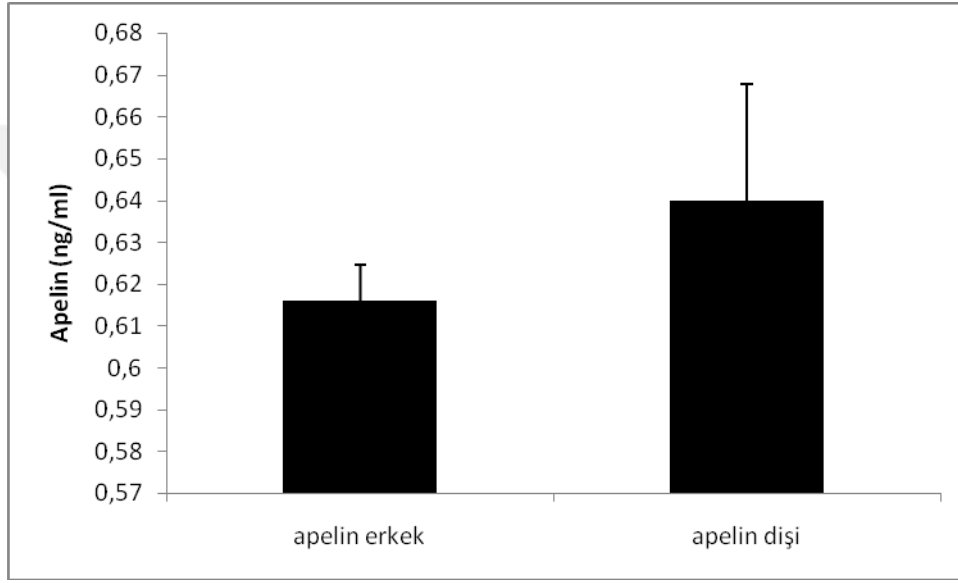
Tablo 3. 1. Çalışmada kullanılan *O.mykiss*'e ait cinsiyet, ağırlık ve total boy ölçümleri

NUMARA	CİNSİYET	AĞIRLIK	TOTAL BOY
1	ERKEK	2194	52,3
2	DİŞİ	2056	53,6
3	ERKEK	3272	62
4	ERKEK	1474	49
5	ERKEK	892	43,2
6	ERKEK	2152	57,3
7	ERKEK	3318	61,2
8	DİŞİ	1666	49,5
9	ERKEK	2148	53
10	ERKEK	2024	55,5
11	DİŞİ	1584	49
12	DİŞİ	1750	53,2
13	ERKEK	1979	51,5
14	DİŞİ	1600	52
15	ERKEK	2962	64
16	DİŞİ	1536	49,5
17	ERKEK	3244	61,8
18	DİŞİ	1430	49
19	DİŞİ	1718	53,5
20	ERKEK	826	41,3
21	DİŞİ	2378	63,1
22	ERKEK	1448	50,5
23	DİŞİ	1388	49
24	DİŞİ	1174	44,6
25	DİŞİ	1348	47
26	DİŞİ	1856	50
27	DİŞİ	1874	55,3
28	ERKEK	684	35,8
29	DİŞİ	978	43,5
30	ERKEK	1510	52,2
31	DİŞİ	1238	48
32	ERKEK	1430	46
33	ERKEK	2044	56
34	ERKEK	1668	49
35	DİŞİ	2432	55,4
36	ERKEK	1254	45,7
37	DİŞİ	1258	46,8
38	DİŞİ	1412	48,5
39	ERKEK	644	36,6
40	DİŞİ	1310	48,2

3.1. Apelin düzeyindeki değişmeler

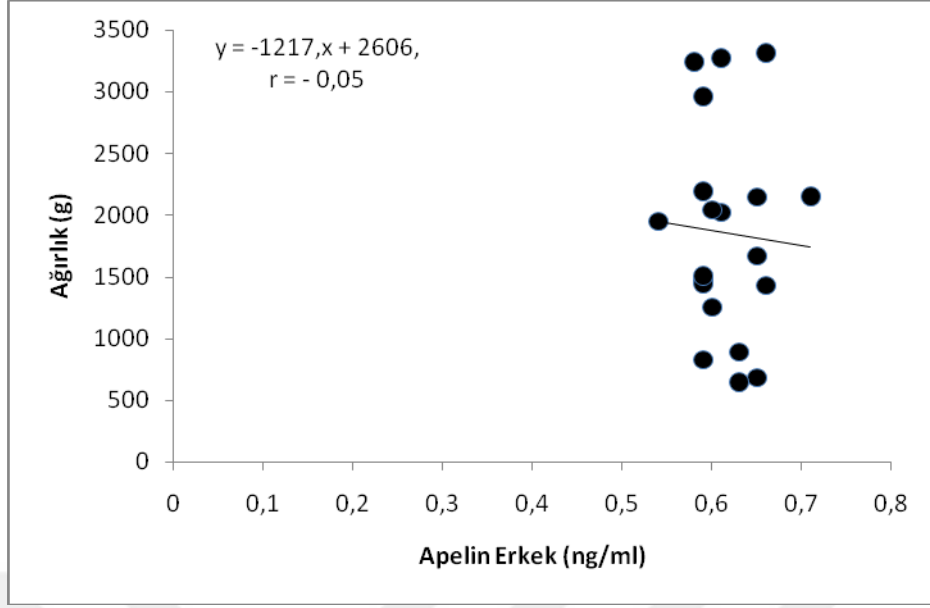
Ticari kit Cusabıo (Rat Apelin 13 (AP13) ELISA Catalog Number : CSB-E14367r) kullanılarak sonuçlar Elisa yöntemi kullanılarak belirlendi.

Dişi ve erkek *O.mykiss*'de apelin düzeyleri ortalama değerler baz alınarak erkeklerde $0,61 \pm 0,008$ ng/ml, dişilerde $0,64 \pm 0,020$ ng/ml olarak bulundu. Erkek ve dişilerin apelin düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($p = 0,92$) Şekil 3. 1. 'de belirtilmiştir.



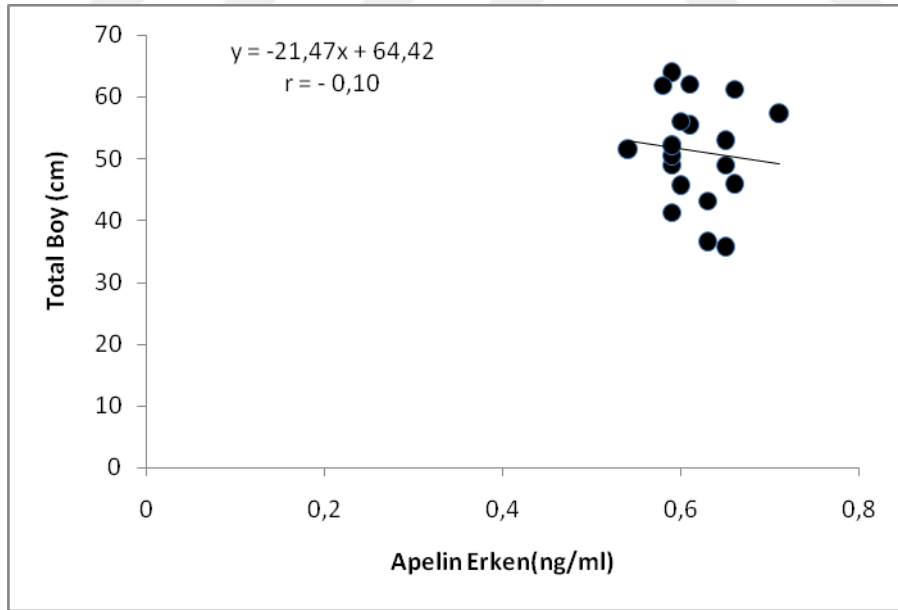
Şekil 3. 1. Dişi ve erkek balıkların apelin düzeyleri.

Erkek balıkların apelin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = - 0,05$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı Şekil 3. 2. 'de gösterilmiştir ($p = 0,815$).



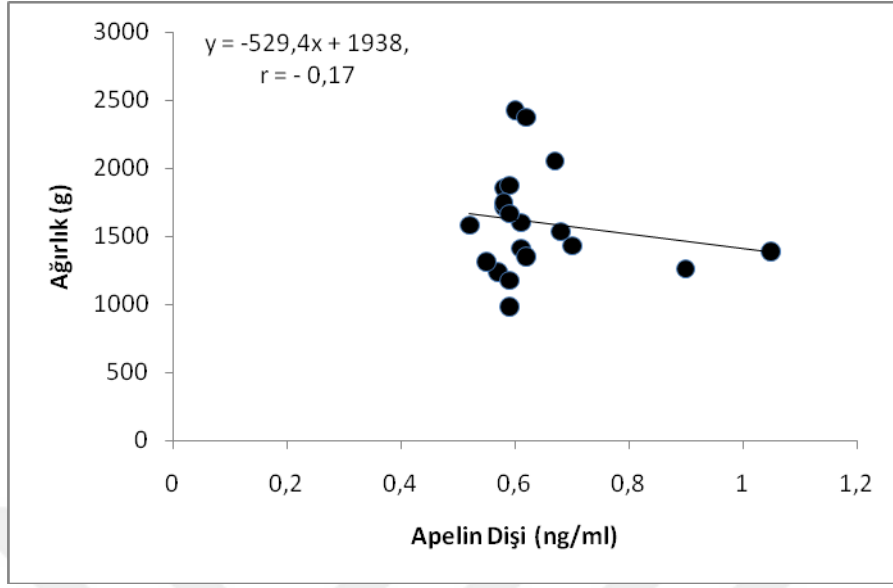
Şekil 3. 2. Erkek balıklarda apelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Erkek balıkların apelin düzeyleri ve total boyları arasında $r = -0,10$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 3. 'de gösterilmiştir ($p = 0,66$).



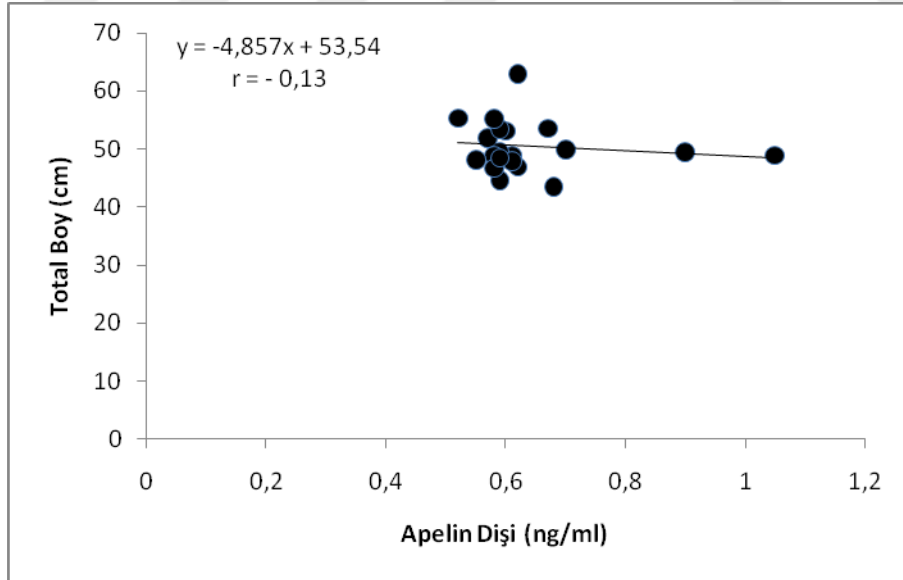
Şekil 3. 3. Erkek balıklarda apelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki.

Dişi balıkların apelin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = -0,17$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 4. 'de gösterilmiştir ($p = 0,46$).



Şekil 3. 4. Dişi balıklarda apelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Dişi balıkların apelin düzeyleri ve total boyları arasında $r = -0,13$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 5. 'de gösterilmiştir ($p = 0,56$).

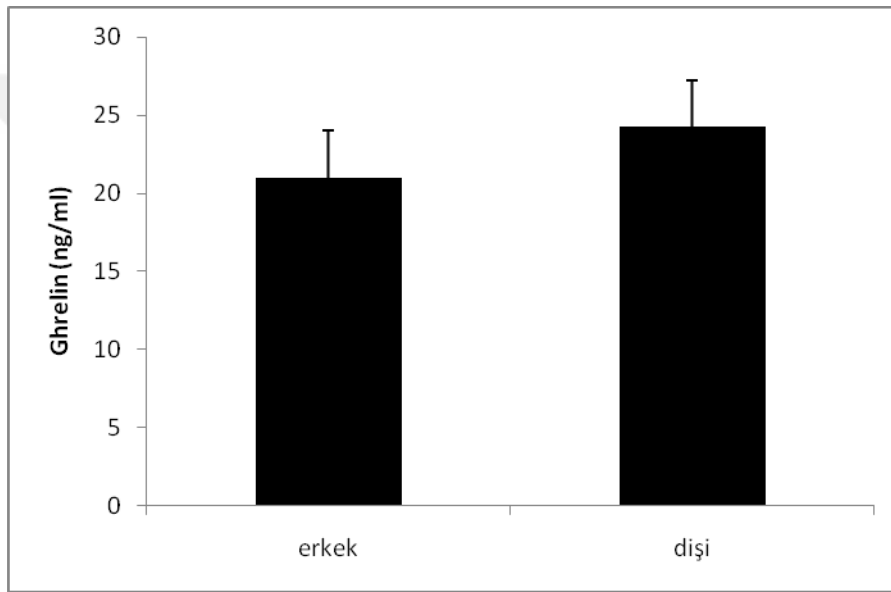


Şekil 3. 5. Dişi balıklarda apelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki.

3.2.Ghrelın Düzeyindeki Değişmeler

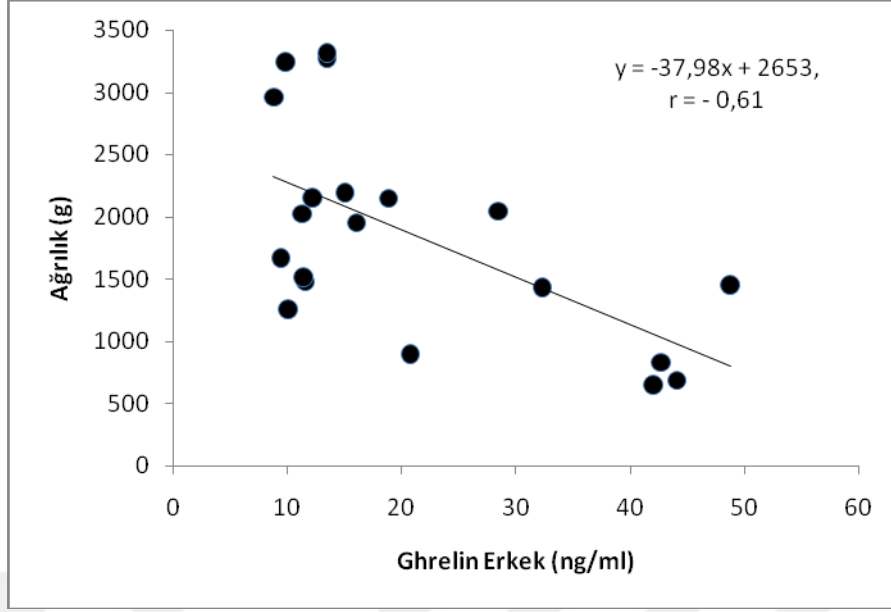
Numunedeki ghrelın düzeylerini belirlemek için ticari kit Phoenix Pharmaceuticals (general protocol for enzyme immunoassay kit (range: 0-100 ng/ml)) kullanılarak sonuçlar ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

Dişi ve erkek *O.mykiss*'de ghrelın düzeyleri ortalama değerler baz alınarak erkeklerde $20,975 \pm 0,3$ ng/ml, dişilerde $24,284 \pm 2,9$ ng/ml olarak bulundu. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 6 'da belirtilmiştir ($p = 0,27$).



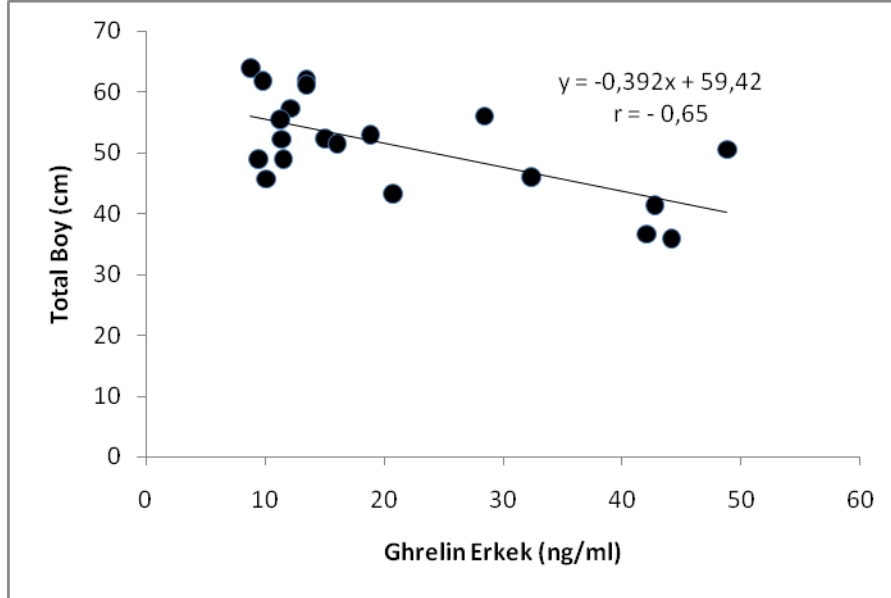
Şekil 3. 6. Dişi ve erkek balıkların ghrelın düzeyleri.

Erkek balıkların ghrelın düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = - 0,61$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunduğu şekil 3. 7. 'de gösterilmiştir ($p = 0,004$).



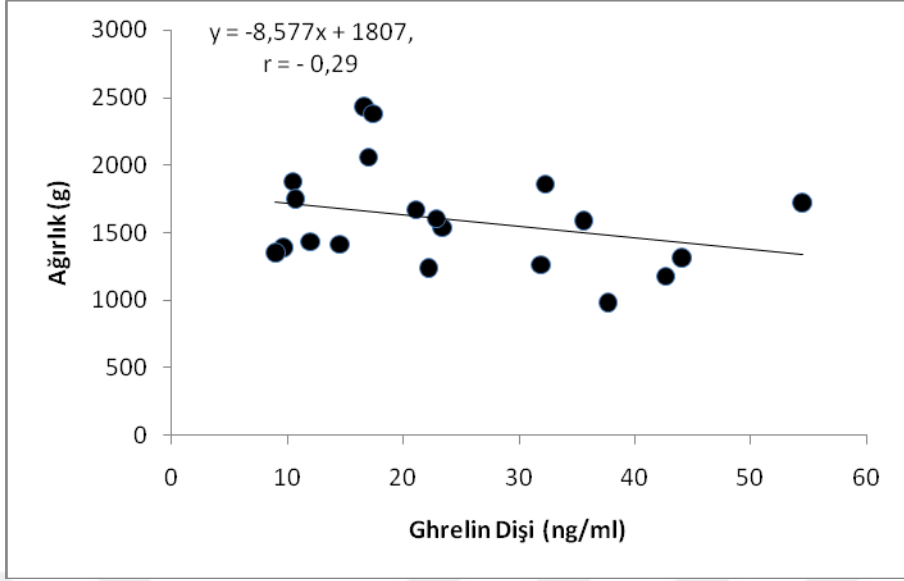
Şekil 3. 7. Erkek balıklarda ghrelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Erkek balıkların ghrelin düzeyleri ve total boyları arasında $r = -0,65$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunduğu Şekil 3. 8. 'de gösterilmiştir ($p = 0,002$).



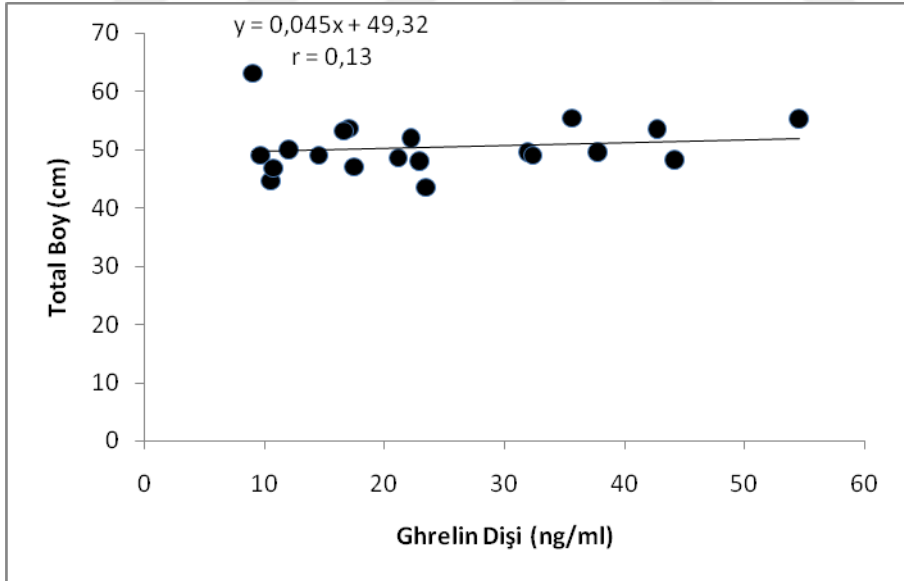
Şekil 3. 8. Erkek balıklarda ghrelin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki.

Dişi balıkların ghrelin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = -0,29$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı Şekil 3. 9. 'da gösterilmiştir ($p = 0,203$).



Şekil 3. 9. Dişi balıklarda ghrelin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Dişi balıkların ghrelin düzeyleri ve total boyları arasında $r = 0,13$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 10. 'da gösterilmiştir ($p = 0,56$).

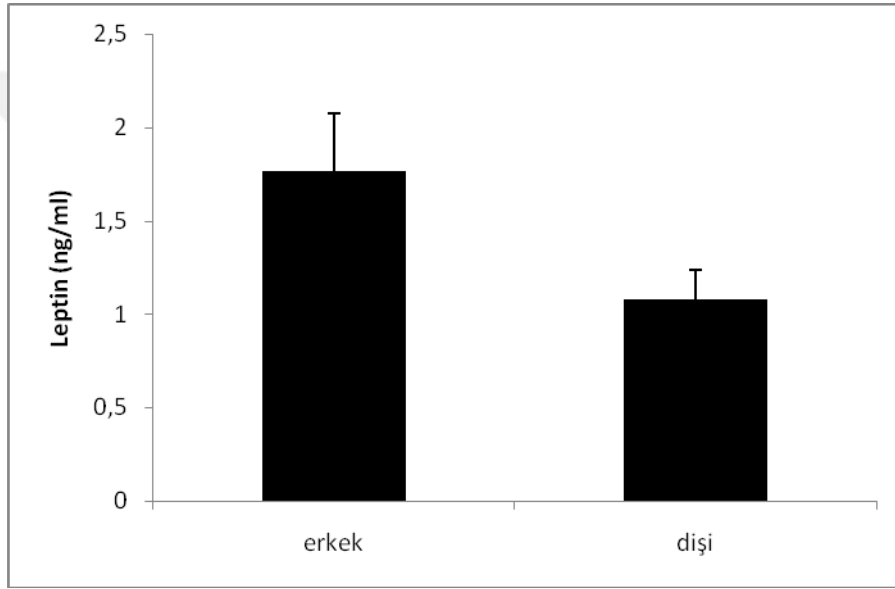


Şekil 3.10. Dişi balıklarda ghrelin düzeyi ve total boyları arasındaki ilişki.

3.3.Leptin düzeyindeki değişmeler

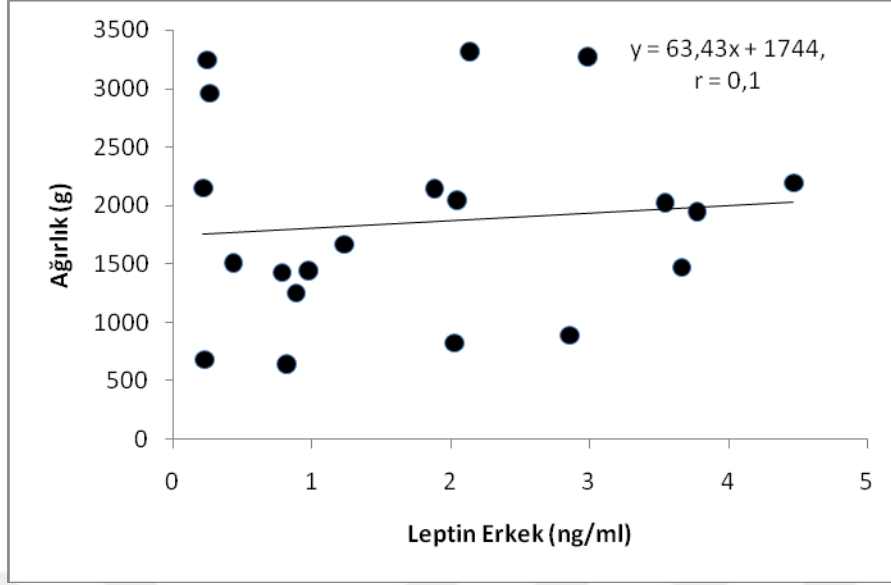
Numunlerdeki leptin düzeylerini belirlemek için ticari kit Leptin : Rat / Mouse Leptin Elisa Kıt Avıscera Bioscience Catalog Number: sk00050-08 kullanılarak sonuçlar ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

Dişi ve erkek *O.mykiss*'de leptin düzeyleri ortalama değerler baz alınarak erkeklerde $1,7685 \pm 0,30$ ng/ml, dişilerde $1,0815 \pm 0,15$ ng/ml olarak bulundu. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında ($p = 0,133$) anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3.11'de belirtilmiştir.



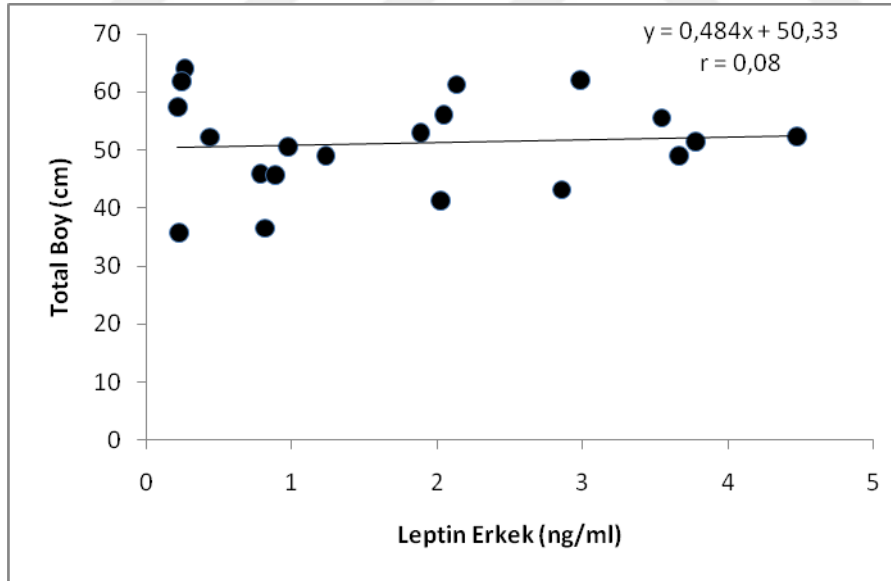
Şekil 3.11. Dişi ve erkek balıkların leptin düzeyleri.

Erkek balıkların leptin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = 0,1$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 12. 'de gösterilmiştir ($p = 0,66$).



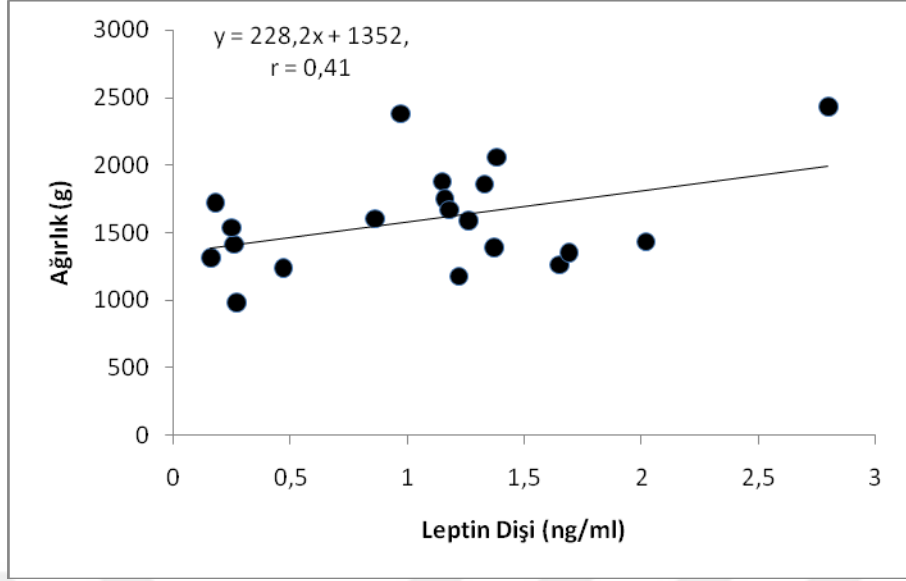
Şekil 3.12. Erkek balıklarda leptin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Erkek balıkların leptin düzeyleri ve total boyları arasında $r = 0,08$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 13. 'de gösterilmiştir ($p = 0,73$).



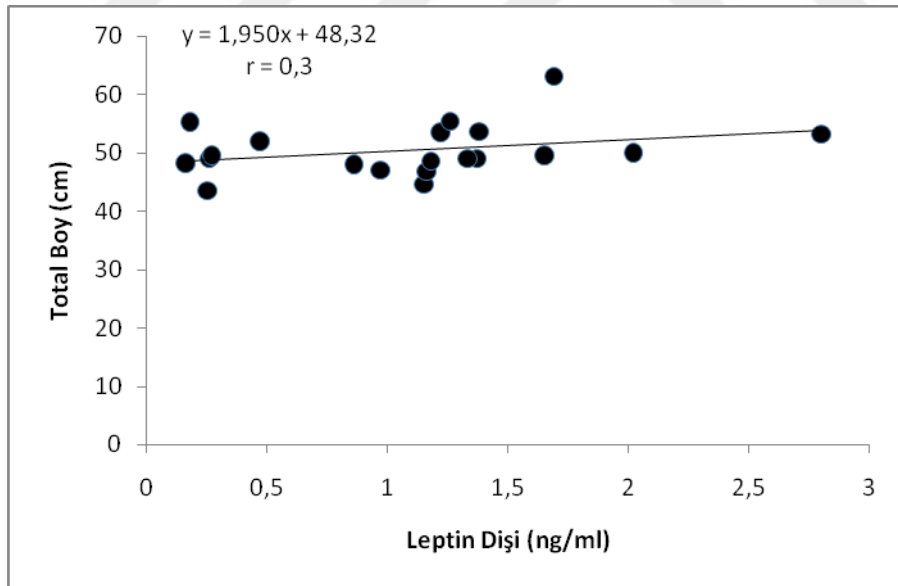
Şekil 3.13. Erkek balıklarda leptin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki.

Dişi balıkların leptin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = 0,41$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 14. 'de gösterilmiştir ($p = 0,07$).



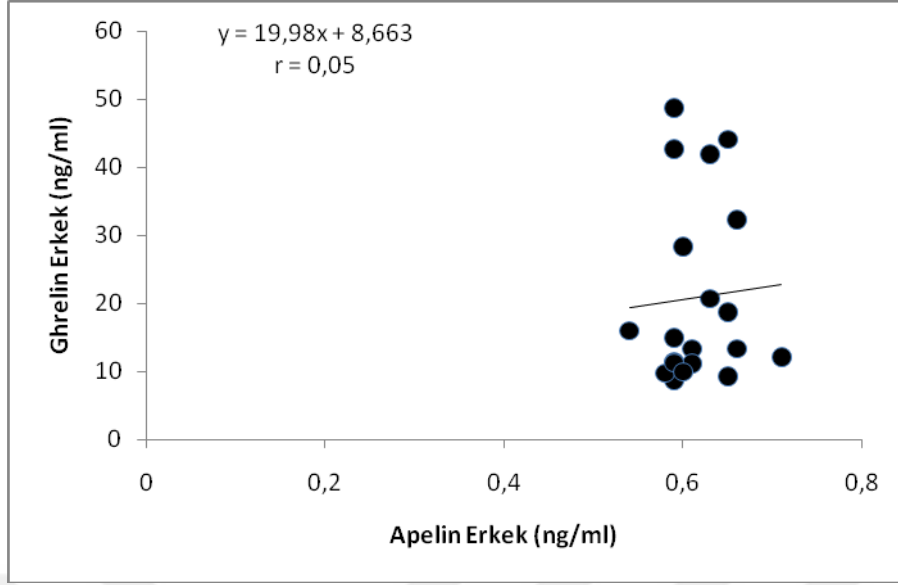
Şekil 3.14. Dişi balıklarda leptin düzeyi ve balık ağırlığı arasındaki ilişki.

Dişi balıkların leptin düzeyleri ve ağırlıkları arasında $r = 0,3$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3. 15. 'de gösterilmiştir ($p = 0,19$).



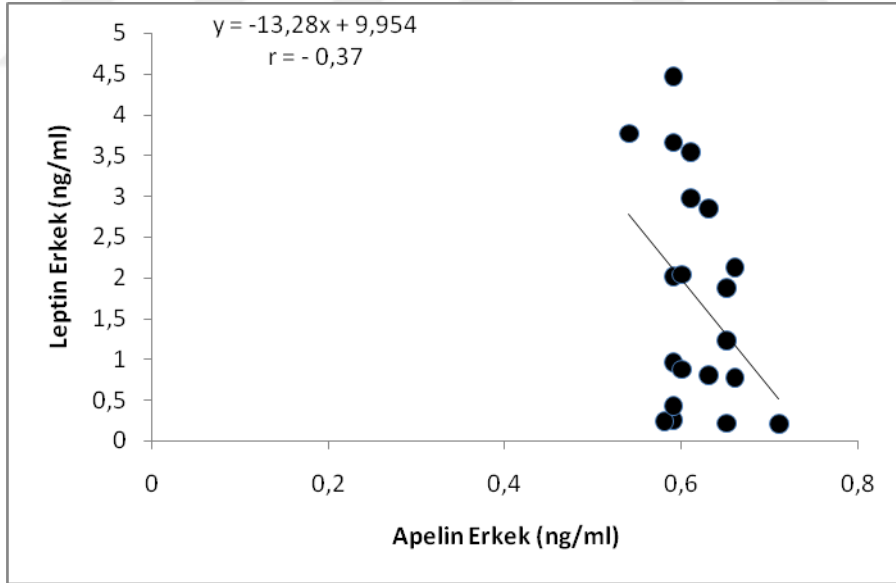
Şekil 3.15. Dişi balıklarda leptin düzeyi ve total boy arasındaki ilişki..

Erkek balıkların apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla ghrelin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = 0,05$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3.16.'da belirtilmiştir ($p = 0,811$).



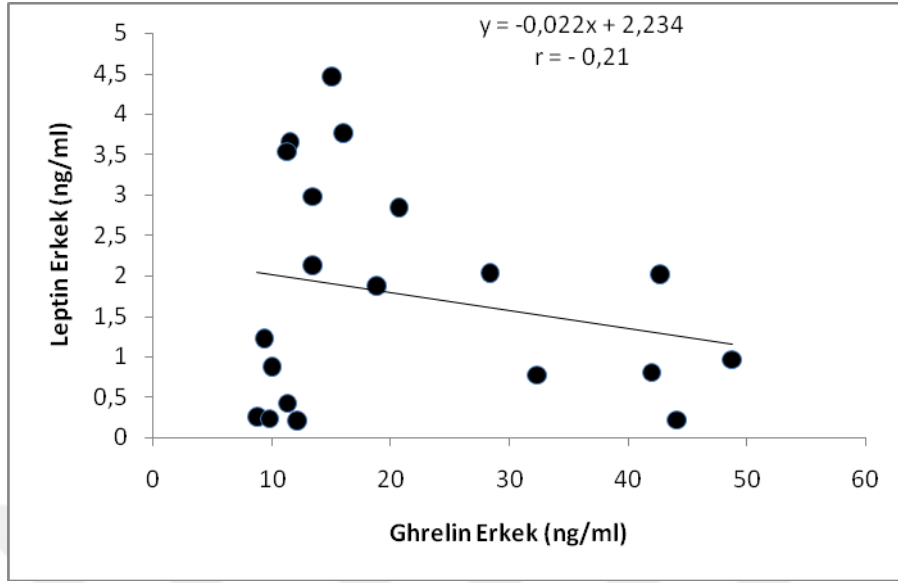
Şekil 3.16. Erkek balıklarda apelin ve ghrelin düzeyleri.

Erkek balıkların apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = - 0,37$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı Şekil 3.17.'de belirtilmiştir ($p = 0,105$).



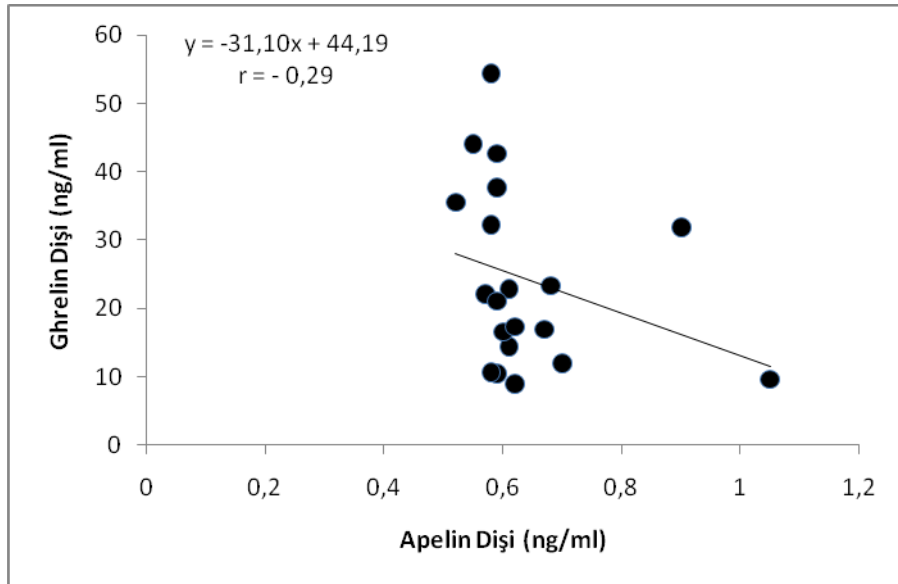
Şekil 3.17. Erkek balıklarda leptin ve apelin düzeyleri.

Erkek balıkların leptin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında ghreline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = - 0,21$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı Şekil 3.18.'de belirtilmiştir ($p = 0,354$).



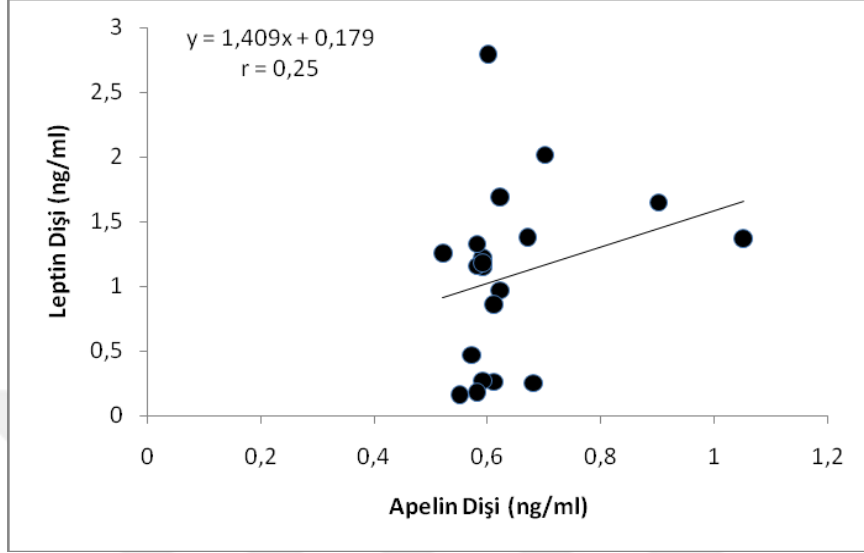
Şekil 3.18. Erkek balıklarda leptin ve ghrelin düzeyleri.

Dişi balıkların apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla ghrelin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = -0,29$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı Şekil 3.19.'da belirtilmiştir ($p = 0,210$).



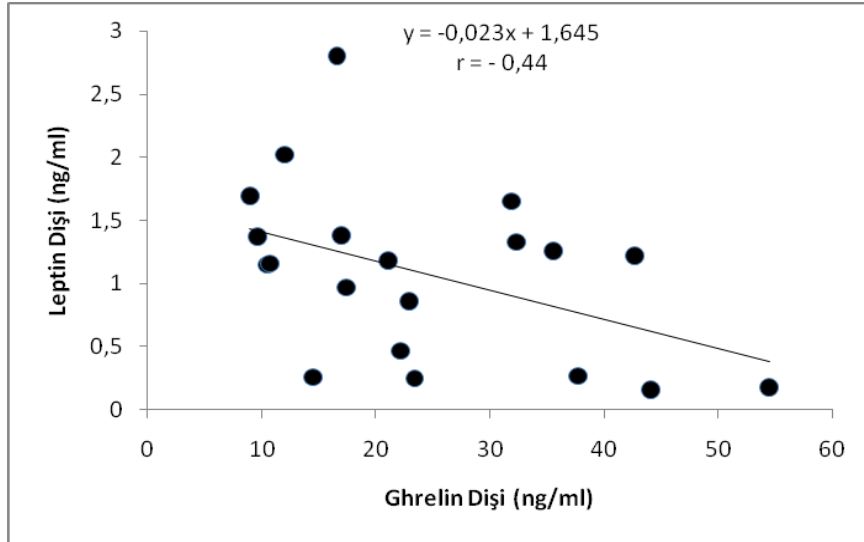
Şekil 3.19. Dişi balıklarda apelin ve ghrelin düzeyleri.

Dişi balıkların apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = 0,25$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3.20.'de belirtilmiştir ($p = 0,277$).



Şekil 3. 20. Dişi balıklarda leptin ve apelin düzeyleri.

Dişi balıkların apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte $r = - 0,44$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadığı şekil 3.21.'de belirtilmiştir ($p = 0,048$).



Şekil 3. 21. Dişi balıklarda leptin ve ghrelin düzeyleri.

4. TARTIŞMA SONUÇ

Bütün omurgalılarda (Kawamata vd., 2001; Medhurst vd., 2003) ve çeşitli balıklarda olduğu gibi (Quertermous, 2007; Zeng vd, 2007; Volkoff ve Wyatt, 2009; Köprücü ve Algül, 2015) *O.mykiss* de apelin, 77 amino asit uzunluğunda ve C terminal apelin-13 sekansını içermektedir.

Yapılan çalışmalarda apelin ve reseptörlerinin mide, beyin, adipoz doku, kalp, akciğer, gonadlar, böbrek, meme bezi, gastrik mukozası gibi çeşitli organlarda görüldüğü ifade edilmiştir (Kleinz ve Davenport, 2004; Carpene vd. 2007; Reaux -Le Goazigo vd., 2007). Memelilerde (De Falco et al., 2002) ve sürüngenlerde (De Falco et al., 2004) de apelin immunoreaktivitesi dalağın kırmızı pulpasında belirlenmiştir. Xenopus'ta, apelin mRNA reseptörü akciğer, kalp ve testiste bulunmuş, ancak ovaryumda gözlemlenmemiştir (Moon vd., 2007). Apelin mRNA ratlarda ovaryum, uterus, meme bezleri ve testislerde tespit edilmiştir (Kawamata vd. 2001). *Carassius auratus*'da apelin mRNA reseptörü, beyin, dalak, böbrek, karaciğer, kas, bağırsak, ovaryum, solungaç, kalp ve yağ dokusunda bildirilmiştir (Volkoff ve Wyatt, 2009). Köprücü ve Algül (2015) *Capoeta trutta* ve *Cyprinus carpio* 'nun kan serumunda belirttikleri gibi yapılan bu çalışmada da *O.mykiss*'in kan serumunda apelin 13'ün varlığı tespit edilmiştir.

Memelilerde, apelinin iştah düzenlemedeki rolü hakkında belirsizlikler olmakla birlikte; kemirgenlerde de, tek doz apelinin intravenöz enjeksiyonu veya uzun vadeli apelin periferik tedavisinin (Higuchi vd., 2007) gıda alımı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı açıklanmıştır. Bununla birlikte ratlarda, gıdaların alımının kontrolünde apelinin nasıl bir rol aldığı henüz belirlenememiştir (Sunter vd.,2003). Bunların yanısıra *Carassius auratus* da apelin-13'ün intraperitoneal ve intraserebroventriküler enjeksiyonu gıda alımını artırdığı bulunmuş (Volkoff ve Wyatt, 2009), Zebra balığında da apelin mRNA reseptörünün kaybı ya da fazlalığının, kalpte ciddi kusurlar meydana getirerek gastrulasyonu engellediği ifade edilmiştir (Zeng vd., 2007; Red-Horse vd., 2010).

Heinonen vd (2005) ve Foldes vd (2003), apelin-13'ün varlığını yapılan bu çalışmada olduğu gibi ELISA kullanarak ölçmüşlerdir. Boucher vd. (2005) apelin mRNA ve proteinin insan ve fare adipositlerinde insülin tarafından düzenlendiğini ve obezlerde apelin plazma düzeylerinin artışı Radyo İmmüno Assay Testi (RIA) kullanarak bulmuşlardır. Beyaz adipoz dokudaki apelin benzeri immunoreaktiviteleri

immunohistokimyasal (Medhurst vd., 2003) ve immunositokimyasal (Kleinz ve Davenport, 2004; Kleinz vd., 2005) yöntemler kullanılarak saptanmıştır. Volkoff ve Wyatt (2009), *Carassius auratus* 'un çeşitli organlarında apelin mRNA ve proteini, geri dönüşümlü Polimeraz Zincir Reaksiyonunu (RT-PCR) kullanarak ortaya koymuşlardır.

Yapılan bu çalışmada *O.mykiss*'in erkeklerde $0,616 \pm 0,008$ ng/ml, dişilerde $0,64 \pm 0,02$ ng/ml olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak farkın önemsiz ($p>0,05$) olduğu görülmüştür. Köprücü ve Algül (2015) kan serumunda *Capoeta trutta* 'nın apelin değerini 0.78 ± 0.03 ng/ml *Cyprinus carpio* 'da 0.65 ± 0.03 ng/ml olarak belirlemişler ve istatistiksel olarak *C. trutta* nın *C. carpio*'ya göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca apelin seviyeleri *C. trutta* ile *C.carpio* nun dişileri arasındaki önemli farklılık gösterirken ($p<0,05$), iki türün erkekleri arasında önemli farklılık göstermemiştir($p>0,05$).

C.trutta'ta vücut ağırlığı ile kan serumundaki apelin seviyeleri arasında önemli korelasyon yokken, *C. carpio*'da vücut ağırlığı ile kan serumundaki apelin seviyeleri arasında negatif korelasyon görülmüştür (Köprücü ve Algül, 2015). Bu çalışmada da benzer şekilde *O.mykiss* in hem dişi hem erkeklerinde vücut ağırlığı ve uzunluğu ile kan serumundaki apelin seviyeleri arasında negatif yönde ilişki gözlenmiştir.

Volkoff ve Wyatt (2009), apelin mRNA seviyelerinin hem hipotalamusta ($p = 0.05$) hem de telencefalonda ($p = 0.0338$) aç bırakılan *Carassius auratus* 'ta beslenen *Carassius auratus* a göre daha yüksek olduğunu ve dolayısıyla apelinin oreksijenik bir faktör olarak rolü bulunduğunu bildirmişlerdir. Foldes vd. (2003) RIA kullanarak insanlarda yaptıkları çalışmalarında koroner kalp hastalığı olan hastalarda serumdaki apelin seviyelerinde önemli azalma meydana geldiğini bildirirlerken Chen vd. (2003) kalp yetmezliği olan hastalarda apelin plasma seviyelerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca obezlerde adipoz dokuda apelin daha yüksek, zayıf bireylerde ise apelin reseptör RNA bol miktarda bulunduğu görülmüştür (Castan-Laurell vd. 2008).

Ghrelin 1999 yılında Japon bilim adamları tarafından keşfedilmiştir. Temel olarak mide fundus ve piloriis bölgelerindeki nöroendokrin hücrelerinden salınan 28 amino asitlik (aa) lipopeptid yapıda bir hormondur (Kojima vd.,1999; Date vd. 2000). Balıklardaki ghrelinin amino asit sayısı memelilerdekinden az olup genellikle 19 ve 21 aa

arasında değiştiği, omurgalılarda ghrelin salgılanmasının enerji homeostazını sürdürmede rol aldığı ifade edilmiştir (Kojima ve Kangawa .,2005).

Carassius auratus (Matsuda vd., 2006a, b; Miura ve diğerleri, 2006, 2007; Unniappan ve diğerleri, 2002, 2004) ve *Oreochromis Niloticus* (Riley vd., 2005) ile ilgili yapılan çalışmalarda ghrelinin gıda alımı üzerindeki etkileri, memelilerdeki etkisine benzer şekilde gıda alımını arttırmaktadır (Choi vd, 2003; Druce vd., 2005, 2006; Tschop vd, 2000; Wren vd., 2001a, 2001b) .

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda (Banks vd., 2002; Dass vd., 2003; Masuda vd., 2000) ghrelin hormonunun kan-beyin bariyerini de geçtiği tespit edilmiştir.

İnsanlarda ghrelin mRNA yoğunluğuna beyinde, kalpte, akciğerde, karaciğerde, uterusu, böbrekte, bağırsakta, yağ dokuda, testiste (Kojima vd.,1999; Tena-Sempere vd., 2002), plasental dokuda (Guallino vd., 2001), immün hücrelerde (Hattari vd., 2001; Wang vd., 2002), pankreasta (Lai vd., 2005; Volante vd., 2002), tükürkte (Aydın vd., 2005a, 2006b) ve prostat dokusunda da rastlanmaktadır (Wang vd., 2002).

Ghrelin, *Carassius auratuslar'* da (Miura vd., 2006, 2007) ve memelilerde (Chan vd., 2004; Kamegai vd, 2001; Toshinai vd., 2003), oreksigenik peptidergik yollarla etkileşerek gıda alımını uyardığı ifade edilmiştir. Bununla birlikte periferik grelinin, *Carassius auratus'* lardaki besin alımına etkisinin öncelikle vagal afferentler vasıtasıyla sağlandığına dair kanıtlar da vardır (Matsuda vd., 2006a).

Carassius auratus' ların midelerinden ghrelin izole edilmiştir. Ghrelin mRNA ekspresyonu beyinde, hipofizde, bağırsakta, karaciğerde, dalakta ve solungaçta PCR ve Southern blot analizi ile bağırsakta Northern blot ile tespit etmişlerdir (Unniappan vd., 2002).

Ayrıca *Anguilla japonica* ile ilgili yapılan çalışmada Northern blot ve RT-PCR analizleri ile midede yüksek gen ekspresyonu olduğunu ortaya koymuşlardır. Düşük seviyede ifade edilen ghrelin, sadece RT-PCR analizi ile beyin, bağırsak ve böbrekte bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Oreochromis mossambicus midesinde ghrelin ve cDNA kodlayan protein tespit edilmiştir. PCR analizi midede yüksek seviyelerde gen ekspresyonuna sahipken beyinde,

böbrekte ve solungaçta düşük seviyelerde gen ekspresyonu ortaya koymuştur (Kaiya vd., 2003b).

Ghrelinin reseptörünün cDNA'sı *Spheroides nephelus* (Palyha vd., 2000) ve *Acanthopagrus schlegeli* (Chang ve Cheng., 2004)'de bulunmuş en yüksek seviyelerinin beyin ve pituitaride özellikle hipotalamusta olduğu tespit edilmiştir.

O.mykiss' de gastrointestinal sistemindeki ghrelinin üreten hücrelerin varlığını immünohistokimyasal yöntemler kullanarak bulmuşlardır (Sakata vd., 2004).

Anguilla japonica plazmasında ghrelinin yapısı radyoimmünoassay ve histokimyasal yöntemler kullanılarak midede bulunmuştur (Kaiya vd., 2006).

Yapılan bu çalışmada da *O.mykiss*' in kan serumunda ghrelinin varlığı ELISA yöntemi kullanılarak ortaya konulmuştur. *O.mykiss*'in dişi ve erkek ghrelinin değerleri arasında istatistiki olarak fark önemsiz ($p > 0.05$) çıkmıştır. Yine *O.mykiss*'in erkeklerinde ghrelinin seviyesi ile vücut ağırlığı arasında istatistiksel olarak pozitif yönde çok zayıf bir ilişki bulunurken, total boy ile pozitif yönde zayıf bir ilişki bulunmuş olup aradaki farkın önemli ($p < 0,05$) olduğu görülmüştür. Aynı şekilde, ghrelinin ile dişi *O.mykiss* ağırlığı arasında negatif yönde zayıf bir ilişki gözlenmiş, total boy ile kıyaslama yapıldığında ise pozitif yönde çok zayıf bir ilişki olduğu ve aradaki farkın önemsiz ($p > 0,05$) bulunduğu belirlenmiştir.

Leptin, memelilerin (Zhang vd., 1994) ve diğer omurgalıların (Lin vd., 2000; Paolucci vd., 2001; Muruzabal vd., 2002; Boorse ve Libbon, 2010) gıda alımını ve enerji dengesini düzenleyen bir peptid hormondur.

Balıklarda leptinin varlığı ilk olarak Johnson vd. (2000) tarafından bildirilmiştir, daha sonra çeşitli balık türlerinde kan, beyin, kalp ve karaciğerde leptinin immunoreaktif bandları olarak (Nieminen vd., 2003; Vegusdal vd., 2003; Kurokawa vd., 2005; Huising vd., 2006; Murashita vd., 2008; Kurokawa ve Murashita, 2009; Ettore 2012; Choi vd., 2014) ve kan serumunda (Köprücü ve Algül, 2015) tespit edilmiştir.

Leptin mRNA'sı, *Takifugu rubripes*' in karaciğerinde (Kurokawa vd., 2005), *Cyprinus carpio* (Huising vd., 2006), *O.mykiss* (Murashita vd., 2008), *Pelteobagrus fulvidraco* (Gong vd., 2013) ve *Oncorhynchus keta*'nın (Choi vd., 2014) ise en yüksek karaciğerlerinde olmak üzere mezenterik yağ dokusu, dalak, ince bağırsak, kalp, kas,

pituitary ve testis gibi organlarında da düşük düzeyde bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Salmo salar* adipositlerinde de 15 kDa'lık leptin benzeri proteinin bulunduğunu Vegusdal vd. (2003) tarafından saptanmıştır.

Ettore vd. (2012), tarafından leptin immunoreaktivitesi *O.mykiss*'in gastrik bezlerinde ve gastrik kıvrımlar boyunca epitel hücrelerinde, *Maccullochella peelii peelii* nin ise hem gastrik bezlerinde hem gastrik kıvrımlar boyunca epitel hücrelerinde hem de sinir pleksuslarında, Bosi vd. (2004) tarafından da *Salmo trutta*'nın hem sinir pleksuslarında hem de gastrik bezlerde mevcut olduğu bildirilmiştir. Yine Gambardella vd. (2010) tarafından da kıkırdaklı bir balık olan *Scyliorhinus canicula* da leptinin varlığı belirlenmiştir.

Kling vd. (2009), aç bırakılan *O.mykiss* kan plazmasında leptin düzeylerinin yükseldiğini, yine Kling vd. (2012),de *O.mykiss*' in enerji durumu ile plazma leptin seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Kling vd. (2009) salmonidlerde leptin için radyoimmünoassay (RIA) kullanmışlardır.

Salmonid türlerinde yapılan çalışmada Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak leptin mRNA ekspresyonu, beyin, mide, dalak, kalp, Karaciğer ve böbreklerde yüksek olduğunu ifade etmişlerdir (Kobayashi vd, 2011; Kling vd., 2012; Gong vd, 2013).

Leptin için İmmunohistokimyasal (Muruzabal vd., 2002; Bosi vd., 2004; Ettore vd., 2012) ve western blot (Johnson vd., 2000; Kling vd., 2009; Gambardella vd., 2010), polimeraz zincir reaksiyonu (Kobayashi vd, 2011; Kling vd., 2012; Gong vd, 2013), radioimmünoassay (Kling vd. 2009) gibi birçok teknik kullanılmıştır. Bu çalışmada da kan serumundaki leptin seviyesi, Köprücü ve Algül (2015) ve Sauerwein vd. (2004), deki gibi ELİSA yöntemi kullanılarak ortaya konulmuştur.

Benzer şekilde Ettore vd. (2012), kan plazmasındaki leptin düzeyleri ile *O.mykiss* ve Murray cod'un farklı beslenen hayvanların büyüme hızları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığını ortaya koymuşlardır.

Köprücü ve Algül (2015) *Cyprinus carpio* 'nun kan serumunda leptin değerinin (0.33 ± 0.07 ng / ml) *Capoeta trutta* 'ya (0.22 ± 0.02 ng / ml) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olmadığını ($p > 0.05$), buna benzer olarak Ettore vd. (2012) de farklı deneysel yemlerle beslenen *O.mykiss* ve *Maccullochella peelii peelii* 'nin gelişme

oranlarında ve kan plazmalarındaki leptin seviyelerindeki farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise erkek $1,7685 \pm 0,30$ ng/ml ve dişi $1,0815 \pm 0,15$ ng/ml *O.mykiss*'lerin kan serumundaki leptin seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunurken, *C.carpio* ve *C.trutta* (Köprücü ve Algül, 2015) türlerinde cinsiyet ayırımına göre leptin seviyeleri arasındaki fark önemli ($p > 0,05$) çıkmamıştır.

Bu çalışmada erkek *O.mykiss* in leptin seviyesi ile vücut ağırlığı arasında istatistiksel olarak pozitif yönde çok zayıf bir ilişki bulunurken, total boy ile kıyaslama yapıldığında pozitif yönde çok zayıf bir ilişki bulunmuştur. Aynı şekilde, leptin ile dişi *O.mykiss* ağırlığı arasında pozitif yönde zayıf bir ilişki gözlenmiş olup, total boy ile kıyaslama yapıldığında pozitif yönde zayıf bir ilişki bulunmuştur. Benzer şekilde

C.carpio ve *C.trutta* (Köprücü ve Algül, 2015) da da vücut ağırlığı ve uzunluğuyla leptin seviyeleri arasında negatif korelasyon belirlenmiştir. *O.kisutch* (Baker vd., 2000) ve *L. cyanellus* (Londrville ve Duvall, 2002) da vucut ağırlığıyla leptin seviyesi arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur. Ayrıca Moria vd. (2004) tarafından serumdaki leptin seviyesi ile ağırlık kaybı ve artışı arasında da istatistiksel farkın da önemli olmadığı bildirilmiştir. Buna karşılık Kling vd. (2009) tarafından plasmadaki leptin seviyesinin aç bırakılan balıklarda beslenen balıklara göre daha yüksek olduğunu ve plasmadaki leptin seviyesinin kondisyon faktörüyle korelasyonun bulunmadığını ortaya koymuştur.

Sonuç olarak,

O.mykiss' de erkek bireylerin apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla ghrelin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu $p= 0,811$; $p>0,05$ ve aralarındaki korelasyonun negatif yönde ($r = 0,05$) olduğu görülmektedir

O.mykiss' de erkek bireylerin apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu ($p= 0,105$; $p>0,05$) ve aralarındaki korelasyonun pozitif yönde ($r= - 0,37$) olduğu görülmektedir

O.mykiss' de erkek bireylerin leptin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında ghreline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu ($p= 0,354$; $p>0,05$) ve aralarındaki korelasyonun negatif yönde ($r= - 0,21$) olduğu görülmektedir.

O.mykiss' de dişi bireylerin apelin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla ghrelin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu ($p= 0,210$; $p>0,05$) ve aralarındaki korelasyonun negatif yönde ($r= - 0,29$) olduğu görülmektedir.

O.mykiss' de dişi bireylerin apelin düzeyleri ile leptin düzeyleri karşılaştırıldığında apeline oranla leptin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu ($p = 0,277$; $p>0,05$) ve aralarındaki korelasyonun pozitif yönde ($r = 0,25$) olduğu görülmektedir.

O.mykiss' de dişi bireylerin leptin düzeyleri ile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında leptine oranla ghrelin miktarı yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunduğu ($p = 0,048$; $p < 0,05$) ve aralarındaki korelasyonun negatif yönde ($r= - 0,44$) olduğu görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar neticesinde dişi ve erkek *O.mykiss*' de apelin, ghrelin ve leptin miktarının önemli olmadığını göstermektedir. Eldeki verileri, kesin yorumlamak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Aydin, S., Halifeoglu, İ., Ozercan, İ.H., Erman, F., Kilic, N., Aydin, S., İlhan, N., İlhan, N., Ozkan, Y., Akpolat, N., Sert, L., Caylak, E., (2005 a), A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects, *Peptides*, 26, 4, 647-652.
- Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. (2006), Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri. J Med Sci.* 26: 272-283.
- Aydin, S., Geçgil, H., Zengin, F., Özercan, H.İ., Karataş, F., Aydın, S., Balık, D.T., Ozkan, Y., Dağlı, F., and Çelik, V., 2006b, Ghrelin in plants: What is the function of an appetite hormone in plants, *Peptides*, Article in Press.
- Aydin S, Ozercan İH, Dağlı F, Aydin S, Kumru S, Kilic N, Sahin İ, Ozercan MR. (2007), Ghrelin is present in human teeth. *J Biochem Mol Biol.*
- Banks, W. A.; Coon, A. B.; Robinson, S. M.; Moinuddin, A.; Shultz, J. M.; Nakaoke, R.; Morley, J. E., 2004, Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes* 53, 1253– 1260.
- Banks, W.A., Tschop, M., Robinson, S.M. and Heiman, M.L., 2002, Extend and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302, 822-827.
- Baker, D. M.; Larsen, D. A.; Swanson, P.; Dickhoff, W. W., 2000, Long-term peripheral treatment of immature coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with human leptin has no clear physiologic effect. *General and Comparative Endocrinology* 118, 134–138.
- Bjorbaek C, Kahn BB. 2004, Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 59: 305-331.
- Boorse, G. C.; Libbon, J. V., 2010, Genomic characterization of two leptin genes and a leptin receptor gene in the Green Anole, *Anolis carolinensis*. *Integrative and Comparative Biology* 50, E207.
- Bosi, G.; Di Giancamillo, A.; Arrighi, S.; Domeneghini, C., 2004, An immunohistochemical study on the neuroendocrine system in the alimentary canal of the brown trout, *Salmo trutta*, L., 1758. *General and Comparative Endocrinology* 138, 166–181.
- Boucher, J.; Masri, B.; Daviaud, D.; Gesta, S.; Guigne, C.; Mazzucotelli, A.; Castan-Laurell, I.; Tack, I.; Knibiehler, B.; Carpene, C.; Audigier, Y.; Saulnier-Blache, J. S.; Valet, P., 2005, Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 146, 1764–1771.
- Carpene, C.; Dray, C.; Attane, C.; Valet, P.; Portillo, M. P.; Churrua, I.; Milagro, F. I.; Castan-Laurell, I., 2007, Expanding role for the apelin/APJ system in physiopathology. *Journal of Physiology and Biochemistry* 63, 359–373.
- Castan-Laurell, I.; Vitkova, M.; Daviaud, D.; Dray, C.; Kovacikova, M.; Kovacova, Z.; Hejnova, J.; Stich, V.; Valet, P., 2008, Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *European Journal of Endocrinology* 158, 905–910.

- Cayabyab M, Hinuma S, Farzan M, Choe H, Fukusumi S, Kitada C, Nishizawa N, Hosoya M, Nishimura O, Messele T, Pollakis G, Goudsmit J, Fujino M, Sodroski J. 2000,** Apelin, the natural ligand of the orphan seven-transmembrane receptor APJ, inhibits human immunodeficiency virus type 1 entry. *Journal of Virology* 74(24): 11972-11976.
- Chan, C.B., Cheng, C.H., 2004,** Identification and functional characterization of two alternatively spliced growth hormone secretagogue receptor transcripts from the pituitary of black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 214, 81–95.
- Choi, Y. J.; Kim, N. N.; Shin, H. S.; Choi, C. Y., 2014,** The expression of leptin, estrogen receptors, and vitellogenin mRNAs in migrating female chum salmon, *Oncorhynchus keta*: the effects of hypo-osmotic environmental changes. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 27, 479–487.
- Dass, N.B., Munonyara, M., Bassil A.K., Hervieu, G.J., Osbourne, S., Corcoran, S., Morgan, M., a Sanger, G.J., 2003,** Growth hormone secretagogue receptors in rat and human gastrointestinal tract and the effects of ghrelin, *Neuroscience* 120, 2, 443-453.
- Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. 2000,** Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*. 141 (11): 4255-4261.
- De Falco, M.; De Luca, L.; Onori, N.; Cavallotti, I.; Artigiano, F.; Esposito, V.; De Luca, B.; Laforgia, V.; Groeger, A. M.; De Luca, A., 2002,** Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo* 16, 333–336.
- Denver, R. J.; Bonett, R. M.; Boorse, G. C., 2011,** Evolution of leptin structure and function. *Neuroendocrinology* 94, 21–38.
- Doyon, C., Drouin, G., Trudeau, V.L., and Moon, T.W., 2001,** Molecular evolution of leptin, *Gen. Comp. Endocrinol.* 124, 188–198.
- Druce MR, Wren A M, Park A, Milton JE, Patterson M, G Frost G, Ghatei MA, C Small and Bloom SR 2005,** Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects *International Journal of Obesity* (2005) 29, 1130–1136.
- Druce, M.R., Neary, N.M., Small, C.J., Milton, J., Monteiro, M., Patterson, M., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., 2006,** Subcutaneous administration of ghrelin stimulates energy intake in healthy lean human volunteers. *Int. J. Obes.* 30, 293–296.
- Tschöp, M., Smiley, D.L., Heiman, M.L., 2000,** Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 19, 908–913.
- Eirik Frøiland, Koji Murashita, Even Hjalmar Jørgensen, Tadahide Kurokawa 2009,** Leptin and ghrelin in anadromous Arctic charr: Cloning and change in expressions during a seasonal feeding cycle. Norwegian College of Fishery Science, University of Tromsø, N-9037 Tromsø, Norway

- Ettore, V.; Finizia, R.; Elena, C.; Giovanni, T.; David, F.; Paolo, D. G.; Marina, P., 2012**, Immunohistochemical and immunological detection of ghrelin and leptin in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and murray cod *Maccullochella peelii peelii* as affected.
- Eugene T. Won, Jonathan D. Douros, David A. Hurt, Russell J. Borski 2015**, Leptin stimulates hepatic growth hormone receptor and insulin-like growth factor gene expression in a teleost fish, the hybrid striped bass. Department of Biological Sciences, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA
- Fantuzzi, G.; Faggioni, R., 2000**, Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology* 68, 437–446.
- Foldes, G.; Horkay, F.; Szokodi, I.; Vuolteenaho, O.; Ilves, M.; Lindstedt, K. A.; Mayranpaa, M.; Sarman, B.; Seres, L.; Skoumal, R.; Lako-Futo, Z.; deChatel, R.; Ruskoaho, H.; Toth, M., 2003**, Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 308, 480–485.
- Francisco J. Muruzabal, Gema Fruhbeck, Javier GomezAmbrosi, Marta Archanco and Maria A. Burrella, 2002**, Immunocytochemical detection of leptin in non-mammalian vertebrate stomach Department of Histology and Pathology, University of Navarra, Pamplona, Spain Accepted 1 July 2002
- Friedman, J. M., and Halaas, J. L. 1998**, Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763–770.
- Froiland, E.; Murashita, K.; Jorgensen, E. H.; Kurokawa, T., 2010**, Leptin and ghrelin in anadromous Arctic charr: cloning and change in expressions during a seasonal feeding cycle. *General and Comparative Endocrinology* 165, 136–143.
- Fuentes, E. N.; Kling, P.; Einarsdottir, I. E.; Alvarez, M.; Valdes, J. A.; Molina, A.; Björnsson, B. T., 2012**, Plasma leptin and growth hormone levels in the fine flounder (*Paralichthys adspersus*) increase gradually during fasting and decline rapidly after refeeding. *General and Comparative Endocrinology* 177, 120–127.
- Fujino, K., Inui, A., Asakawa A., Kihara, N., Fujimura, M., Fujimiya, M., 2003**, Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats, *Journal of Physiology* 550, 227–240.
- Gambardella, C.; Gallus, L.; Ravera, S.; Fasulo, S.; Vacchi, M.; Ferrando, S., 2010**, First evidence of a leptin-like peptide in a cartilaginous fish. *Anatomical Record (Hoboken)* 293, 1692–1697.
- Gimble, J. M.; Nuttall, M. E., 2004**, Bone and fat: old questions, new insights. *Endocrine* 23, 183–188.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. 2002**, The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Clin Endocrinol Metab.* 87: 2988-2991.

- Gong, Y.; Luo, Z.; Zhu, Q. L.; Zheng, J. L.; Tan, X. Y.; Chen, Q. L.; Lin, Y. C.; Lu, R. H., 2013**, Characterization and tissue distribution of leptin, leptin receptor and leptin receptor overlapping transcript genes in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *General and Comparative Endocrinology* 182, 1–6.
- Gorissen, M.; Bernier, N. J.; Nabuurs, S. B.; Flik, G.; Huising, M. O., 2009**, Two divergent leptin paralogues in zebrafish (*Danio rerio*) that originate early in teleostean evolution. *Journal of Endocrinology* 201, 329–339.
- Guallino, O., Camines, J.E., Blancosm, M., 2001**, Ghrelin, a novel plasental-derived hormone, *Endocrinology* 142, 778-794.
- Gültürk S, Demirkazık A.2007**, Leptin ve diyabet. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 29 (1): 35-40.7
- Håkansson M, Brown H, Ghilardi N, Radek C. Skoda and Meister B. 1998**, Leptin Receptor Immunoreactivity in Chemically Defined Target Neurons of the Hypothalamus *Journal of Neuroscience* 1 January 1998, 18 (1) 559-572.
- Halaas, J.L., Gajiwala, K.S., Maffei, M., Cohen, S.L., Chait, B.T., Rabinowitz, D., Friedman, J.M., 1995**. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269, 543–546.
- Harvey, J., Ashford, M.L., 2003**, Leptin in the CNS: much more than a satiety signal. *Neuropharmacology* 44, 845-854.
- Hattari, N., Saito, T., Yagy, T., Jiang, B.H., Kitagawa, K., Inagalvi, C., 2001**, GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells and neutrophils, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 4284-4291
- Havel P. 2004**, Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes* 53: S143–S151,
- Heinonen, M.V., Laaksonen, D.E., Karhu, T., Karhunen, L., Laitinen, T., Kainulainen, S. 2009**, “Effect of diet-induced weight loss on plasma apelin and cytokine levels in individuals with the metabolic syndrome”, *Nutr Metab & Cardiovasc Dis*, 19: 1-8.
- Higuchi, K.; Masaki, T.; Gotoh, K.; Chiba, S.; Katsuragi, I.; Tanaka, K.; Kakuma, T.; Yoshimatsu, H., 2007**, Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 148, 2690–2697.
- Makimura H, Tooru M. Mizuno, Xue-Jun Yang, Jeff Silverstein, Joe Beasley and Charles V. Mobbs 2001**, Cerulenin Mimics Effects of Leptin on Metabolic Rate, Food Intake, and Body Weight Independent of the Melanocortin System, but Unlike Leptin, Cerulenin Fails to Block Neuroendocrine Effects of Fasting *Apr*; 50(4): 733- 739.
- Huising, M. O.; Geven, E. J.; Kruiswijk, C. P.; Nabuurs, S. B.; Stolte, E. H.; Spanings, F. A.; Verburg-van Kemenade, B. M.; Flik, G., 2006**, Increased leptin expression in common carp (*Cyprinus carpio*) after food intake but not after fasting or feeding to satiation. *Endocrinology* 147, 5786–5797.

- Ichiro Sakata , Tsukasa Mori, Hiroyuki Kaiya, Mami Yamazaki, Kenji Kangawa, Kinji Inoue and Takafumi Sakai 2004**, Localization of Ghrelin-Producing Cells in the Stomach of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Department of Regulation Biology, Faculty of Science, Saitama University, 255 Shimo-ohkubo,Saitama 338-8570, Japan.
- Jonathan D. Douros, David A. Baltzegar, Jamie Mankiewicz, Jordan Taylor, Yoko Yamaguchi ,Darren T. Lerner, Andre P. Seale, E. Gordon Grau, Jason P. Breves, Russell J. Borski 2016**, Control of leptin by metabolic state and its regulatory interactions with pituitary growth hormone and hepatic growth hormone receptors and insulin like growth factors in the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Department of Biological Sciences, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7617, United States.
- Johnson, R. M.; Johnson, T. M.; Londraville, R. L., 2000**, Evidence for leptin expression in Fishes. *Journal of Experimental Zoology* 286, 718–724.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Moriyama S, Takahashi A, Kawauchi H, Kangawa K. (2003 a)**, Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. *Endocrinology*. 144 (12): 5215-5226.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K. (2003 b)**, Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 135 (3): 421-429.
- Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G., Kangawa, K., (2003 c)**, Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity, *J. Endocrinol.* 176, 415– 423.
- Kaiya H, Tsukada T, Yuge S, Mondo H, Kangawa K, Takei Y. 2006**, Identification of eel ghrelin in plasma and stomach by radioimmunoassay and histochemistry. *Gen Comp Endocrinol.* 148 (3): 375-382.
- Katugampola S, Davenport A. 2003**, Emerging roles for orphan G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system. *Trends in Pharmacological Sciences* 24(1): 30- 35.
- Kiersen JA, Dimatteo DM, Locke RG, Mackley AB, Spear ML. 2006**, Ghrelin and cholecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.* 95: 991-995.
- Kleinz, M. J.; Davenport, A. P., 2004**, Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regulatory Peptides* 118, 119–125.
- Kleinz, M. J.; Davenport, A. P., 2005**, Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology and Therapeutics* 107, 198–211.
- Kling, P.; Ronnestad, I.; Stefansson, S. O.; Murashita, K.; Kurokawa, T.; Björnsson, B. T., 2009**, A homologous salmonid leptin radioimmunoassay indicates elevated plasma

leptin levels during fasting of rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology* 162, 307–312.

- Kling, P.; Jonsson, E.; Nilsen, T. O.; Einarsdottir, I. E.; Ronnestad, I.; Stefansson, S. O.; Björnsson, B. T., 2012**, The role of growth hormone in growth, lipid homeostasis, energy utilization and partitioning in rainbow trout: interactions with leptin, ghrelin and insulin-like growth factor I. *General and Comparative Endocrinology* 175, 153–162.
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., and Kangawa, K., 1999**, Ghrelin is a growthhormone- releasing acylated peptide from stomach, *Nature* 402, 656–660.
- Kobayashi, Y.; Quiniou, S.; Booth, N. J.; Peterson, B. C., 2011**, Expression of leptin- like peptide (LLP) mRNA in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is induced by exposure to *Edwardsiella ictaluri* but is independent of energy status. *General and Comparative Endocrinology* 173, 411– 418.
- Kojima M, Kangawa K. 2005**, Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev.* 85: 495-522.
- Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. 2004**, Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front in Neuroend.* 25: 27-68.
- Köprücü S. ve S. Algul 2015**, Comparatively examining of the apelin-13 levels in the *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) and *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758).
- Köprücü S. ve S. Algul 2015**, Investigation of the leptin levels in the blood serum of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and *Capoeta trutta* (Heckel, 1843).
- Kurokawa, T.; Uji, S.; Suzuki, T., 2005**, Identification of cDNA coding for a homologue to mammalian leptin from pufferfish, *Takifugu rubripes*. *Peptides* 26, 745–750.
- Kurokawa, T.; Murashita, K., 2009**, Genomic characterization of multiple leptin genes and a leptin receptor gene in the Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *General and Comparative Endocrinology* 161, 229– 237.
- Kawamata, Y.; Habata, Y.; Fukusumi, S.; Hosoya, M.; Fujii, R.; Hinuma, S.; Nishizawa, N.; Kitada, C.; Onda, H.; Nishimura, O.; Fujino, M., 2001**, Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochimica et Biophysica Acta* 1538, 162– 171.
- Lai, J.K.C., Cheng, C.H.K., Ko, W.H., Leung, P.S., 2005**, Ghrelin system in pancreatic AR42J cells: its ligand stimulation evokes calcium signalling through ghrelin receptors, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37, 4, 887-900.
- Lee DK, George SR, O'Dowd BF. 2006**, Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends in Pharmacological Sciences* 27(4): 190-4.
- Li, G. G.; Liang, X. F.; Xie, Q.; Li, G. Z.; Yu, Y.; Lai, K., 2010**, Gene structure, recombinant expression and functional characterization of grass carp leptin. *General and Comparative Endocrinology* 166, 117– 127.

- Lin, X.; Volkoff, H.; Narnaware, Y.; Bernier, N.; Peyon, P.; Peter, R., 2000**, Brain regulation of feeding behavior and food intake in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 126, 415–434.
- Llorens-Cortes, C.; Moos, F., 2008**, Opposite potentiality of hypothalamic coexpressed neuropeptides, apelin and vasopressin in maintaining body-fluid homeostasis. *Progress in Brain Research* 170, 559–570.
- Londrville, R. L.; Duvall, C. S., 2002**, Murine leptin injections increase intracellular fatty acid-binding protein in green sunfish (*Lepomis cyanellus*). *General and Comparative Endocrinology* 129, 56–62.
- Lu, R. H.; Liang, X. F.; Wang, M.; Zhou, Y.; Bai, X. L.; He, Y., 2012**, The role of leptin in lipid metabolism in fatty degenerated hepatocytes of the grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 1759–1774.
- MacDougald OA, Burant CF. 2006**, The Rapidly Expanding Family of Adipokines. *Cell Metabolism* 6:159-161.
- Masuda, Y., Tanaka, T., Inomata, N., Tanaka, S., Itoh, Z., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., 2000**, Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats, *Biochemical and Bio-physical Research Communications* 270, 905-908.
- Matson ve Rippe, 1989**, Metomidate a better anaesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocain, MS-222, chloro butanol and phenoxethanol. *Aquaculture*, 83, 89-94.
- Medhurst, A. D.; Jennings, C. A.; Robbins, M. J.; Davis, R. P.; Ellis, C.; Winborn, K. Y.; Lawrie, K. W.; Hervieu, G.; Riley, G.; Bolaky, J. E., 2003**, Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of Neurochemistry* 84, 1162–1172.
- Moon, M. J.; Oh, D. Y.; Moon, J. S.; Kim, D. K.; Hwang, J. I.; Lee, J. Y.; Kim, J. I.; Cho, S.; Kwon, H. B.; Seong, J. Y., 2007**, Cloning and activation of the bullfrog apelin receptor: Gi/o coupling and high affinity for [Pro1] apelin-13. *Molecular and Cellular Endocrinology* 277, 51–60.
- Moria, T. A.; Burke, V.; Puddey, I. B.; Shaw, J. E.; Beilin, L. J., 2004**, Effect of fish diets and weight loss on serum leptin concentration in overweight, treated- hypertensive subjects. *Journal of Hypertension* 22, 1983–1990.
- Moschos, S.; Chan, J. L.; Mantzoros, C. S., 2002**, Leptin and reproduction: a review. *Fertility and Sterility* 77, 433–444.
- Mustonen, A.M., Nieminen, P., Hyvarinen, H., 2002**, Leptin, ghrelin, and energy metabolism of the spawning burbot (*Lota lota*, L.), *J. Exp. Zool.* 293, 119–126.
- Murashita, K.; Uji, S.; Yamamoto, T.; Ronnestad, I.; Kurokawa, T., 2008**, Production of recombinant leptin and its effects on food intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 150, 377–384.
- Muruzabal, F. J.; Fröhbeck, G.; Gomez- Ambrosi, J.; Archanco, M.; Burrell, M. A., 2002**, Immunocytochemical detection of leptin in non-mammalian vertebrate stomach. *General and Comparative Endocrinology* 128, 149–152.

- Myers, M. G.; Simerly, R. B., 2010**, The neuroendocrinology and neuroscience of energy balance. *Frontiers in Neuroendocrinology* 31, 1–3.
- Nieminen, P., Mustonen, A.M., Hyvarinen, H., 2003**, Fasting reduces plasma leptin-and ghrelinimmunoreactive peptide concentrations of the burbot (*Lota lota*) at 2 °C but not at 10 °C, *Zool. Sci.* 20, 1109–1115.
- Nogueiras R, Pfluger P, Tovar S, Arnold M, Mitchell S, Morris A, et al. 2007**, Effects of obestatin on energy balance and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology* 148(1): 21-26.
- Palyha, O.C., Feighner, S.D., Tan, C.P., McKee, K.K., Hreniuk, D.L., Gao, Y.D., Schlem, K.D., Yang, L., Morriello, G.J., Nargund, R., Patchett, A.A., Howard, A.D., Smith, R.G., 2000**, Ligand activation domain of human orphan growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHS-R) conserved from pufferfish to humans. *Mol. Endocrinol.* 14, 160–169.
- Paolucci, M.; Rocco, M.; Varricchio, E., 2001**, Leptin presence in plasma, liver and fat bodies in the lizard *Podarcis sicula*: fluctuations throughout the reproductive cycle. *Life Sciences* 69, 2399– 2408.
- Parhar, I.S., Sato, H., Sakuma, Y., 2003**, Ghrelin gene in cichlid fish is modulated by sex and development, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 169–175.
- Park, A. J., Bloom, S. R., 2005**, Neuroendocrine control of food intake. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 21, 228-233.
- Peter Kling, Ivar Rønnestad, Sigurd O. Stefansson, Koji Murashita, Tadahide Kurokawa, Björn Thrandur Björnsson 2009**, A homologous salmonid leptin radioimmunoassay indicates elevated plasma leptin levels during fasting of rainbow trout. Department of Zoology/Zoophysiology, University of Gothenburg, Box 463, SE-405 30 Gothenburg, Sweden
- Petit, G., Beauchaud, M., Attia, J., Buisson, B., 2003**, Food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L/12D) or exposed to continuous light. *Aquaculture*, 228, 397-401.
- Pfundt B, H. Sauerwein and M. Mielenz 2009**, Leptin mRNA and Protein Immunoreactivity in Adipose Tissue and Liver of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Immunohistochemical Localization in Liver.
- Pinkney, J., Williams, G., 2002**, Ghrelin gets hungry, *The Lancet* 359, 9315, 1360-1361.
- Poykko SM, Kellokoski E, Hörkkö S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. 2003**, Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 2546-2553.
- Qi X, Li L, Yang G, Liu J, Li K, Tang Y, et al. 2007**, Circulating obestatin levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology* 2007; 66: 593–597.
- Quertermous, T., 2007**, Apelin and its g protein-coupled receptor regulate cardiac development as well as cardiac function. *Developmental Cell* 12, 319– 320.

- Rahmouni, K.; Haynes, W. G., 2004**, Leptin and the cardiovascular system. Recent Progress in Hormone Research 59, 225–244.
- Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortes C. 2001**, Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. Journal of Neurochemistry 77(4): 1085-1096.
- Reaux-Le Goazigo, A.; Alvear-Perez, R.; Zizzari, P.; Epelbaum, J.; Bluet-Pajot, M. T.; Llorens-Cortes, C., 2007**, Cellular localization of apelin and its receptor in the anterior pituitary: evidence for a direct stimulatory action of apelin on ACTH release. American Journal Physiology-Endocrinology and Metabolism 292, 7–15.
- Red-Horse, K.; Ueno, H.; Weissman, I. L.; Krasnow, M. A., 2010**, Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. Nature 464, 549–553.
- Riley LG¹, Fox BK, Kaiya H, Hirano T, Grau EG.2005**, Long-term treatment of ghrelin stimulates feeding, fat deposition, and alters the GH/IGF-I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Gen Comp Endocrinol. 2005 May 15;142(1-2):234-40.
- Ronnestad, I.; Nilsen, T. O.; Murashita, K.; Angotzi, A. R.; Gamst Moen, A. G.; Stefansson, S. O.; Kling, P.; Thrandur Björnsson, B.; Kurokawa, T., 2010**, Leptin and leptin receptor genes in Atlantic salmon: cloning, phylogeny, tissue distribution and expression correlated to long-term feeding status. General and Comparative Endocrinology 168, 55–70.
- Sakata, I., Nakamura, K., Yamazaki, M., Hayashi Y., Kangawa, K., 2002**, Ghrelin-producing cell-exit as two of cells, closed and opened types cells, in the rat gastrointestinal tract, Peptides 23, 3, 531-536.
- Sakata I, Mori T, Yamazaki M, Kangawa K, Inoue K, Sakai T., 2004**, Localization of Ghrelin-Producing Cells in the Stomach of the Rainbow Trout (*OncorI*, Localization of Ghrelin-Producing Cells in the Stomach of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) ZOOLOGICAL SCIENCE 757–762.
- Silverstein, J.T., Plisetskaya, E.M., 2000**, The effects of NPY and insulin on food intake regulation in fish, Am. Zool. 40, 296–308.
- Sauerwein, H.; Heintges, U.; Hennies, M.; Selhorst, T.; Daxenberger, A., 2004**, Growth hormone induced alterations of leptin serum concentrations in dairy cows as measured by a novel enzyme immunoassay. Livestock Production Science 87, 189–195.
- Sunter, D.; Hewson, A. K.; Dickson, S. L., 2003**, Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. Neuroscience Letters 353, 1–4.
- Strader, A.D., Woods, S.C., 2005**, Gastrointestinal hormones and food intake. Gastroenterology. 128, 175-191.
- Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, et al. 1998**, Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. Biochemical and Biophysical Research Communications 251(2): 471-476.

- Tena-Sempere, M., Barreiro, M.L., Gonzalez, L.C., Gaytan, F., Zhang, F.P., Caminos, J.E., 2002**, Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis, *Endocrinology* 143, 717–725.
- Toshinai K, Y. Date, N. Murakami et al., 2003**, “Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway,” *Endocrinology*, vol. 144, no. 4, pp. 1506–1512, 2003.
- Trombley, S.; Schmitz, N., 2013**, Leptin in fish: possible role in sexual maturation in male Atlantic salmon. *Fish Physiology and Biochemistry* 39, 103–106.
- Unniappan, S., Lin, X., Cervini, L., Rivier, J., Kaiya, H., Kangawa, K., Peter, R.E., 2002**, Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake, *Endocrinology* 143, 4143–4146.
- Unniappan, S., Canosa, L.F., Peter, R.E. 2004**, Orexigenic actions of ghrelin in goldfish: feeding-induced changes in brain and gut mRNA expression and serum levels, and responses to central and peripheral injections, *Neuroendocrinology* 79, 100–108.
- Vegusdal, A.; Sundvold, H.; Gjoen, T.; Ruyter, B., 2003**, An in vitro method for studying the proliferation and differentiation of Atlantic salmon preadipocytes. *Lipids* 38, 289–296.
- Volante, M., Allia, E., Gugliotta, P., Funaro, A., Broglio, F., Deghenghi, R., 2002**, Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 87, 1300–1308.
- Volkoff, H., Eykelbosh, A.J., Peter, R.E., 2003**, Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain Res.* 972, 90–109.
- Volkoff, H., Canosa, L.F., Unniappan, S., Cerda-Reverter, J.M., Bernier, N.J., Kelly, S.P. ve Peter, R.E., 2005**, Neuropeptides and the control of food intake in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 142: 3–19.
- Volkoff, H., 2006**, The role of neuropeptide Y, orexins, cocaine and amphetamine-related transcript, cholecystokinin, amylin and leptin in the regulation of feeding in fish. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 144, 325-331.
- Volkoff, H.; Wyatt, J. L., 2009**, Apelin in goldfish (*Carassius auratus*): cloning, distribution and role in appetite regulation. *Peptides* 30, 1434–1440.
- Wang, G., Lee, H.M., Englander, E., Greeley, H.G., 2002**, Ghrelin—not just another stomach hormone, *Regulatory Peptides* 105, 75–81.
- Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, M.A., Brynes, A.E., Frost, G.S., Murphy, K.G., Dhillon, W.S., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., 2001a**, Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 5992.

- Wren, A.M., Small, C.J., Abbott, C.R., Dhillon, W.S., Seal, L.J., Cohen, M.A., Batterham, R.L., Taheri, S., 2001b**, Stanley, S, A., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 50, 2540–2547.
- Wong, M.; Yu, R.; Ng, P.; Law, S.; Tsang, A.; Kong, R., 2007**, Characterization of a hypoxia-responsive leptin receptor (om- LepRL) cDNA from the marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Marine Pollution Bulletin* 54, 792–819.
- Won, E. T.; Baltzegar, D. A.; Picha, M. E.; Borski, R. J., 2012**, Cloning and characterization of leptin in a Perciform fish, the striped bass (*Morone saxatilis*): control of feeding and regulation by nutritional state. *General and Comparative Endocrinology* 178, 98–107.
- Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N. 2002**, Influence of feeding diets with and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 214, 289–305.
- Zeng, X. X.; Wilm, T. P.; Sepich, D. S.; Solnica-Krezel, L., 2007**, Apelin and its receptor control heart field formation during zebrafish gastrulation. *Developmental Cell* 12, 391–402.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al 1994**, Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425–32
- Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, et al. 2005**, Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 2005; 310: 996–999.
- Zhang, H.; Chen, H.; Zhang, Y.; Li, S.; Lu, D.; Zhang, H.; Meng, Z.; Liu, X.; Lin, H., 2013**, Molecular cloning, characterization and expression profiles of multiple leptin genes and leptin receptor gene in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *General and Comparative Endocrinology* 181, 295–305.
- Zieba, D. A.; Amstalden, M.; Williams, G. L., 2005**, Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domestic Animal Endocrinology* 29, 166–185.

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 1987 yılında doğdum. İlk, orta ve lise öğretimimi Elazığ'ın Keban ilçesinde tamamladım. 2007 – 2011 yılları arasında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini tamamladım. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalında Eylül 2011 döneminde yüksek lisansa başladım. Halen bu bölümde eğitimim devam etmektedir. Evli ve bir çocuk annesiyim.

Müge TOKMAK BİÇER

