



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OBEZ SIÇAN MODELİNDE PANKREAS VE HİPOKAMPUS
DOKULARINDA UCP2 GEN ANALİZİ**

Zeynep ULUKÜTÜK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Can DEMİREL

Gaziantep

2018

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

OBEZ SIÇAN MODELİNDE PANKREAS VE HİPOKAMPUS DOKULARINDA
UCP2 GEN ANALİZİ

Zeynep ULUKÜTÜK

Tez Savunma Tarihi: 22.06.2018

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışmanın bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanları

I. Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

II. Doç. Dr. Can DEMİREL

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmza

Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Ertan AY

Dr. Öğr. Üyesi Gülper NACARKAHYA

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim

22.06.2018

Zeynep ULUKÜTÜK



TEŞEKKÜR

Bu araştırmadaki deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Sibel OğUZKAN BALCI' ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince öneri ve görüşleri ile yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Can DEMİREL' e teşekkür ederim.

Deneyslerimi yaparken yardımlarını, tecrübelerini, desteklerini esirgemeyen ekip arkadaşlarım İbrahim Halil ÇİTÇİ, Meltem ESKİOCAK ve İbrahim YILMAZ' a, ve Dr. Oğr. Üyesi Serkan GÖRGÜL' e

Yüksek lisansım süresince, maddi ve manevi yanımda olan değerli arkadaşlarım Seçil DEMİRAL, Seçil EROğLU, Ceyda OKUDU, Elif Işıl YÜCEL' e,

Bugünlere gelmeme vesile olan, her zaman bana olan sevgi ve güvenlerini yanımda hissettiren başta sevgili ANNEM ve BABAM olmak üzere tüm aileme,

şimdiye kadar eğitim oğretim hayatımda üzerimde emeği olan tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Bu tezin gerçekleştirilmesinde finansal desteğinden dolayı Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (BAPYP, Proje No: TF.YLT.17.32) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR VE SİMGELER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1.GİRİŞ ve AMAÇ	3
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Obezite	4
2.1.1.Obezite Nedir?	4
2.1.2.Obezitenin Tanısı	4
2.1.3.Obezitenin Nedenleri	6
2.1.4.Obezite Genetiği	6
2.2.Pankreas	11
2.3.Eşleşme Bozucu Proteinler (Uncoupling Proteinler)	13
2.3.1.Mitokondri	13
2.3.2.Mitokondriyal Anyon Taşıyıcı Ailesi ve Eşleşme Bozucu Proteinler	15
2.3.3.Eşleşme Bozucu Proteinler	16
2.3.4.Eşleşme Bozucu Proteinlerin Tipleri	17
2.4.Bilginin İşlenmesi ve Saklanması	21
2.4.1.Bilginin İşlenmesi: Öğrenme	21
2.4.2.Bilginin Depolanması: Bellek.....	22
2.4.2.1.Duyusal Kayıt Bellek.....	22
2.4.2.2.Kısa Süreli Bellek	22
2.4.2.3.Uzun Süreli Bellek.....	22
2.5.Hipokampus	23
2.6.Morris Su Tankı	24
3.GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1.Hayvan Deneyleri	26
3.1.1.Kullanılan Hayvanlar	26
3.1.2.Deney Grupları	26
3.1.3.Hayvanların Bakımı ve Beslenmesi.....	26

3.1.4.Hayvanlara Öğrenme Testi Uygulanması.....	27
3.1.5.Hayvan Deneylerinin Sonlandırılması.....	29
3.2.Moleküler Genetik Analizler	29
3.2.1.Dokudan Total RNA İzolasyonu	29
3.2.2.Elde Edilen Total RNA'dan Kalite ve Miktar Tayini.....	31
3.2.3.Total RNA'dan cDNA eldesi.....	31
3.2.4.Primer seçimi	32
3.2.5.qRT-PCR (Real Time-PCR, Gerçek Zamanlı-PCR)	32
3.3.İstatistiksel analiz.....	34
3.3.1.Hayvan Deneylerinin İstatistiksel Analizi	34
3.3.2.Moleküler Genetik Deneylerin İstatistiksel Analizi	34
4.BULGULAR.....	35
4.1.Hayvan Deneyleri Bulguları	35
4.1.1.Deney Hayvanların Haftalık Kilo Takipleri ve Oluşturulan Obezite Modelinin Değerlendirilmesi.....	35
4.1.2.Deney Hayvanların Açlık Kan Glikoz Seviyelerinin Ölçüm Sonuçları	36
4.1.3.Morris Su Tankı Öğrenme Deneyleri Sonuçları	38
4.2.Moleküler Genetik Analiz Bulguları.....	40
4.2.1.Pankreas Dokularında Ucp2 Gen İfade Sonuçları	40
4.2.2.Hipokampus Dokularında Ucp2 Gen İfade Sonuçları	41
5.TARTIŞMA	43
6.KAYNAKÇA	48
ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMALAR VE SİMGELER

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ADP	Adenozin difosfat
ADRB1	Adrenerjik b-reseptör 1
ADRB2	Adrenerjik b-reseptör 1
ADRB3	Adrenerjik b-reseptör 3
ANT	Adenin nükleotid translokaz
ATP	Adenozin trifosfat
BBS	Bardet-Biedl sendromu
BDNF	Beyinden türetilen nörotrofik faktör
BKO	Bel/kalça oranı
BMCP1	Beyin mitokondriyal taşıyıcı protein-1
CA1	Cornu ammonis 1
CA2	Cornu ammonis 2
CA3	Cornu ammonis 3
CA4	Cornu ammonis 4
cDNA	Komplemanter DNA
Ct	Cycle threshold
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
H ⁺	Hidrojen iyonu
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GSIS	Glikoz uyarımlı insülin salınımı
K ⁺	Potasyum
LEP	Leptin

LEPR	Leptin reseptörü
MC4R	Melanokortin 4 reseptör
MSH	Melanosit uyarıcı hormon
MACP	Mitokondriyal anyon taşıyıcı protein
MC3R	Melanokortin 3 reseptör
Mg	Magnezyum
mRNA	Mesajcı RNA
MST	Morris su tankı
NPY	Nöropeptid Y
PC1	Proprotein dönüştürücü 1
PKOS	Polikistik over sendromu
POMC	Prpopiomelanokortin
PSCK1	Proproteinconvertase 1
PWS	Prader-Willi sendromu
ROR	Reaktif oksijen radikali
qRT-PCR	Quantatif gerçek zamanlı polimer zincir reaksiyonu
TCA	Trikarboksilik asit
UCP1	Uncoupling protein 1
UCP2	Uncoupling protein 2
UCP3	Uncoupling protein 3
VKİ	Vücut kitle indeksi
mm	milimetre
sn	saniye
rpm	revolution per minute

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1: Vücut kütle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması.....	5
Tablo 2.2: İnsanda tek genli obeziteyle ilişkili genler.....	8
Tablo 2.3: Geniş çaplı genom analizi ilişkilendirme çalışmalarında VKİ ile önemli derecede ilişkili bazı tek nükleotit polimorfizmleri.....	11
Tablo 2.4: Pankreasta insülin ve glukagonun düzenlenmesi.....	13
Tablo 3.1: Deney hayvanlarının öğrenme denemeleri süresince Morris su tankına bırakıldıkları noktalar.....	28
Tablo 3.2: Genomic DNA eliminasyon karışımı.....	31
Tablo 3.3: Reverse Transkripsiyon karışımı için kullanılan bileşenlerin oranları.....	32
Tablo 3.4: qRT-PCR için kullanılan bileşenlerin oranları.....	33
Tablo 0.5: qRT-PCR Tepkime Koşulları.....	33
Tablo 4.1: Obez grubu deney hayvanlarının 8.hafta sonundaki Lee indeks grafiği	36
Tablo 4.2: Kontrol grubu deney hayvanlarının 8.hafta sonundaki Lee indeks grafiği...	36
Tablo 4.3: Kaçış platformunu bulma süreleri ve standart sapmaları.....	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Obezite genetiği.....	7
Şekil 2.2: Tek genli ve çok genli obeziteye neden olan genler arasındaki etkileşim...10	
Şekil 2.3: Pankreas ve pankreas Langerhans adacık hücreleri.....12	
Şekil 2.4: Mitokondrinin biyokimyasal anatomisi.....14	
Şekil 2.5: Kemiosmotik model.....15	
Şekil 2.6: UCP'lerin üçlü tekrardan oluşmuş yapısının şematik gösterimi.....16	
Şekil 2.7: Mitokondriyal enerji düzenlenmesi ve UCP'lerin rolü.....17	
Şekil 2.8: UCP2 kromozomal lokasyonu gösterimi.....18	
Şekil 2.9: Eşleşme bozucu proteinlerin ATP sentezini önlemek için mitokondride elektron taşıma zincirinden eşlenmemiş elektron taşınması ve insülin salınımı ile olan ilişkisi.....19	
Şekil 2.10: Nöronal eşleşme bozucu proteinlerin nöronal fonksiyonlara olası etkilerini gösteren mekanizma.....21	
Şekil 2.11: Bellek türleri ve ilgili beyin bölgeleri.....23	
Şekil 2.12: Büyük beyin sistemlerinin bileşenlerini gösteren insan beyninin çizimi...24	
Şekil 2.13: Morris su tankında öğrenmenin ilk günleri katedilen yol.....25	
Şekil 2.14: Morris su tankında öğrenme gerçekleştikten sonra katledilen yol.....25	
Şekil 3.1: Morris su tankı deney düzeneği.....29	
Şekil 4.1: Kontrol ve Obez gruplarının kilo alımı takip grafiği (gram olarak).....35	

Şekil 4.2 : Açlık kan glukoz seviyesi deney başlangıcında 1.ölçüm.....	37
Şekil 4.3 : Açlık kan glukoz seviyesi 16.haftanın sonunda 2.ölçüm.....	37
Şekil 4.4:Deney ve kontrol gruplarının kaçış platformunu bulma sürelerinin karşılaştırma grafiği.....	38
Şekil 4.5: Qiagen data analiz veri tabanı ile Pankreas dokusunda Ucp2 ve Gapdh genlerinin ifade analizlerinin özet tablosu ve p değeri.....	41
Şekil 4.6:Pankreas dokusunda Ucp2 gen ifadesinin kontrol ve obez deney gruplarındaki katlı oran değişiminin grafiksel olarak gösterimi.....	41
Şekil 4.7: Qiagen data analiz veri tabanı ile hipokampus dokusunda Ucp2 ve Gapdh genlerinin ifade analizlerinin özet tablosu ve p değeri.....	42
Şekil 4.8: Hipokampus dokusunda Ucp2 gen ifadesinin kontrol ve obez deney gruplarındaki katlı oran değişiminin grafiksel olarak gösterimi.....	42

RESİM LİSTESİ

Resim 4.1: Morris su tankı esnasında kontrol grubu hayvanlarının izlediği yolun ısı haritası.....	39
Resim 4.2: Morris su tankı esnasında obez grubu hayvanlarının izlediği yolun ısı haritası.....	40



ÖZET

OBEZ SIÇAN MODELİNDE PANKREAS VE HİPOKAMPUS DOKULARINDA UCP2 GEN ANALİZİ

Zeynep ULUKÜTÜK

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Tez danışmanı: Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI
Haziran 2018, 60 sayfa

Obezite, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet gibi birçok kompleks hastalık ile ilişkili bir risk faktörüdür. Bu nedenle obeziteye neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılması önemlidir. Kan glikoz seviyesinin düzenlenmesi ve enerji metabolizmasında etkili olan pankreas, diyabet ve obezite gelişiminde önemli bir organdır. Pankreastaki UCP2, insülin ve glukagon salınımını düzenlerken, hipokampustaki UCP2, nöronal yenilenmede rol oynayarak öğrenme süreçlerine etki etmektedir. Bu çalışmada obez siçan modelinde hipokampus ve pankreas dokularında Ucp2 gen ifadesi ile öğrenme arasındaki olası ilişkiler araştırıldı. Bu amaçla planlanmış olan çalışmada Wistar albino yetişkin erkek siçanlarda deneysel obezite modeli oluşturuldu. Deneysel 8 obez, 8 kontrol olmak üzere 16 adet hayvan kullanıldı. Gruplara öğrenme testi uygulandıktan sonra hipokampus ve pankreas dokuları disektse edildi. Gerçek zamanlı kantitatif RT-PCR yöntemi kullanılarak dokularda Ucp2 gen ifade düzeyleri belirlendi. İstatistiksel analizde gen ifade düzeylerinin karşılaştırılması Qiagen veri analizi programı ile, öğrenme verilerinin değerlendirilmesi ise student-T testi ile yapıldı. İstatistiksel analizler sonucunda; hipokampus dokusunda Ucp2 gen ifade düzeyinin obez grupta kontrol grubuna göre arttığı ve istatistiksel olarak sınırda anlamlı olduğu ($p=0,05$), pankreasta ise gruplar arasında fark olmadığı ($p=0,94$) sonucuna varıldı. Öğrenme performansları karşılaştırıldığında ise obez grupta öğrenme performansının kontrole kıyasla daha düşük olduğu saptandı ($p=0,001$). Sonuç olarak obezitenin öğrenme performansını azalttığı bulundu. Ucp2 gen ifadesinin hipokampusta artmış olması ise obezitede nöronal sağ kalım için hücrelerin savunması olarak yorumlandı. Obezite ve öğrenme arasındaki ilişkinin moleküler düzeyde analizini amaçlamış olan bu araştırma sonuçları yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Hipokampus, Obezite, Öğrenme, Pankreas,UCP2

ABSTRACT

UCP2 GEN ANALYSIS IN PANCREAS AND HIPPOCAMPUS OF OBESE RAT MODEL

Zeynep ULUKÜTÜK

Master of Science Thesis, Department of Medical Biology

Supervisor: Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

June 2018-60 pages

Obesity is a risk factor associated with many complex diseases such as cardiovascular diseases, type 2 diabetes. It is important to elucidate the molecular mechanisms that cause obesity. Pancreas, which is effective in energy metabolism by affecting blood glucose level, is an important in diabetes and obesity. UCP2 in the pancreas regulates the release of insulin and glucagon. UCP2 in the hippocampus affects learning processes by playing a role in neuronal regeneration. In this study, possible relationships between learning and Ucp2 gene expression in hippocampus and pancreas were analyzed in obese rats. An experimental obesity model was established in Wistar albino adult male rats. In the experiments, 16 animals, 8 obese and 8 controls were used. Hippocampal and pancreatic tissues were dissected. Ucp2 gene expression level was determined in tissues using RT-quantitative-PCR method. Qiagen data analysis was used for the comparison of gene expression levels. The evaluation of the learning data was done by the student-T test. The level of Ucp2 gene expression in the hippocampus was increased in the obese group compared to the control group and statistically significant at the border ($p=0,05$), not different in the pancreas ($p=0,94$). When the learning performance were compared, it was found that lower in the obeses than the controls ($p=0.001$). Obesity was found to reduce learning performance. The increased expression of the Ucp2 gene in the hippocampus was interpreted as a defense of cells for neuronal survival in obesity. Our results will contribute to the researches to be done in this regard

Key Words: Hippocampus, Learning, Obesity, UCP2, Pancreas

1 GİRİŞ ve AMAÇ

Dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı hızla artan önemli sağlık sorunlarından biri olan obezitenin, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, metabolik sendrom, bazı kanserler ve obstrüktif uyku apnesi sendromu gibi birçok ciddi hastalığa neden olduğu bilinmektedir (1,2). Obezitenin sıklığı her geçen gün artarken, obezite ile beraber görülen hastalıkların da sıklığının artmasına neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre fazla kiloluluk ve obezite, Avrupa'daki yetişkinlerde tip 2 diyabet vakalarının %80' inden sorumludur (3). Tip 2 diyabet riski obezitenin süresi, derecesi ve bel çevresiyle ilişkili obezite varlığı ile artmaktadır (4). Son yıllarda obeziteye yol açan ve onunla ilgili hastalıkların oluşmasına sebep olan moleküler mekanizmalar üzerinde çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

UCP2 proteini tip 2 diyabette rol alan bir moleküldür, pankreas dokusunda baskın olarak sentezlenir, insülin ve glukagon salınımını düzenleyici rolü bulunmaktadır (5). Ayrıca UCP2 beyin öğrenme merkezi olan hipokampusta da baskın olarak sentezlenmektedir (6).

Obeziteye eşlik eden sağlık sorunlarına ek olarak, obezite daha zayıf biliş ve motor kontrol ile ilişkilendirilmiş, beyin plastitesinin değişmesine yol açabileceği düşünülmektedir (7). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar obezite ile bilişsel fonksiyonlardan öğrenme güçlüğü arasında ilişki olduğuna dair araştırmalar mevcuttur (8). Obezitede bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya aracı olan olası mekanizmalar; dislipidemi, insülin direnci ve merkezi sinir sistemi seviyesinde ise; kan beyin bariyerinin bozulması, pro-inflamatuar sitokinlerin artmasından kaynaklanan merkezi inflamasyon ve zar akışkanlığının bozulması olduğu düşünülmektedir (9).

Bu araştırmada obezitenin öğrenme performansı üzerindeki etkisi ve Ucp2 proteininin bu süreçlerdeki olası rolünün araştırılması amaçlandı. Bu amaçla obez ve sağlıklı kontrol grubuna öğrenme testi uygulandı ve bu hayvanlardan alınan pankreas ve hipokampus doku örneklerinde Ucp2 gen ifade düzeyleri saptandı. Ucp2 gen ifade düzeyi ve öğrenme sürecindeki değişimler arasındaki olası ilişki analiz edildi. Obezitede Ucp2 ve bilişsel fonksiyonlar arasındaki olası ilişkilerin ortaya konulması ile obeziteye neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılması ve daha etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamak amaçlandı.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Obezite

2.1.1 Obezite Nedir?

Obezite, vücutta aşırı yağ birikimiyle karakterize edilen ve tek bir hastalık grubundan ziyade birçok hastalığın beraber görüldüğü, vücut ağırlığı düzenleyici sistemlerin bozulduğu bir hastalıktır (10,11,12). İlkel toplumlarda günlük hayat yüksek düzeyde fiziksel hareketlilik gerektiriyordu ve besin kaynaklarına ulaşım imkânları kısıtlıydı. Bu yüzden alınan kaloringin fazlasının yağ olarak depolanmasını sağlayan genetik eğilim, hayatta kalmak için önemlidir. Ancak günümüzde sanayileşmiş toplum hayatı, yerleşik yaşam tarzı, besin kaynaklarına ulaşmada bolluk, çok çeşitli lezzetli ve ucuz gıdalar şüphesiz obezitenin artışına sebep olmuştur (10).

2.1.2 Obezitenin Tanısı

Vücut yağının miktarını direkt olarak ölçmek zordur ve genellikle çoğu bireyde vücut yağ miktarı ile ilişki göstermesi sebebiyle, yağ oranı dolaylı bir ölçüt olan vücut kitle indeksi (VKİ) ile belirlenir (Tablo 2.1)(10). VKİ, klinikte vücut yağının değerlendirilmesi için pratik bir yaklaşım olarak önerilir (13). Bununla birlikte, VKİ'nin bazı sınırlamaları vardır. Örneğin VKİ, çok kaslı kişilerde (sporcular vb.) vücut yağının gerçek miktardan çok daha fazla tahmin ederken, kas ağırlığında kayıp olan kişilerde; örneğin, yaşlı kişilerde vücut yağının doğru tespit edilmemektedir. (4). Obezite ile beraber görülen rahatsızlıklardan insülin direnci, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi gibi durumlar vücut yağının yüksek olmasından ziyade vücudun orta bölgesinde karın içi organ çevresindeki yağ miktarı ile bağlantılıdır (12). Bireylerde yağ birikimi obezite süreçlerinde derialtı dokularda, obezitenin ilerleyen evrelerinde ise kas, karaciğer ve pankreasta yağ birikimi görülmektedir (14). Fiziksel olarak vücudun orta bölgesinde görülebilir düzeydeki yağ oranını belirleme; bel /kalça çevresinin oranının belirlenmesi, iki enerjili x ray ışınlarının emilimi taraması ve bilgisayarlı tomografinin kullanılmasıyla daha kesin olarak belirlenebilmektedir (12).

Bel / kalça oranı (BKO) yüksek görüldüğü obezite tipi santral obezite olarak adlandırılır (15). DSÖ'üne göre bel çevresi kadınlarda 88 cm ve üzerinde, erkeklerde 102 cm ve üzerinde ise santral obezite olarak kabul edilmektedir (15).

Tablo 2.1: Vücut kütle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması (16).

Obezitenin Sınıflandırılması		VKİ(KG/M ²)
Zayıf	-	< 18.5
Normal	-	18.5-24.9
Fazla Kilolu	-	25-29.9
Obez	SINIF I	30-34.9
	SINIF II	35-40
Aşırı Obez	SINIF III	>40

Sıçanlarda Obezite Tanısı ve Lee İndeksi

1928 yılında Lee tarafından sıçanlarda obezitenin kolay bir şekilde belirlenebilmesi için bir indeks tarif edilmiştir. Bu indeks, vücut ağırlığının (g) küp kökünün vücut uzunluğuna (cm) bölünmesi ve sonucun 1000 ile bölmesiyle hesaplanmıştır. Bu denklem aşağıda gösterilmiştir. 0.3' ün altındaki sonuçlar normal kabul edilmektedir (14). Bu değer ve üstündeki değerlere sahip hayvanlar obez olarak nitelendirilmektedir.

$$\text{Lee İndeksi} = \frac{\sqrt[3]{\text{kütle}(m)/\text{vücut uzunluğu}(x)}}{1000}$$

Biyoelektrik alternatif akım direnci kullanılarak yapılan deneyler; vücut kitle indeksi, Lee indeksi ve karın çevresi gibi antropometrik parametrelerin sıçanlarda vücut kompozisyonunu belirleyebilmek için kullanabileceğini göstermiştir (14). Yağ kütlesi ve Lee indeksi birbiriyle ilişkilendirilmektedir (17).

2.1.3 Obezitenin Nedenleri

Hızla artan obezitenin sebeplerini belirlemek güç olmasına rağmen temel nedenler, karbonhidrat bakımından zengin yiyecekler, doymuş yağlar, enerji tüketimi azalırken alımının artması ve fiziksel aktivitenin azalmasıdır. Ayrıca sosyal yaşamdaki ekonomik kalkınma, modernleşme ve şehirleşme gibi etkenler de toplumsal boyutta obezite artışına neden olmaktadır (14).

Obeziteye neden olan durumlar;

- **Dengesiz beslenme**
- **Yetersiz fiziksel aktivite**
- **Bazı endokrin hastalıklar:**
 - ✓ Metabolik sendrom
 - ✓ Diyabet
 - ✓ Düşük tiroid hormonu seyri
 - ✓ Polikistik over sendromu (PKOS)
 - ✓ Cushing sendromu
 - ✓ Büyüme hormonu yetmezliği
 - ✓ Cinsiyet hormonlarında seks hormon azlığı
 - ✓ Genetik faktörler (18).

- **İlaçlar:**

Metabolizmanın düzenlenme mekanizmalarını bozan ilaçlar. Örneğin; antipsikotikler, glukokortikoidler, anabolizan steroidler (18).

- **Psikolojik bozukluklar**

- **Nörojenik bozukluklar**

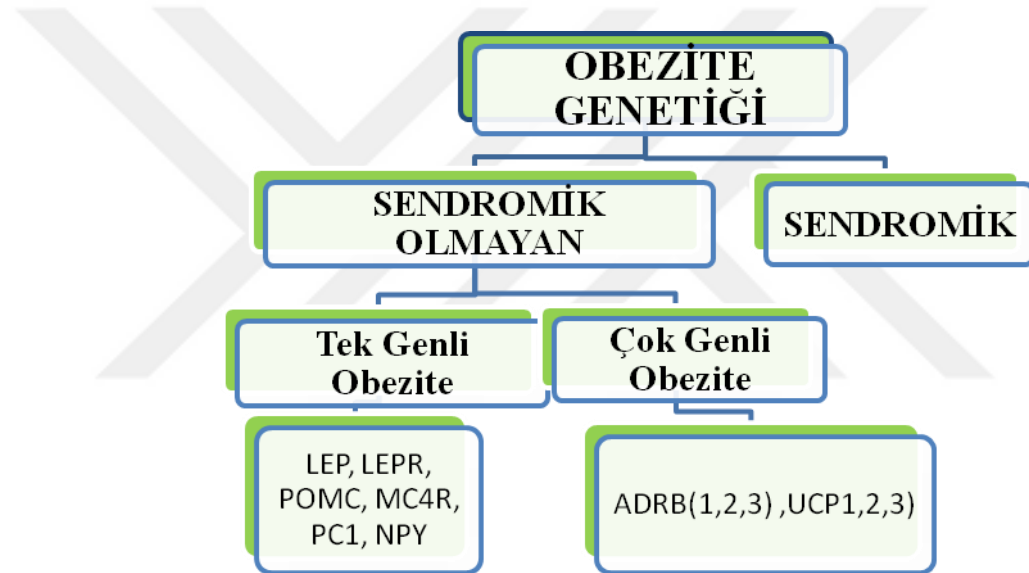
Besin metabolizması beyin sapındaki merkezler tarafından kontrol edilmektedir (19). Özellikle iştahı etkileyen merkezlerden biri ise hipokampus ile yakından ilişkili olan amigdala ve prefrontal korteksdir. Amigdaladaki bazı bölgelerin kaybı beslenmenin artıp azalmasına yol açabilmektedir (20).

2.1.4 Obezite Genetiği

Obezite çeşitli genetik ve genetik olmayan risk faktörlerinin sebep multifaktöriyel bir hastalıktır (21). 1940'lardan 1970'lere kadar obezite oluşum süreçlerinde psikolojik ve psikodinamik yönlerin en önemli rolü oynadığı düşünülmekteydi (21,22).

Obezitede genetiğin rolünün olduğunu destekleyen en önemli bulgular; tek yumurta (monozigotik) ikizlerinde vücut kitle indeksi ile yapılan çalışmalarda, teknolojinin gelişmesi ve genetik haritalama çalışmalarının ilerlemesiyle sağlanmıştır (23). Moleküler genetik araştırmalar, son genom teknolojilerini kullanarak vücut ağırlığının düzenlenmesini etkileyen yaygın DNA varyantlarının tanımlanmasına odaklanmaktadır (21).

Obezite, genetik ilişkisine göre; sendromik, tek genli ve çok genli obezite olarak üç sınıfa ayrılmıştır (Şekil 2.1)(23). Obezite de genetik etkinin kişiler arası değişim göz önüne alındığında % 40-70 civarında olduğu tahmin edilmektedir (24). Günümüzde obeziteden sorumlu olabileceği tahmin edilen genlerin aday gen olup olmadığına dair bağlantı analizi/ilişkilendirme gibi doğrulama çalışmaları sürdürülmektedir (25).



Şekil 2.1:Obezite genetiği (26).

2.1.4.1 Sendromik Obezite

Sendromik obezite, farklı genetik ya da kromozomal bozukluklar (otozomal ya da X'e bağlı) sebebiyle meydana gelmektedir (27). Mendel kalıtımıyla kalıtılan ve sendromik obezite olarak tanımlanan 20-30 adet hastalıkların, klinikte obezite olarak kabul edildiği ancak yanı sıra zekâ geriliği, dismorfik özellikler ve organlara özel gelişim bozuklukları gibi ek normal olmayan durumlar gösterdiği bilinmektedir (28,29).

Yirmibeşin üzerinde sendromik obezite tespit edilmiştir (30). En iyi bilinen sendromik obezite ise; Prader-Willi sendromu (PWS), Bardet-Biedl sendromu (BBS) ve Alström sendromudur (27).

2.1.4.2 Tek Genli Obezite

Tek genli obezite, tek bir gen veya kromozomal bölgedeki mutasyonlardan kaynaklanan nadir görülen bozukluklardır (31,32). Tipik olarak erken yaşlarda ortaya çıkar (çoğunlukla 10 yaşından önce) ve obezite ile karakterizedir (31,32,33). Bu tip obezitede enerjinin alınması, harcanması (enerji dengesi) ve adipogenez gibi vücut ağırlığının düzenlenmesi ve korunması yollarında faaliyet gösteren genler önemli bir yere sahiptir.

Leptin, leptin reseptörü, proopiomelanokortin (POMC), Melanokortin 4 reseptör(MC4R), proprotein dönüştürücü 1(PC1) eksikliği olan bireylerin klinik özellikleri sıklıkla tek genli obezite fenotipi ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 2.2)(34).

Tablo 2.2: İnsanda tek genli obeziteyle ilişkili genler (32).

Gen	Kodlandığı Protein	Fonksiyonu	Lokalizasyonu
LEP	Leptin	Tokluk hissi oluşturan hormon	7q31.1
LEPR	Leptin Reseptörü	Leptin için reseptör	1p31
MC4R	Melanokortin 4 reseptör	α -MSH için reseptör	18q22
POMC	Pro-opiomelanokortin	İştah kesici peptid	2p23.3
PCSK1	Proprotein Konvertaz 1	POMC'in α -MSH'a dönüşümü ile ilişkili enzim	5q15-21

Leptin 167 aminoasitlik başlıca adipositlerden ifade edilen ve sitokin benzeri peptid olan bir adipokindir ve beyine ulaştığında hipotalamustaki reseptörlerine bağlanarak iştahı keser (35,26). Leptin hormonun enerji alımını ve yağ metabolizmasını düzenlediği düşünülmektedir (26). Leptin eksikliği görülen kişilerde leptin tedavisinin vücut ağırlığı ve iştah üzerine önemli etkileri görülmüştür (36). LEPR geni leptin reseptörlerini kodlar ve bu reseptör bozukluğunda, leptin eksikliğine benzer fenotip görülür, leptinin uyarı iletici işlevi bozulur (26).

POMC α , β , γ MSH ve ACTH üreten MC3R ve MC4R ile kontrol edilen iştahı önleyici bir gen dir (37). Doğuştan obez olan çocuklarda POMC ve ACTH kusuru adrenal korteks eksiklikliği ile ilişkilendirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda POMC ve ACTH gen mutasyonu bakımından heterozigot veya homozigot olan çocuklarda hafif derecede hipotiroidizm, zencefil ve kızıl saç gibi bazı genetik bulgular olduğu saptanmıştır (38,39).

PC1 ise POMC geninin translyasyon sonrasında işlenmesinde yardımcı olur (34). Beyinde, enteroendokrin hücrelerde ve nöroendokrin sistemde ifade edilir ve Protein Dönüştürücü Subtilisin / Keksin Tip 1 (PCSK1) geni tarafından kodlanır (40). Bu gende meydana gelen mutasyon, yemek sonrası hipoglisemiye, hipokortizolemi, düşük oranda bağırsak fonksiyon bozukluklarına ve ciddi erken başlangıçlı obeziteye sebep olur (32). Nöropeptid Y (NPY) , hipotalamik olarak enerji dengesinin kontrolünde önemli işlevleri olan bir iştah uyarıcı nörotransmitterdir (34). NPY açlık veya hipoglisemi durumlarında arcuat hipotalamik çekirdekten salınır ve gıda alınımı salınmasını baskılar (32).

NPY genindeki Leu7pro polimorfizmi lipit metabolizmasının düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir (41).

MC3R geni tek ekzona sahiptir ve 20q13.2-q13.3 kromozom bölgesinde bulunur (42). Esas olarak hipotalamus, beyin, plasenta, mide, duodenum, pankreas böbrek ve makrofajlarda ifade edilir (42,34). İnsan bağlantı ve polimorfizm çalışmaları MC3R geninin enerji dengesinde (homeostazda) önemli rol oynadığını göstermiştir (34).

MC4R melanokortin yolağındaki en önemli MCR' lerden biridir (43). MC4R'deki nadir fonksiyonel mutasyonlar, şiddetli erken dönem tek genli obezitenin en yaygın nedenidir (44). Özellikle genom boyu ilişkilendirme çalışmaları bu genlerde bulunan tek nükleotit polimorfizmlerinin ciddi erken yaşta görülen obezite ile ilişkili olduğunu göstermiştir (34,45).

Obezitenin bu tek etkenli örneklerine neden olan gen mutasyonları, vücut ağırlığının düzenleme yolağını içermekte olup tedavi amaçlı ilaç geliştirilmesinde yeni hedefler ortaya çıkarmıştır (25).

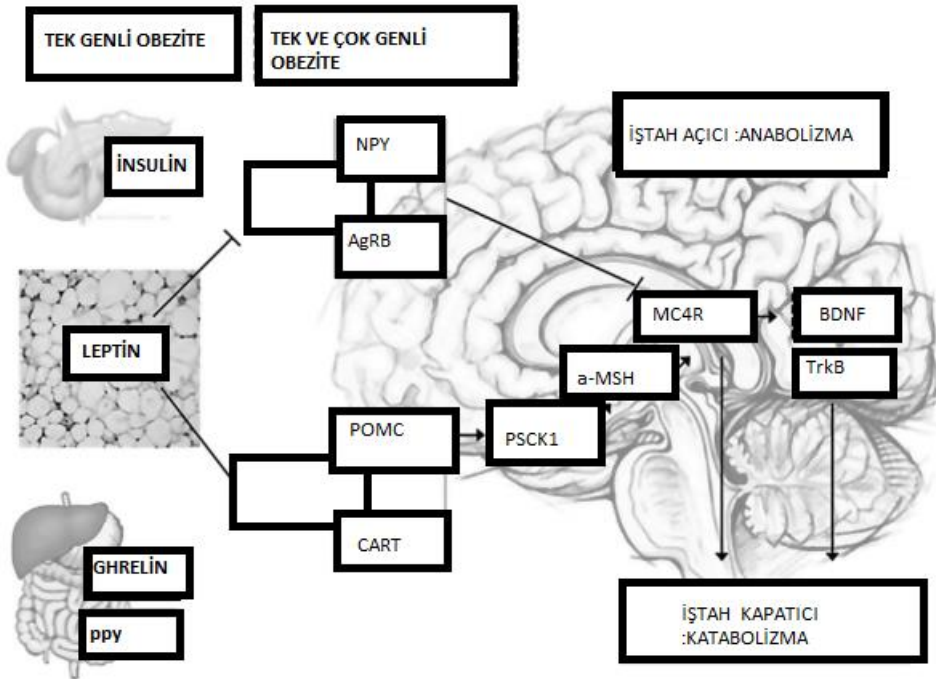
2.1.4.3 Çok Genli Obezite

Çok genli obezite genlerinin araştırılmasında, başlıca iki farklı yaklaşım uygulanmıştır. Birincisi, biyolojik rollerinin temelinde obezitede rolü olabileceği düşünölen aday gen çalışmaları, diğeri ise bağlantı (linkage) analizleri ile yapılan tüm genom taramalarıdır (46). UCP2 ve UCP3 obezite aday genlerindedir (34).

UCP2 gen varyasyonlarındaki; promoter bölgesinde 2866/A mutasyonu, 8.ekzonun translasyon olmayan bölgede 45 baz çifti insersiyon /delesyon ve 4.ekzonda Ala55Val değişimi obezite ile ilişkilendirilmiştir (47).

Çok genli obezite de regresyon analizleriyle 22 adet aday gen belirlenmiştir (25). Prohormonkonvertaz 1/3 (PCSK1), beyinden salınan nörotrofik faktör (BDNF) ve β -adrenerjik reseptör 3 (ADRB3) genleri içindeki varyantların obezite ile ilişkili olabileceğine dair kanıtlar ortaya konulmuştur (Tablo 2.3)(24). Örneğin; MC4R en yaygın obezite genlerinden biridir ve obezite olgularının % 1-4'ünü içerir (25).

Bugün obeziteye yol açan genetik eğilimin, gıda alımını ve termogenezi belirleyen santral sinir sistemi mekanizmalarındaki veya bunları düzenleyen, yağ dokusundan beyine ulaşan sinyallerdeki bozukluklar olduğu görüşü kabul görmektedir (Şekil 2.2) (48). Obeziteden sorumlu olabileceği öngörülen genlerin aday gen olup olmadığına dair bağlantı analizi/ilişkilendirme gibi doğrulama çalışmaları ise hala sürdürülmektedir (25).



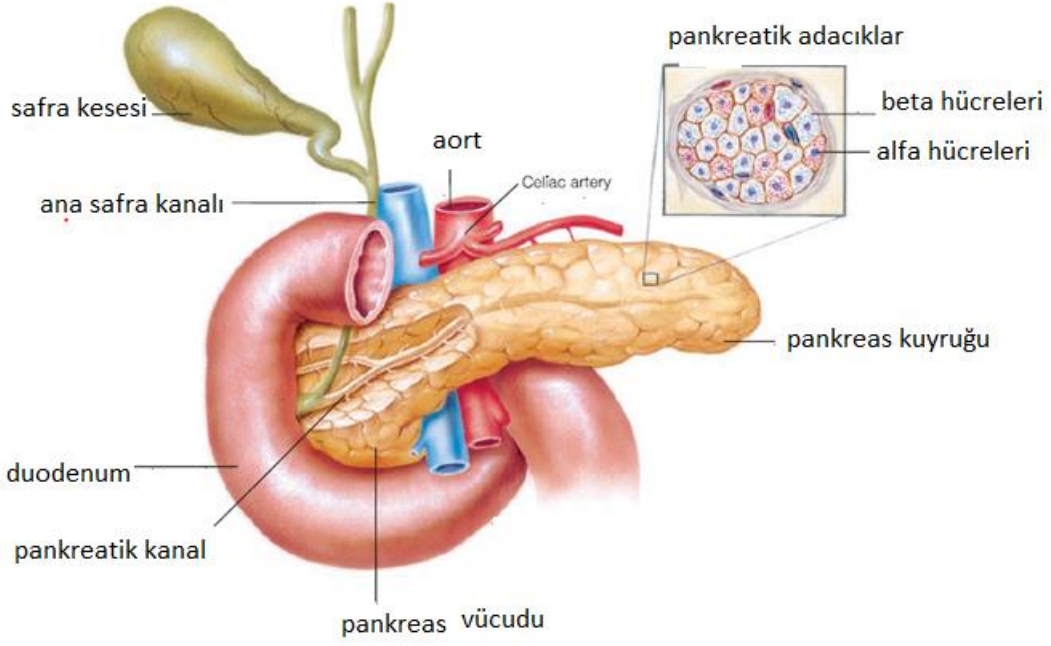
Şekil 2.2: Tek genli ve çok genli obeziteye neden olan genler arasındaki etkileşim (32).

Tablo 2.3: Geniş çaplı genom analizi ilişkilendirme çalışmalarında VKİ ile önemli derecede ilişkili bazı tek nükleotit polimorfizmler (32).

Gen İlişkili SNP	Kromozom Yerleşimi	SNP	Alel Sıklığı(%)	Belirlenen alelvaryansı(%)	Her bir ek risk aleli için BMI'deki artış
FTO	16q12.2	rs1558902	42	0.34	0.39
TMEM18	2p25.3	rs286 7125	83	0.15	0.31
MCR4R40	18q21.32	rs571312	24	0.10	0.23
GNPDA2	4p.12	rs10938397	43	0.08	0.18
BDNF	11p14.1	rs10767664	78	0.07	0.19
SEC16B	1q25.2	rs543874	19	0.07	0.22
RBJ	2p23.3	Rs713586	47	0.06	0.14
SH2B1	16p11.2	Rs7359397	40	0.05	0.15
NEGR1	1p31.1	rs2815752	61	0.04	0.13

2.2 Pankreas

Pankreas hem bir endokrin hem de ekzokrin bezdir (49). Pankreasın endokrin fonksiyonu Langerhans adacıkları aracılığı ile yürütülür (50). Langerhans adacıkları yuvarlak, 76×175 µm büyüklüğünde hücre topluluğudur (51). Adacıklar pankreas boyunca dağılım göstermesine rağmen, pankreasın kuyruk bölgesinde vücut ve başa göre daha fazla bulunur (Şekil 2.3)(51).



Şekil 2.3:Pankreas ve Langerhans adacık hücreleri (49).

Adacık hücreleri boyanma ve morfolojik özelliklerine göre farklı gruplara ayrılmıştır (51). İnsanlarda en az dört ayrı hormon salgılayan adacık hücre tipi vardır (52). A, B, D ve F hücreleri (52). A, B ve D hücreleri α , β , δ olarak da adlandırılır (51). İnsülin ve glukagon bu adacık hücrelerinden salgılan iki hormondur. Langerhans adacıklarında alfa hücrelerinden glukagon, beta hücrelerinden insülin salınır. Pankreas beta hücreleri, kan glikozu homeostazı bakımından önemlidir (53). İnsülin kan glikozunun düşürülmesi, enerjinin glikojen ve yağ formunda depolanmasını sağlarken, glukagon kan glikozunu artıran tersi etkilere sahiptir (Tablo 2.4) (51)(49).

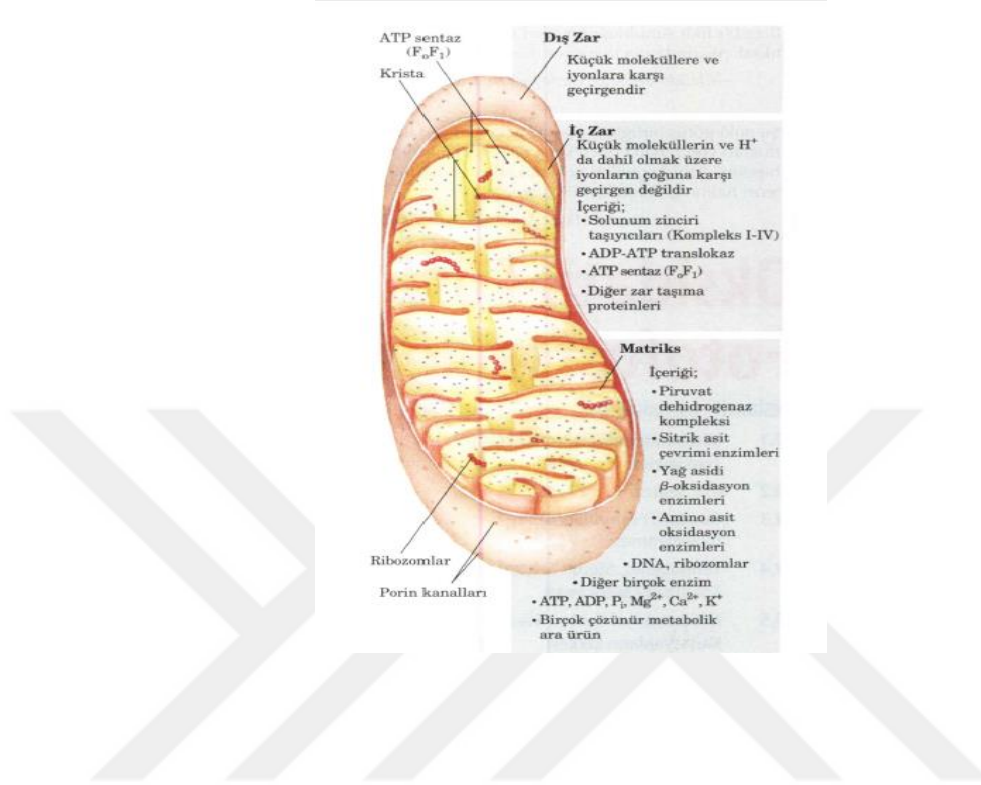
Tablo 2.4:Pankreasta insülin ve glukagonun düzenlenmesi (52).

Hormon ve Kaynağı	Salgılarının kontrolü
Glukagon pankreatik adacıkların alfa hücrelerinden salgılanır.	Düşük kan glikoz seviyesi, egzersiz, protein ağırlıklı öğünler, somatostatin ve insülin baskılayıcı salgılar
	
İnsülin pankreatik adacıkların beta hücrelerinden salgılanır.	Yüksek kan glikoz seviyesi asetilkolin, arjinin ve lösin, glukagon, somatostatin baskılayıcı salgılar, ACTH uyarılı salgılar
	

2.3 Eşleşme Bozucu Proteinler (Uncoupling Proteinler)

2.3.1 Mitokondri

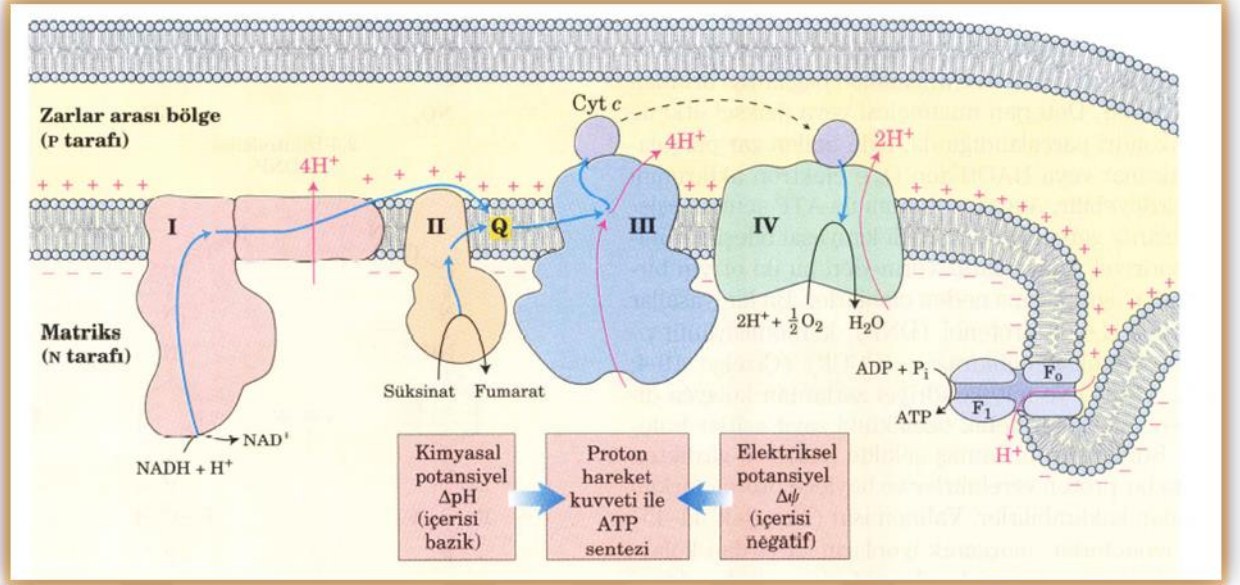
Mitokondri; oksidatif fosforilasyon, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü, yağ asitlerinin oksidasyonu, demir sülfür merkezinin ve demir (hem grubu) moleküllerinin biyosentezi ve aminoasit metabolizması gibi insan metabolizmasının temel işlevlerinin yerine getirildiği hücre içi merkezdir (54,55). Ayrıca mitokondriler programlı (apoptotik) hücre ölümü (apoptoz) için hayati bir organel olup hücredeki kalsiyum akışlarını düzenlemektedir (Şekil 2.4) (55,56). Hücre solunumu, mitokondrilerde meydana gelen; şekerler, yağlar ve diğer besinlerden oksijen yardımıyla ATP üreten bir yıkım sürecidir (57).



Şekil 2.4: Mitokondrinin biyokimyasal anatomisi (35).

Mitokondrilerde, biyokimyasal bileşiklerin oksidasyonu ile ATP sentez sürecinde elektronlar ve protonlar ayrı tutulur (58). Mitokondri iç zarı yoluyla elektronlar elektron taşıma sistemi üzerinden zarlar arası bölgeye geçer.

Kemiosmotik hipoteze göre; zar boyunca gerçekleşen elektron ve proton akımı sonucunda hem kimyasal fark, hem de elektriksel fark oluşur. İç mitokondri zarı protonlara karşı geçirgen değildir. Protonlar sadece protonlara özgü kanallardan (F₀) geçerek matrikse geri dönebilirler. Protonları matrikse geri döndüren proton hareket kuvveti de ATP sentezi için gerekli enerjiyi sağlar (Şekil 2.5) (35).



Şekil 2.5: Kemiosmotik model (35).

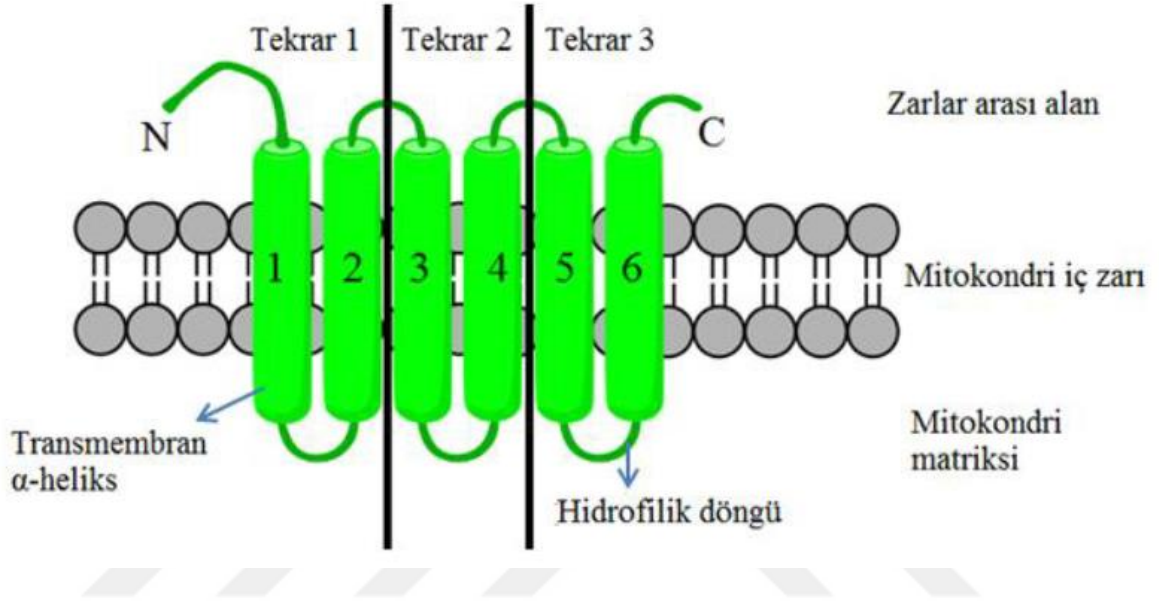
2.3.2 Mitokondriyal Anyon Taşıyıcı Ailesi ve Eşleşme Bozucu Proteinler

Hücrelerin işlevlerini sağlıklı bir şekilde yerine getirebilmesi için hücre içi ürünlerin doğru bir şekilde hücrelerin alt bölümlerindeki organellere dağıtılması önemlidir. Bunun için hücreler sayısız kanallara ve taşıyıcılara sahiptir. Genellikle bu kanallar doğru katlanmış ve asıl işlevini yerine getirebileceği hücre bölümlerine yönlendirilmiş proteinlerden oluşur (59). Hücrelerin enerji merkezi olan mitokondrilerde sayısız kanallar ve taşıyıcı proteinler bulunmaktadır.

Mitokondriyal taşıyıcılar, taşıdıkları ürünlerin özelliklerine, büyüklüğüne, taşınma durumlarına ve itici güçlerine göre oldukça değişiklik göstermektedir (60).

Mitokondriyal iç zar taşıyıcıları arasında eşleşme bozucu proteinlerin de alt ailesini içeren mitokondriyal anyon taşıyıcı protein (MACP) ailesi bulunmaktadır. Bu aile, uyarılabilir H^+ sızıntısıyla ilgili H^+ taşıyıcıları içerir. MACP ailesinden olan adenin nükleotid translokaz (ANT), eşleşme bozucu proteinler gibi H^+ sızıntısı meydana getirir ve metabolik ürünleri taşıyan proteinlerdir. Mitokondrilerde ATP biyosentezinde görev alan FOF1-ATP sentaz enerji tasarrufunu sağlarken, UCP ve ANT proteinleri ise enerji dağıtımını (örneğin; enerjinin ısı şekline dönüşümünü) desteklemektedir (61).

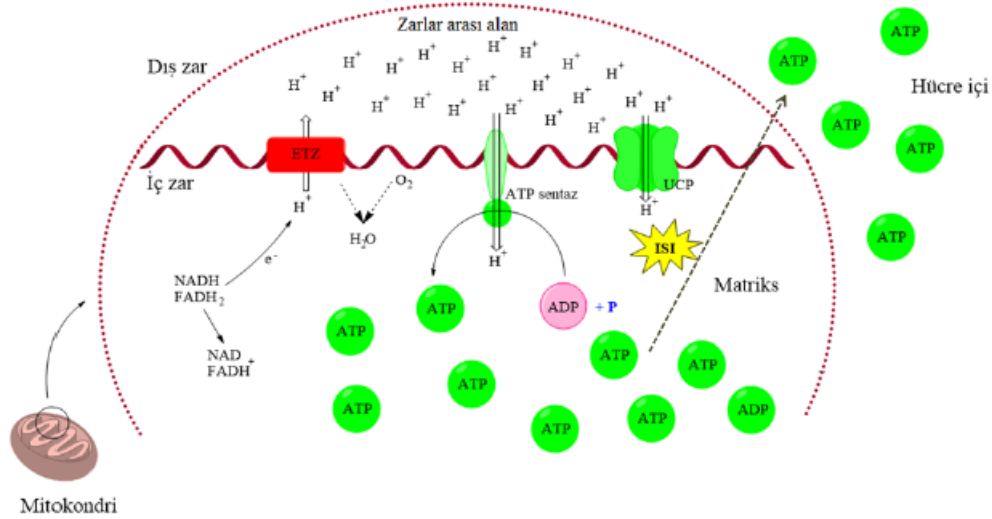
UCP süper ailesi yapısal ve işlevsel benzerlikleri olan integral zar proteinlerini içerir (62). UCP' ler her biri yaklaşık 100 aminoasitten oluşan üç tekrarlı bir yapıya sahiptir (63). Her bir tekrar transmembran α -heliksi oluşturan iki hidrofobik bölge içerir. Tekrarları oluşturan α -heliksler, mitokondrinin iç zarından matriks tarafına doğru yönlendirilmiş uzun bir hidrofilik döngü (ilmik) ile birbirine bağlanır (Şekil 2.6) (6,63).



Şekil 2.6: UCP'lerin üçlü tekrardan oluşmuş yapısının şematik gösterimi (6).

2.3.3 Eşleşme Bozucu Proteinler (UCP)

Eşleşme bozucu protein olarak adlandırılan mitokondriyal protein; proton sızıntısını ve dolayısıyla mitokondriyal reaktif oksijen radikalleri (ROR) üretimini düzenleyen, ısı oluşturmada ve kalori harcamada rol oynayan iç mitokondriyal zara gömülü taşıyıcı bir proteindir. UCP' ler, kemiosmotik hipoteze göre; ATP üretmek için zarlar arası bölgede oluşturulan proton elektrokimyasal gradyanının, ısı şeklinde dağılmasına izin verir (Şekil 2.7). Bu yolaktaki etkinliğinden dolayı vücut ısısı, ağırlığı ve glikoz metabolizmasını düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir (62).



Şekil 2.7: Mitokondriyal enerji düzenlenmesi ve UCP'lerin rolü (6).

Eşleşme Bozucu Proteinlerin Tipleri

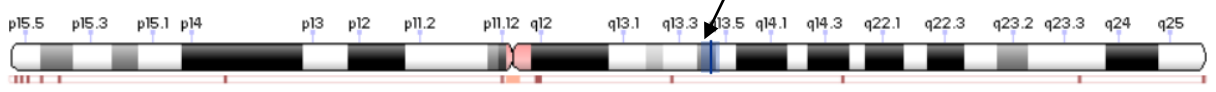
UCP'ler, insan nükleer genomunda 53 gen içeren taşıyıcılardan SLC25 ailesine aittir (64). UCP1, SLC25A7 olarak, UCP2, SLC25A8 olarak ve UCP3 de SLC25A9 olarak bilinmektedir (64). Bu proteinler mitokondriyal zarın fonksiyonunda ve hücrel enerji düzenlenmesinde rol almaktadır. Farklı vücut dokularında dağılım gösteren bu protein grubunun 5 üyesi vardır. Kahverengi yağ dokuya özgü UCP1, vücut sıcaklığının korunmasında (titremesiz termogenez) ve yağ dokusu içerisinde depolanmış enerjinin kullanılmasında görev alır (6). UCP2; başta dalak, pankreas adacık hücreleri, akciğer, mide, beyaz yağ doku, beyin ve periferel nöronların arka kök gangliyonları olmak üzere tüm vücutta ifade edilir (6,65).

UCP3 öncelikle iskelet kasında olmak üzere az miktarda sinir hücrelerinde tespit edilmiştir (6). Yapılan çalışmalar ile UCP4 ve UCP5'in (BMCP1; Beyin mitokondriyal taşıyıcı protein-1 olarak da bilinir) merkezi sinir sisteminde yüksek düzeyde bulunduğu, ayrıca UCP5'in testis dokusunda varlığı belirtilmiştir (6). Ayrıca bu proteinler, insanlardaki metabolik hastalıkların ve obezitenin patogeneziyle ilişkilendirilmiştir (65).

2.3.3.1 Eşleşme Bozucu Protein 2 (UCP2) ve İşlevleri

UCP2 geni insanlarda 11. kromozom q kolu 13.4 bölgesinde yerleşim göstermektedir (Şekil 2.8). Kromozomal düzeni 5'-UCP3-UCP2-3'tür ve UCP2'nin 8 ekzonu bulunmaktadır (66).

Bu genin bilinen diğer adları UCPH; BMIQ4; SLC25A8'dir (66).



Şekil 2.8: UCP2' nin kromozomal lokasyon gösterimi (66).

UCP2, mitokondriyal zar potansiyelini ve oksidatif fosforilasyon seviyesini azaltarak, mitokondriyal ATP üretimini düşürür (67,68). Ayrıca piruvatın trikarboksilik asit döngüsü için mitokondriye girişini engelleyerek mitokondriyal ürün (substrat) kullanımını düzenler (58,68,69).

2.3.3.2 Eşleşme Bozucu Protein 2 ve Oksidatif Hasardan Koruma

Mitokondriyal solunum zincirinin süperoksit üretimi, artan elektron akışı karşısında yetersiz kalan solunum komplekslerinden tek elektron kaçışından kaynaklanır (70). Mitokondriler, hem süperoksit radikallerin üretildiği ana kaynak hem de süper radikalle oluşturulan zararların ana hedef organelidir (71). Mitokondri, bu hasarları engellemek amacıyla antioksidan savunma mekanizmaları geliştirir (70).

Kahverengi yağ hücrelerinde, ATP üretimi ve enerji metabolizması, eşleşme bozucu protein UCP1'in varlığı ve aktivitesi ile düzenlenmektedir (72). Aralarındaki benzerliğe dayanılarak, ilk çalışmalarda UCP2 ve UCP3'ün düzenlenmiş ısı üretiminde rol oynayabilecekleri öne sürülmüştür (72,73). Daha sonraki çalışmalar ise bu kanının doğru olmadığını göstermiş (74) ve son çalışmalar mitokondrilerin reaktif oksijen radikallerinin (ROR) üretiminin azaltılmasında önemli olabileceğiyle ilgili kanıtlar ortaya koymuştur (75,76). Mitokondriyal ROR üretimi, mitokondriyal potansiyele bağlı olduğundan, eşleşme bozucu proteinler aracılığıyla zar potansiyelin düşürülmesi sonucu etkili bir şekilde azaltılabilir (72,76).

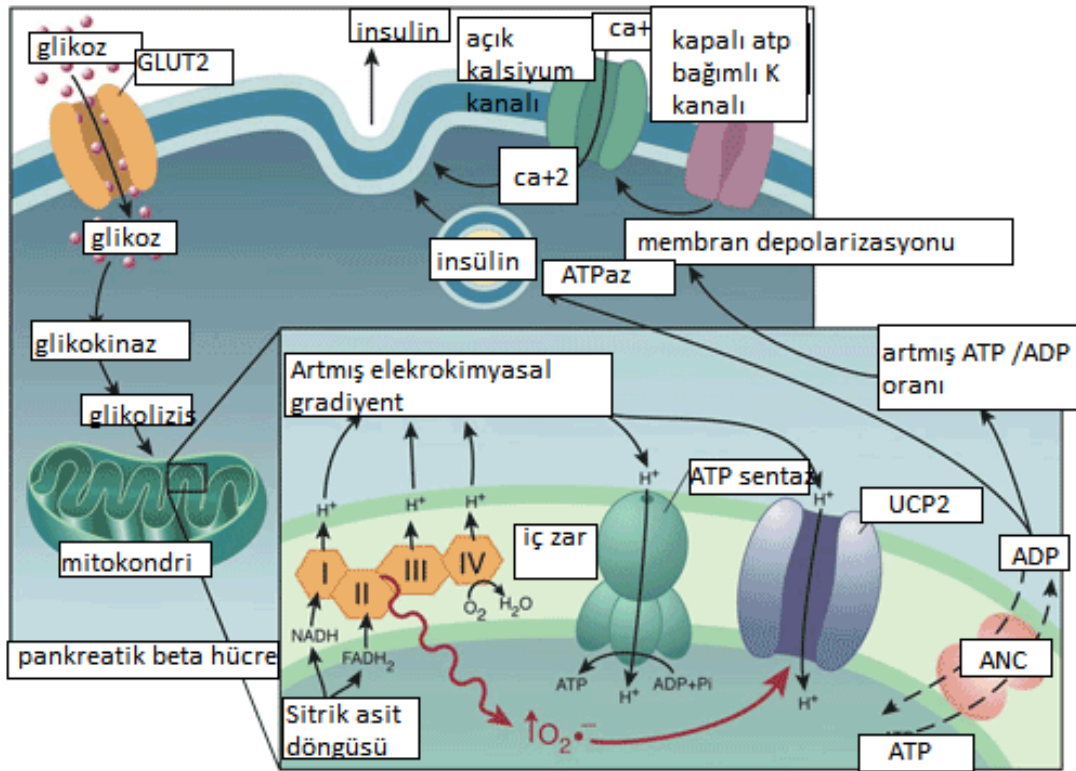
2.3.3.3 Eşleşme Bozucu Protein 2 ve İnsülin Salınımının Düzenlenmesi

Kandaki glikoz seviyesindeki denge, pankreas beta hücrelerinin mitokondriyal enerjisiyle oldukça sıkı ilişkilidir (78). Mitokondriler, glikoz uyarımlı insülin salgılamasında (GSIS) önemli bir rol oynamaktadır (53).

Kandaki glikoz seviyesi yükseldiğinde, hücreler ATP sentezini desteklemek için glikozu alır (5) glikoz ve yağ asitlerinden türetilen ürünlerin oksidasyonu yoluyla mitokondriyal elektron taşıma zinciri aracılığıyla ATP enerjisi üretir (79). Daha sonra

sentezlenmiş ATP molekülleri mitokondrilerden sitozole taşınır (80). Sitozoldeki ATP/ADP oranındaki artış ATP bağımlı K⁺ kanallarını etkisiz hale getirir ve bu durum hücre içine Ca⁺² alımını aktifleştirir (79)(53). Sitozolde ve diğer hücre alt birimlerinde Ca⁺² yükselmesi, insülin veziküllerinin serbestleşerek hücre dışına insülin salınımını sağlar (53,79,81). Bu salınımında UCP2 etkinliği ve ifadenmesi, sitozolde ATP/ADP oranını azaltarak, insülin salınımının olumsuz yönde düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.9) (82,83).

Ayrıca Pankras beta hücrelerinde mitokondriyal oksidatif hasarları tetikleyen metabolik streslere yanıt olarak fonksiyon kaybı ve nihayetinde hücre ölümlerinin ortaya çıktığı ve bu yolla insülinin hücre dışına salınım uyarıları ile glikoz metabolizmasına müdahale ettiği düşünülmektedir (5). UCP2' in, insülin salınımını ve lipogenezi olumsuz yönde düzenlediği gösterilmiştir (84).

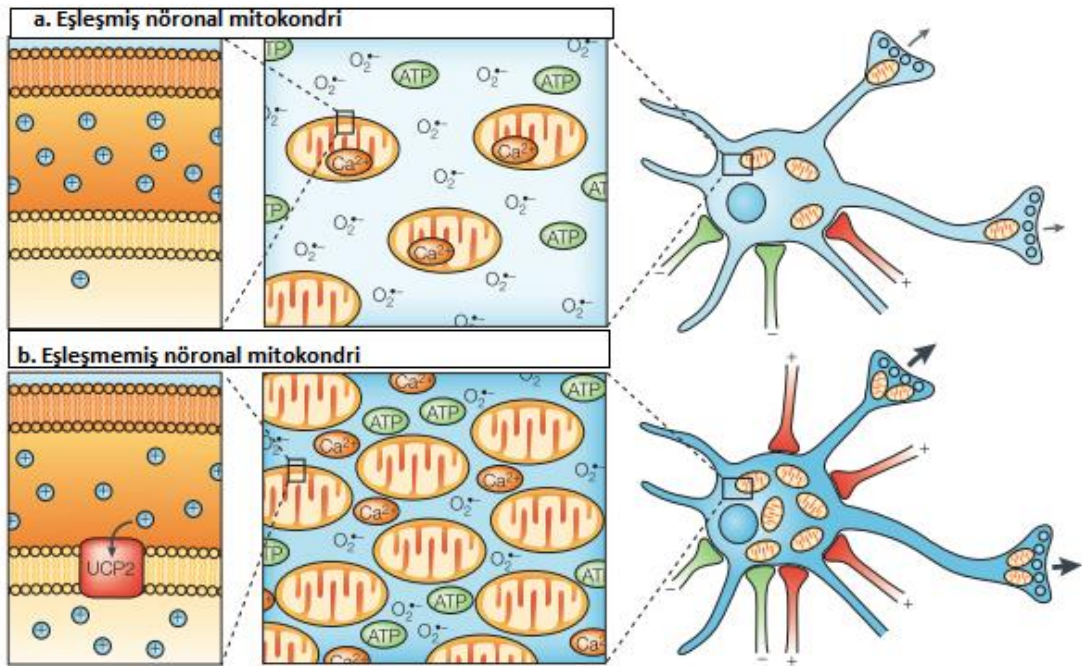


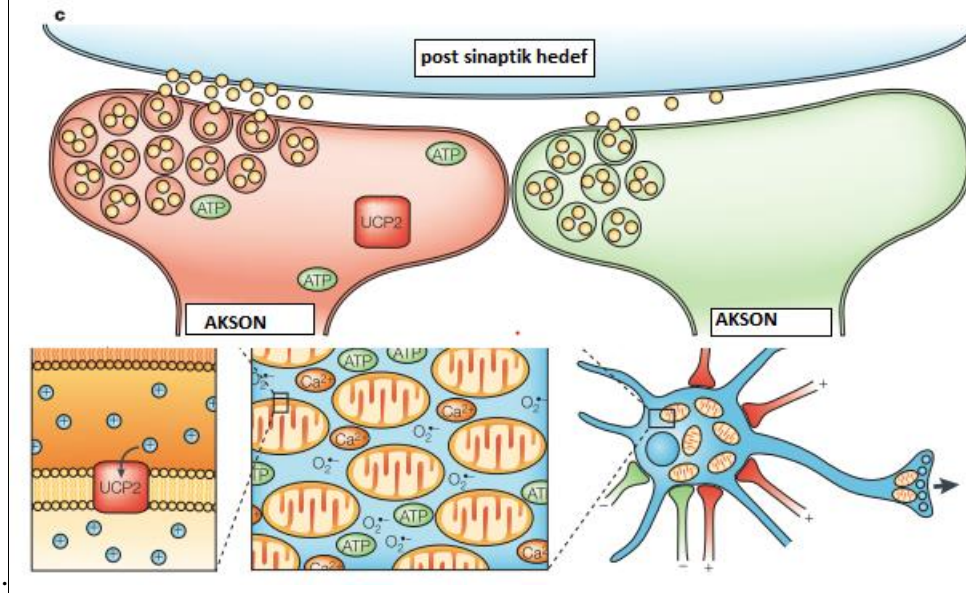
Şekil 2.9: Eşleşme bozucu proteinlerin ATP sentezini önlemek için mitokondride elektron taşıma zincirinden eşlenmemiş elektron taşınması ve insülin salınımı ile olan ilişkisi (85).

2.3.3.4 Eşleşme Bozucu Protein 2 ve Sinir Sistemi Hücrelerinin Korunması

Mitokondrilerin, mitokondriyal zar boyunca geniş bir mitokondriyal zar potansiyeli vardır (86). Mitokondriyal kalsiyumun içe veya dışı akımı (potansiyel-odaklı kalsiyum uniporter yoluyla) iç mitokondriyal zarın potansiyeline bağlıdır (6,87). Artmış zar potansiyeli, ATP sentaz yoluyla güçlü akışını artırır ve bu da sonuç olarak, nöronal fonksiyon kaybına yol açtığı bilinen reaktif oksijen türlerini (ROS) ve mitokondri içerisindeki kalsiyumu artırır. Bu anormal mitokondriyal durum, sinaptik plastisite ve sinir iletimini sınırlar (86).

Mitokondriyal eşleşmemişliğin artması diğer dokulardan farklı olarak hipokampus ve kas dokuda ATP ve ADP seviyesini yükseltir (88). Uzun süreli eşleşmenin bozulması hücrelerdeki mitokondrilerde sayıca artışa sebep olarak hücre başına artmış ATP üretimini meydana getirir. Bu durumda gelişmiş sinaptik plastisite ve nöronal iletim hızını etkili bir şekilde uyarır (Şekil 2.10) (86). Coppola ve ark. ise UCP2 aktivasyonu sonrası nöropeptid Y (NPY) ve agouti-ilişkili peptid (AgRP) nöronlarında mitokondri biyogenezinin artış gösterdiğini rapor etmişlerdir(6,89). UCP2; gıda alımı, glukoz homestazı ve enerji ihtiyacı gibi birçok önemli işlevi düzenlediği için merkezi sinir sisteminde önemli rol oynamaktadır (68).





Şekil 2.10: Nöronal eşleşme bozucu proteinlerin nöronal fonksiyonlara olası etkilerini gösteren mekanizma (90).

2.4 Bilginin İşlenmesi ve Saklanması

Sinir sisteminin en önemli işlevlerinden biri, gelen bilgiyi uygun zihinsel ve refleks yanıtları oluşturacak bir biçimde işlemesidir. Bütün duysal bilginin %99'dan fazlasını önemli olmadığı ya da uygun bulunmadığı için beyin tarafından işlenmemektedir. Örneğin etrafımızdaki gürültü bilinçaltı düzeyde algılanmaktadır veya dikkatimiz sadece görme alanımızda belirli bir nesneye yönelmektedir (91). Beyin fonksiyonlarından öğrenme; yeni bilgilerin edinilmesi, bellek ise bu bilgilerin korunması ve saklanması sürecidir (92,93).

2.4.1 Bilginin İşlenmesi: Öğrenme

Öğrenme ilişkisel (asosyatif) ve ilişkisel olmayan (non-asosyatif) öğrenme olarak ikiye ayrılmaktadır. İlişkisel olmayan öğrenme bir bireyin sadece bir tip uyarana yanıt vermesini içermektedir. Bunun ise iki türü vardır: Alışma (habitüasyon) ve duyarlılık (sensitizasyon) (94). Alışkanlık; bir kişi tekrar tekrar uyarana maruz kaldığında, uyarıyı yavaş yavaş görmezden gelir (95). İlk deneyim sırasında, olay uyarıcıdır ve bir yanıtı çağırılmaktadır. Zamanla daha az tepki uyandırmaktadır (94). Duyarlılık; bedenin bir uyarana daha duyarlı hale gelmesi için yapılan bir süreçtir (95).

Bir uyarın tekrar tekrar uygulandığında alışkanlık oluştururken, aynı uyarın hoş ya da hoş olmayan başka bir uyarın türü ile birleştirildiğinde, kişinin ilk uyarına daha duyarlı hale gelmesi durumudur. Örneğin; bir annenin uyku esnasında etrafındaki seslere alışkın olup rahatsızlık duymazken, bebeğinin herhangi bir sesine duyarlı olmasıdır. İlişkisel öğrenme; iki yada daha fazla uyarın arasındaki ilişkinin bir defada öğrenilme sürecidir (94). Klasik (pavlovian) koşullanma ve yürütücü (enstrümantal) koşullanma olarak alt kategoriye ayrılır. Klasik (pavlovian) koşullanma bireyin doğal bir uyarıcıya verdiği doğal tepkiyi yapay uyarıcıya da aynı şekilde vermesi olarak tanımlanmaktadır. Yürütücü (enstrümantal) koşullanma bireyin sonuçları kendi davranışlarıyla bağdaştırmayı öğrenmesidir (96).

2.4.2 Bilginin Depolanması: Bellek

Bazı anılar yalnızca birkaç saniye zihinde kalırken, bazıları ise saatler, günler, aylar hatta yıllarca ve ömür boyu zihinde kalabilmektedir (91). Bellek genellikle bilginin depolanma süresine göre duyuşal kayıt, kısa ve uzun süreli bellek olarak sınıflandırılır (97).

2.4.2.1 Duyusal Kayıt Bellek:

Duyusal organlardan (göz, burun, kulak gibi) gelen bilgilerin birkaç saniye saklandığı süreci içermektedir. Kısa süreli olan bu bellekte bilginin işlem yapılmaksızın tutulma süresi yaklaşık 15 saniye kadardır (97).

2.4.2.2 Kısa Süreli Bellek:

Daha uzun süreli belleğe dönüştürülmedikçe, süresi ancak saniyeler veya en çok dakikalarla ölçülür (91). Kısa süreli hafıza sinaptik değişimleri içerir (98).

2.4.2.3 Uzun Süreli Bellek:

Bir kez depolandığında, yıllarca hatta yaşam boyunca kalır (Şekil 2.11) (91). Uzun süreli bellek açık ve kapalı olmak üzere ikiye ayrılır. Uzun süreli bellek, sinir sisteminde yapısal değişiklikler gerektirir ve daha kararlıdır (98).



Şekil 2.11:Bellek Türleri ve ilgili beyin bölgeleri

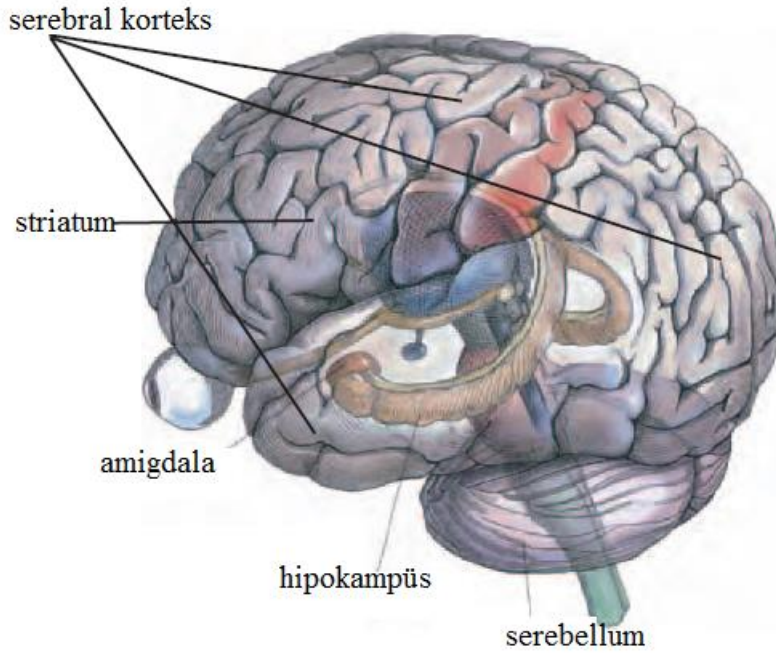
Hipokampusun aracı olduğu açık (deklaratif) bellek; olaysal (epizodik) ve semantik (anlamsal) bellek olmak üzere ikiye ayrılır (99). Olaysal bellek, bir olayın ne zaman, nerede gerçekleştiği ve nasıl bir olay olduğu hakkında bilgiyi içerir (100). Yeni bilgilerin öğrenilmesi, kodlanması, saklanması, eskilerle ilişkilendirilmesi ve bağlantı kurularak geri çağırılması sonucu anılar hatırlanır. Anlamsal bellek ise dünyaya ait gerçekler hakkındaki bilgiyi içerir (101).

2.5 Hipokampus

Hipokampus, temporal lob korteksinin en içe bakan bölümüdür (91). Hipokampus beyin kesitlerinde C harfi şeklinde görülür (Şekil 2.12)(102). Hipokampus hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı CA1, CA2, CA3 ve CA4 gibi farklı alanlara bölünmüştür (102). Hipokampus CA1 bölgesi nöronları spasyal (uzaysal) öğrenme ve bellek için gereklidir. CA1 bölge nöronları entorinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler (102).

Epilepsi tedavisi amacı ile birkaç hastada, iki hipokampus da cerrahi olarak çıkarılmıştır. Bu işleme dek depolanmış bellek açısından ciddi bir sorun oluşmamış iken, bu girişimden sonra, bu kişilerin, artık uzun süreli hatta birkaç dakikayı geçen orta süreli bellek depolama yetisi kalmadığı bulunmuştur (91). Hipokampus, bellek işlevini destekleyen sistemlerin içinde, özellikle de epizodik ve spasyal bellek oluşumunda önemli bir yere sahiptir (100). Ayrıca hipokampus, enerji dengesi ile ilgili nörohormonal sinyaller algılanması ve kullanılması yoluyla gıda alımı ve tüketimini uarmak için gıda ile ilgili ipuçlarının etkililiğini düzenleyecek şekilde işlev gören bir beyin bölgesidir (103).

Kemirgenlerle yapılan çalışmalarda, hipokampal nöronların ağlarında hafıza gösterimine dair bilgiler vermektedir (96). Bu çalışmalarda özellikle örnek teşkil eden Morris su tankında yapılan konumsal öğrenmedir (104).

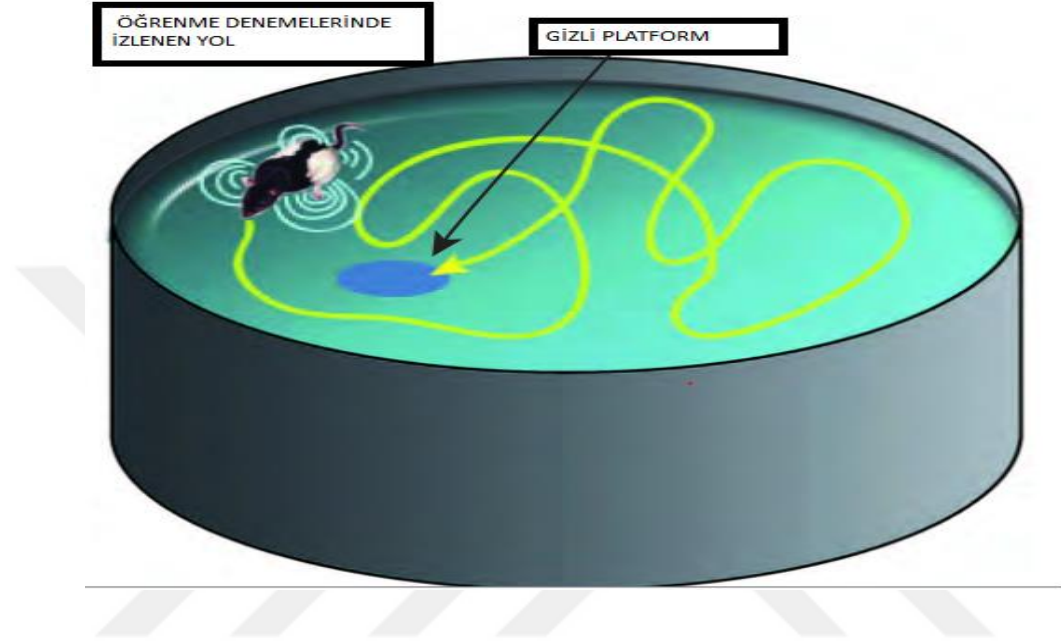


Şekil 2.12: Büyük beyin sistemlerinin bileşenlerini gösteren insan beyninin çizimi (96).

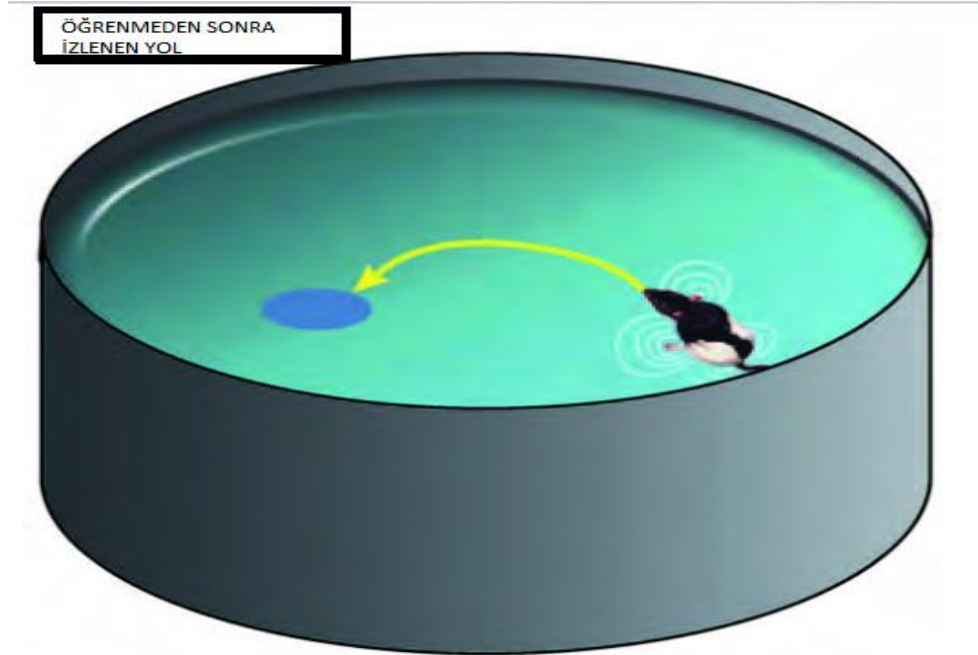
2.6 Morris Su Tankı

Direkt ve dolaylı olarak hayvanlarda öğrenme; duyuşsal ya da diğer ipuçlarına dayanarak bir hareketin uyarılmasını veya baskılanmasını içerir (105). Laboratuvar farelerinde hafızayı ve uzaysal öğrenmeyi araştırmak için Morris su tankı (MST), uygun bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Araştırma grupları tarafından Morris su labirentinin birçok metodolojik çeşidi farklı uygulama şekilleri ile kullanılmaktadır (104).

Sıçanlarda Morris su labirenti özellikle hipokampal bölge kayıplarının etkileriyle ilişkili bir enstrüman olarak yer almaktadır (106). Hayvanlar bu deney esnasında sudan kaçmak için gizli platformun yerini belirlemeli ve bu yolla sudan çıkabilmelidir. Bu süreç ise görsel ve mekânsal yerleşime dair ipuçları elde edilmesini, birleştirilmesini, daha sonra kullanmak için saklanılmasını ve kullanılmasını kapsar (Şekil 2.13-14) (107).



Şekil 2.13: Morris su tankında öğrenmenin ilk günleri katedilen yol (96).



Şekil 2.14: Morris su tankında öğrenme gerçekleşikten sonra katledilen yol (96).

3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Hayvan Deneyleri

3.1.1 Kullanılan Hayvanlar

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı (Protokol no:34) onayı alındıktan sonra ve “Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Yönergesi” kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Bu çalışmada kullanılan 16 adet Wistar albino yetişkin erkek sıçan Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney hayvanlarının beslenme, bakımı ve öğrenme deneyleri Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkez'inde, tüm moleküler genetik analizler ise Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1.2 Deney Grupları

Çalışmanın başlangıcında 16 adet Wistar albino yetişkin erkek sıçan, her grupta 8 adet hayvan olacak şekilde iki gruba rastgele ayrılarak kontrol ve obez hayvan grubu oluşturuldu.

(1.Grup) ; 8 adet, standart sıçan yemi ile beslenen, kontrol grubu (K)

(2.Grup) ; 8 adet % 70'i yağ olan yüksek yağlı diyet ile beslenen, obez grubu (O)

3.1.3 Hayvanların Bakımı ve Beslenmesi

Deney hayvanları 21- 23°C oda sıcaklığında ve 12 saat gece / 12 saat gündüz ışık sistemli odalarda aynı bakım koşulları altında, çeşme suyu içirilerek, rahat hareket edebilecekleri büyüklükte, üzeri hava alabilecek şekilde kapatılmış kafesler içerisinde sekizli gruplar halinde konumlandırıldı. Obez grup; obez hayvan modeli oluşturmak için çalışmanın başından itibaren (16 hafta) kalorisinin % 70'i yağ olan yüksek yağlı diyet ile beslendi. Sekizinci haftanın sonunda Lee indeksine göre obez hayvan modeli oluştu. Lee indeksi hesaplamasında; burun ucundan kuyruk başlangıcı arası mesafe boy olarak kabul edildi. Ölçülen ağırlık ve boy parametreleri Lee indeksi formülü kullanılarak hesaplandı ve sonuçları 0,3 den büyük olan deney hayvanlarının obez olduğu kabul edildi.

Obezitenin ileri süreçlerindeki komplikasyonların takibi için 16.haftaya kadar yüksek yağlı diyet ile beslenmeye devam edildi. Kontrol grubu ise çalışmanın başından itibaren aynı süre ile standart sıçan yemi ile beslendi. Toplam 16 hafta boyunca obez ve kontrol grubundaki deney hayvanlarının haftalık kilo alımları izlendi.

3.1.4 Hayvanlara Öğrenme Testi Uygulanması

Obez ve kontrol grubu hayvanları Morris su tankı kullanarak, yer öğrenme (gizli platform) protokolü uygulanıp ilk spasyal (uzaysal) referans bellek testi uygulandı. Bu test toplam 5 gün sürdü. İlk 4 gün öğrenme denemeleri, son gün ise belleği test edecek prob deneme yapıldı. Öğrenme denemeleri günde 4 deneme olarak yapıldı. Öğrenme denemelerine başlamadan önce stresi minimize etmek için her hayvana 3 gün boyunca, günde bir defa 1 dakika yüzme alıştırmaları uygulandı.

Morris su tankı testi basamakları

Öğrenme günlerinde;

1. Morris su tankına oda sıcaklığında su dolduruldu.
2. Tank farazi 4 eşit kadrana bölündü.
3. Platform bunların birinin merkezine su seviyesinin 1-2 cm altına kalacak şekilde yerleştirildi (Şekil 3.1).
4. Kullanılacak platform su tankının çerperleri ve tabanıyla aynı renkte olacak şekilde tercih edildi.
5. Su içindeki platformun görülmemesi için tanka, yeterli miktarda toksik olmayan ve su çerperleri ve tabanıyla aynı renkte gıda boyası konulup iyice karıştırıldı.
6. Tankın çevresine hayvanın platformun yerini öğrenmesine yardım edecek spasyal ipuçları asıldı.
7. Öğrenme denemeleri esnasında 4 gün boyunca platform hep aynı kadranda bırakıldı.
8. Öğrenme denemelerinde hayvanın bırakılacağı noktalar tayin edildi. Örneğin; Kuzey (K), Doğu (D), Güneydoğu (GD), Kuzeybatı (KB) gibi (Tablo 3.1).
9. Her öğrenme deneme gününde ilk deneme için ilk suya bırakılış noktası bir önceki günden farklı seçildi.
10. Öğrenme denemesi esnasında hayvanlar, seçilen suya bırakılma noktasından suya bırakıldı ve gizli platformu bulması için 120 saniye verildi.

11. Platformu bulup ve üzerine çıkan hayvanlar başarılı olarak kabul edildi.
12. 120 saniye içerisinde platformu bulup çıkamayan hayvanlar başarısız kabul edildi ve 5 saniye platform üzerinde bekletilerek ipuçlarını öğrenmesi sağlandı.
13. Öğrenme denemelerinin yapıldığı günlerde ve aralarında 15 şer saniye tank dışına alınıp dinleme yapılarak günde 4 kez deneme yapıldı.

Tablo 3.1: Deney hayvanlarının öğrenme denemeleri süresince Morris su tankına bırakıldıkları noktalar

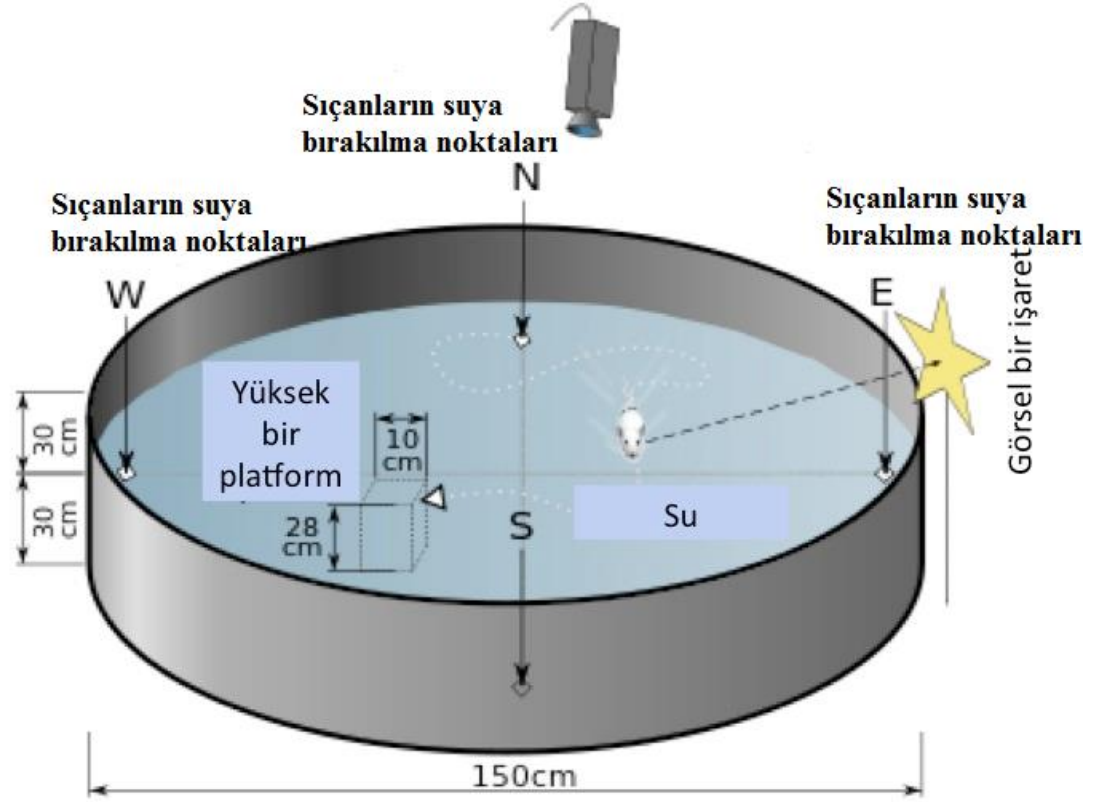
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
1.DENEME	Kuzey (K)	Doğu (D)	Güneydoğu (GD)	Kuzeybatı (KB)
2.DENEME	Doğu (D)	Güneydoğu (GD)	Kuzeybatı (KB)	Kuzey (K)
3.DENEME	Güneydoğu (GD)	Kuzeybatı (KB)	Kuzey (K)	Doğu (D)
4.DENEME	Kuzeybatı (KB)	Kuzey (K)	Doğu (D)	Güneydoğu (GD)

14. Öğrenme denemeleri bitince 5. gün belleği test etme prob denemesine geçildi.

Prob denemeler ;

1. Prob denemeye geçilmeden önce platform su tankından çıkartılır. Hayvan belirlenen (örneğin; kuzey) her hangi bir suya bırakılma noktasından suya bırakıldı
2. Deney Hayvanına 60 saniye verildi.
3. 60 saniye sonunda hayvan su içerisinde alınıp kurulandı ve kafese konuldu.

Bütün öğrenme denemeleri su tankının üzerinde tavana asılı bir video takip sistemi ile ethovision programı aracılığıyla kaydedildi. Değerlendirilecek olan öğrenme-hafıza parametreleri alındı.



Şekil 3.1: Morris su tankı deney düzeneği

3.1.5 Hayvan Deneylerinin Sonlandırılması

1. On altıncı haftanın sonunda bütün hayvanlara hipokampus ve pankreas doku örneklerini almak amacıyla genel anestezi (Ksilazin+ Ketamin; 5-10 mg/kg+ 50-60) uygulandı.
2. Deney hayvanlarına diseksiyon yapılarak hipokampus ve pankreas doku örnekleri alındı.
3. Ve uygun koşullarda (-80) saklandı.

3.2 Moleküler Genetik Analizler

3.2.1 Dokudan Total RNA İzolasyonu

Deney gruplarından diseksiyon edilmiş hipokampus ve pankreas dokularından total RNA (mRNA içeren) izolasyonu, Qiagen RNeasy Mini Kit (Cat No./ID:74104) kullanılarak yapıldı.

Kitin çalışma basamakları şu şekildedir;

1. Taze dokular yeterli miktarda (yaklaşık 20-30 mg)temiz lam üzerinde kesilerek numaralandırılmış tüplere alındı.
2. Üzerlerine doku miktarına göre yaklaşık 350-600 µl Buffer RLT eklendi.
 - < 20 mg 350µl
 - <30 veya =30 600µl
3. Her bir tüpe steril metal boncuk (3mm) konuldu.
4. Doku parçalayıcı (Qiagen Tissue Lyser LT) kullanılarak 50 osc 10dk boyunca parçalandı.
5. 5 dakika boyunca 4°C'de 13.000 rpm'de santrifüj yapılp ve üst faz yeni bir tüpe alındı.
6. Tüpteki miktarın 1 katı (yaklaşık 400µl) 70% etanol eklenip, pipet ile iyice karıştırıldı.
7. En fazla 700 µl örnek 2 ml toplama tüpü içerisindeki RNeasy Mini kolona yüklenip ve oda sıcaklığında 15 sn boyunca 13.000 rpm' de santrifüj edildi.
8. Temiz bir toplama tüpüne alınan RNeasy Mini kolona 700 µl Buffer RW1 çözeltisi eklenip, oda sıcaklığında 15 sn boyunca13.000 rpm' de santrifüj uygulandı.
9. Toplama tüpünde biriken kalıntı atıldı.
10. Temiz bir toplama tüpüne alınan RNeasy Mini kolona 500 µl Buffer RPE çözeltisi eklenip, yine oda sıcaklığında 15 sn boyunca 13.000 rpm'de santrifüj uygulandı.
(**Not:** Kullanmadan önce Buffer RPE çözeltisine %96-100 etanol eklendi.)
11. Toplama tüpünde biriken kalıntı atıldı.
12. Temiz bir toplama tüpüne alınan RNeasy Mini kolona 2.defa 500 µl Buffer RPE çözeltisi eklenip, oda sıcaklığında 2 dk boyunca 13.000 rpm'de santrifüj edildi.
13. Toplama tüpünde biriken kalıntı atıldı.
14. 1,5 ml'lik toplama tüpüne alınan RNeasy Mini kolona 30–50 µ RNase içermeyen su eklenip, oda sıcaklığında 1 dk boyunca 13.000 rpm'dae santrifüj edildi.
15. Toplama tüpündeki birikinti total RNA'yı içermektedir.
16. Elde edilen RNA'lar -80 °C' de saklamak üzere kaldırıldı.

3.2.2 Elde Edilen Total RNA'dan Kalite ve Miktar Tayini

cDNA elde etmek için cDNA çevirim deneyleri öncesi elde edilen RNA örneklerinin miktarlarını ve kalitesini belirlemek amacıyla ve tüm örnekleri aynı yoğunlukta reaksiyona tabi tutmak amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Kalite ve miktar tayini Epoch Micro-Volume Spectrophotometer System (BioTek, Winooski, United States) kullanılarak yapıldı. cDNA çevirim deneyleri öncesi elde edilen RNA miktarları 200 ng/μl'e olacak şekilde hazırlandı.

3.2.3 Total RNA'dan cDNA eldesi

1. cDNA (kalıp, complementary DNA)'lar, QiagenRT² First Strand Kit (Cat no:330404) kullanılarak sentezlendi.
2. Tablo 3.2'e göre genomic DNA elimination toplam karışımı buz üzerinde hazırlanıp, RNA'nın miktarı her bir örnek için 10 μl hacim içerisinde 1000 ng/μl olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 3.2: Genomic DNA eliminasyon karışımı

Bileşenler	Tepkime Hacmi	Son Konsantrasyon
Kalıp RNA	5 μl (200 ng / μl)	1000 ng / μl
Buffer GE	2 μl	
RNaz içermeyen su	3 μl	
Toplam Hacim	10 μl	

3. RNA, RT karışımı içeren her bir tüpe eklenecektir. Kısa bir santrifüj edilip, buz üzerine tekrar bırakıldı.
4. Veriti™ Dx 96-Well ThermalCycler (AppliedBiosystem, Foster City, CA, USA) cihazında 5 dk 42⁰ C inkübe edildi. Hemen buz bloğu üzerine alındı.
5. En az 1 dk buz bloğunda bekletildi.
6. Tablo 3.3.'e göre her örnek için reverse transkripsiyon toplam karışımı buz üzerinde hazırlandı.

Tablo 3.3:Reverse Transkripsiyon karışımı için kullanılan bileşenlerin oranları

Bileşenler	Hacim
5x Buffer BC3	4 µl
Control P2	1 µl
RE3 ReverseTranskriptazMix	2 µl
RNaz içermeyen su	3 µl
Toplam hacim	10 µl

7. Genomik DNA elimination mix içeren her bir tüpüne 10'µl reverse-transkription mix dağıtılıp yavaşça pipetaj yapıldı.
8. Veriti™ Dx 96-Well ThermalCycler (AppliedBiosystem, Foster City, CA, USA)cihazında 15 dk 42⁰ C inkübe edildi.
9. Ardından hemen 5 dk 95⁰ C inkübe edildi.
10. 91 µl RNaz içermeyen su eklendi.
11. cDNA'ların kullanım ömrünü uzatmak için -80⁰C'de muhafaza edildi.

3.2.4 Primer seçimi

Ucp2 ve Gapdh “primer assay” olarak hazır alındı.(Qiagen)

Ucp2 → Katalog No: PPR45810A

Gapdh→ Katalog No: PPR06557B

3.2.5 qRT-PCR (Real Time-PCR, Gerçek Zamanlı-PCR)

1. qRT-PCR için tepkime bileşenleri Qiagen RT² q PCR Primerassay kiti kullanıldı.
2. Buz bloğu üzerinde bileşenlerin her bir örnek için tepkime hacimleri Tablo 3.4'e göre hazırlandı.

Tablo 3.4:qRT-PCR için kullanılan bileşenlerin oranları

Bileşenler	Hacim	Son Konsantrasyon
RT ² SYBR Green Mastermix	12.5 µl	
Kalıp cDNA	1 µl	
RT ² q PCR Primer assay (10 µM stock)	1 µl	
RNaz içermeyen su	10.5 µl	
Toplam hacim	25 µl	

3. Uygun tüplere cDNA'lar dağıtılıp, qRT-PCR Rotor-Gene Q (Qiagen) cihazına yüklendi.
4. qRT-PCR Tablo 3.5'deki tepkime koşullarına göre gerçekleştirildi.

Tablo 3.5: qRT-PCR Tepkime Koşulları

Sıcaklık (°C)	Zaman	
95	10 dk	
95	15 sn	} 40 döngü
60	30sn	

3.3 İstatistiksel analiz

3.3.1 Hayvan DeneYlerinin İstatistiksel Analizi

Kontrol ve obez gruplarındaki hayvanların Morris su tankı deneyinde uzamsal referans hafızayı test etmek için gizli platform protokolü iki tekrarlı deney olarak uygulandı.

Deney hayvanlarından elde edilen platforma kaçış süresi verileri SPSS® 13,0 for Windows (Amerika) programında Student-T testi ile ortalama kaçış süresi ve standart sapmaları hesaplanarak analiz edildi

3.3.2 Moleküler Genetik DeneYlerin İstatistiksel Analizi

Kontrol ve obez grubu hipokampus, pankreas dokularında Ucp2 ve Gapdh ifade düzeylerinin sonuçlarını istatistiksel olarak karşılaştırmak için microsoft office excel programı kullanılmıştır. Ucp2 gen değerleri Gapdh geni ölçüm değerleri ile normalize edilmiştir. Normalizasyonda kullanılan Gapdh geni, belirli şartlar altında ifade düzeyi değişmeyen, tüm dokularda ve hücrelerde temel düzeyde ifade edilen housekeeping genidir. qRT-PCR yönteminde Ct değerleri elde edilmiştir. qRT-PCR sonuçlarındaki Ct değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ve Qiagen data analysis veri tabanı kullanılarak istatistiksel analiz yapılmıştır (Şekil 3.1). Bu değer bize ilgili genin dokulardaki ifade düzeyinin, kontrol grubu baz alınarak diğer obez grubu dokularına göre kıyaslanmasını sağlar. İlgili genin (Ucp2) referans gene (Gapdh) göre hangi oranda ifade düzeyinin değiştiğini göstermektedir. Yani, göreceli ifade bilgisini vermektedir.

$$\Delta Ct = Ct1(Ucp2) - Ct 2(Gapdh)$$

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-(\text{Örnek } \Delta Ct (\text{Gen}) - \text{Kontrol } \Delta Ct (\text{Referans}))}$$

Şekil 3.1. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü

.

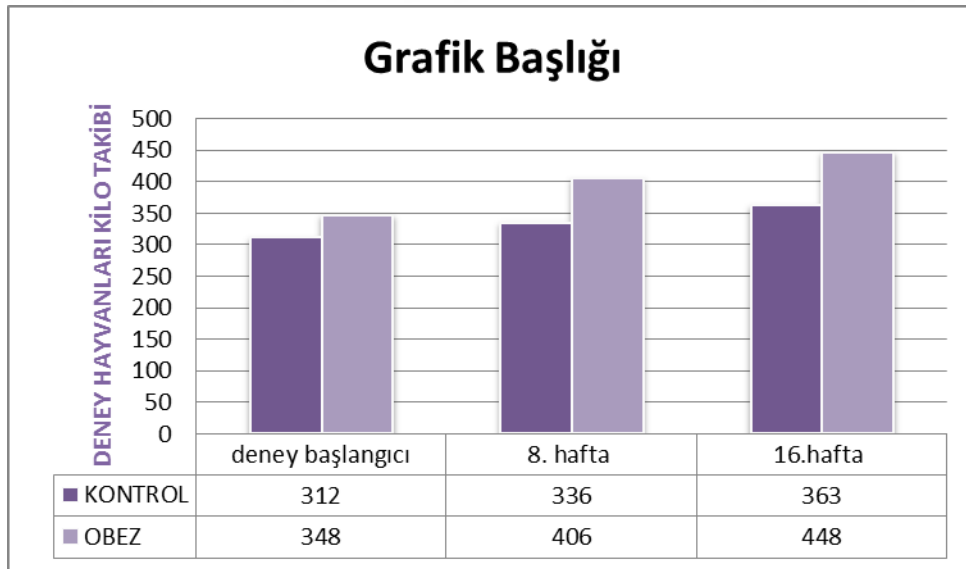
4 BULGULAR

4.1 Hayvan Deneyleri Bulguları

4.1.1 Deney Hayvanların Haftalık Kilo Takipleri ve Oluşturulan Obezite Modelinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve obez grubundaki deneklerin deney başlangıcında, 8.hafta ve 16.haftada olmak üzere kilo alımları izlendi. Obez olarak değerlendirilen gruplarda kontrol grubuna oranla iki kat daha hızlı kilo alımı olduğu saptandı (Şekil 4.1).

Toplam 16 hafta boyunca süren bu takip sonucunda obez ve kontrol gruplarındaki deney hayvanlarının Lee indeks hesaplamaları yapılarak obez hayvan modeli değerlendirildi. Lee indeks hesaplamasında; burun ucundan kuyruk başlangıcı arası mesafe boy olarak kabul edildi. Ölçülen ağırlık ve boy parametreleri Lee indeks formülü kullanılarak hesaplandı ve sonuçları 0.3 ve 0.3 den büyük olan deneklerin obez olduğu kabul edildi. Lee indeksi değerlerine göre; obez gruptaki bütün hayvanlarda obezite modelinin oluştuğu (4.1), kontrol grubundaki hayvanlarda ise kilo artışına rağmen obezite modelinin oluşmadığı belirlendi (Tablo 4.2).



Şekil 4.1: Kontrol ve Obez gruplarının kilo alımı takip grafiği (gram olarak)

Tablo 4.1: Obez grubu deney hayvanlarının 8.hafta sonundaki Lee indeks grafiği

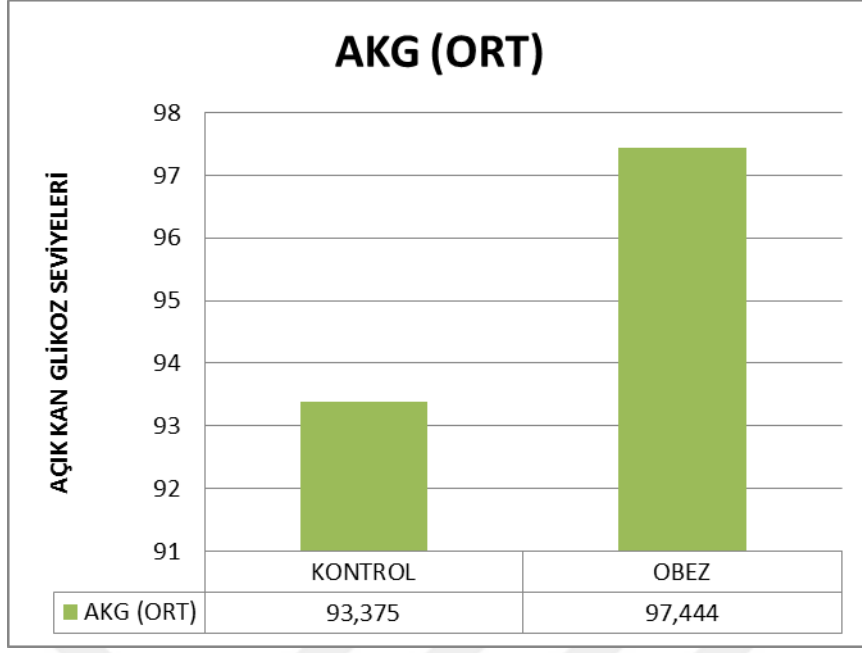
Obez									
grubu	1	2	3	4	5	6	7	8	
hayvanlar	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	Ortalama
Uzunluk	23	23	24	23	22	23	22	23	22,8
Lee İndeksi	0,305	0,310	0,337	0,330	0,311	0,330	0,312	0,316	0,318

Tablo 4.2: Kontrol grubu deney hayvanlarının 8.hafta sonundaki Lee indeks grafiği

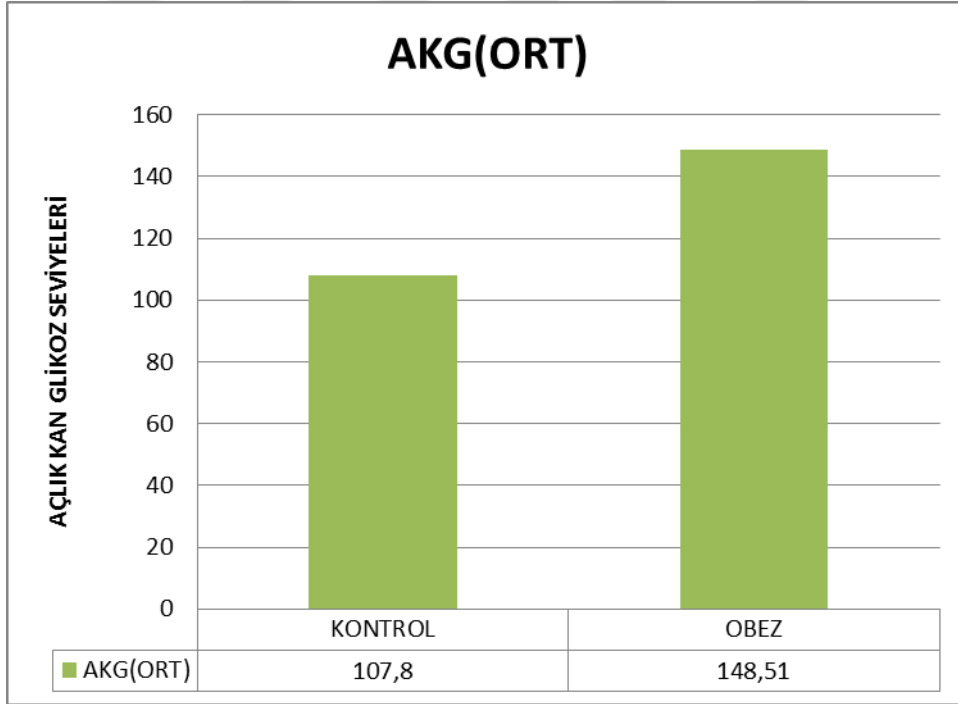
Kontrol									
grubu	1	2	3	4	5	6	7	8	
hayvanlar	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	nolu	Ortalama
Uzunluk	24	22	23	23	22	23	22	23	22,7
Lee İndeksi	0,265	0,255	0,247	0,262	0,263	0,273	0,277	0,263	0,261

4.1.2 Deney Hayvanların Açlık Kan Glikoz Seviyelerinin Ölçüm Sonuçları

Kontrol ve obez grubundaki deneklerin 8.hafta ve 16.haftada olmak üzere iki kez açlık kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Birinci ölçümde açlık kan glikoz değerlerinin ortalaması iki grup arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.03$). Ancak ikinci ölçümde obez grupta bu farkın önemli oranda artmış olduğu saptandı ($p=0.0001$)(Şekil 4.2-4.3).



Şekil 4.2 : Açlık kan glukoz seviyesi deney başlangıcında 1.ölçüm



Şekil 4.3: Açlık kan glukoz seviyesi 16.haftanın sonunda 2.ölçüm

4.1.3 Morris Su Tankı Öğrenme Deneyleri Sonuçları

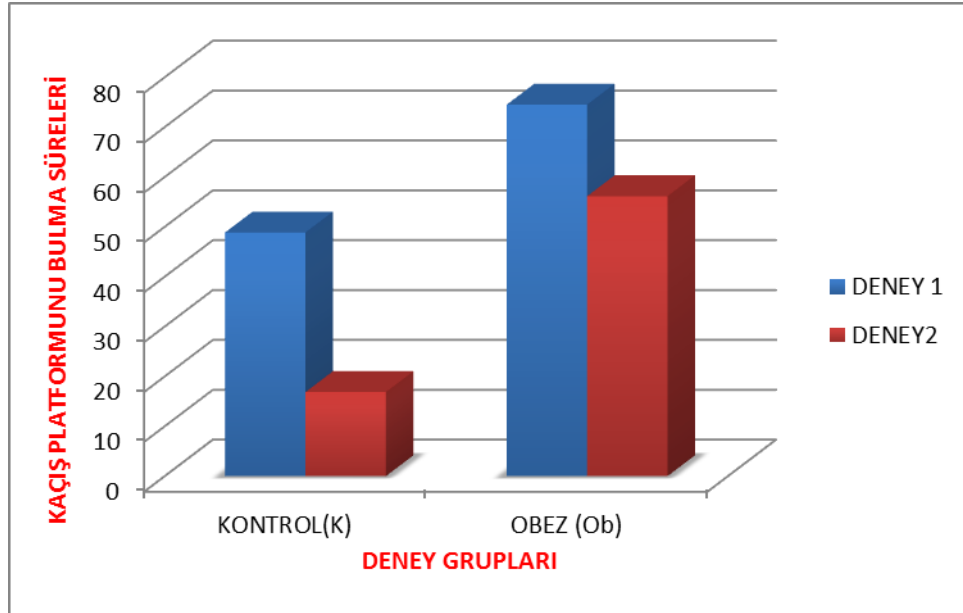
Obez ve kontrol grubunun öğrenme bellek işlevi bakımından karşılaştırılmasında Morris Su labirentinde gizli platform protokolü uygulandı ve kaçış platformunu bulma süreleri baz alındı (Tablo 4.3).

Kontrol grubu birinci öğrenme deneyinde kaçış platformunun obez grubuna göre daha kısa sürede öğrenmiş ve kaçış platformuna daha kısa sürede çıkmıştır (Tablo 4.3). Aynı şekilde öğrenilmiş bilgilerin hafızasını test etmek için yapılan 2.denemede ise obez grubunda 1.denemeye göre kaçış platformunu bulma süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı (Tablo 4.3) ($p \leq 0,001$). Ancak kontrol grubuna süre kıyaslandığında bu azalışın çok az olduğu kanısına varılmıştır. Çünkü kontrol grubu 2.denemede 1.denemeye göre çok daha kısa bir sürede kaçış platformuna çıkmıştır (Şekil 4.4).

Tablo 4.3:Kaçış platformunu bulma süreleri ve standart sapmaları

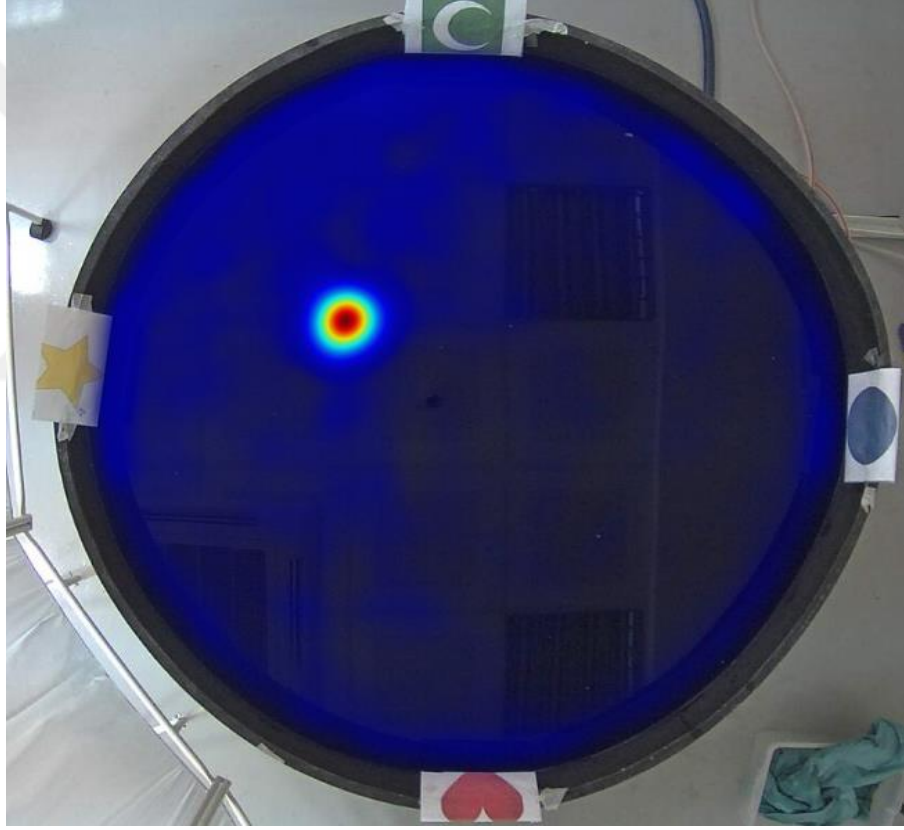
Kaçış süresi (s)	Kontrol (K)	Obez (Ob)	<i>p</i> değeri
Deney_1	48,86 ± 11,142	74,50 ± 9,350	0,001*
Deney_2	16,86 ± 5,55	56,143 ± 10,335	0.001*

*Student- T testi $p < 0.05$

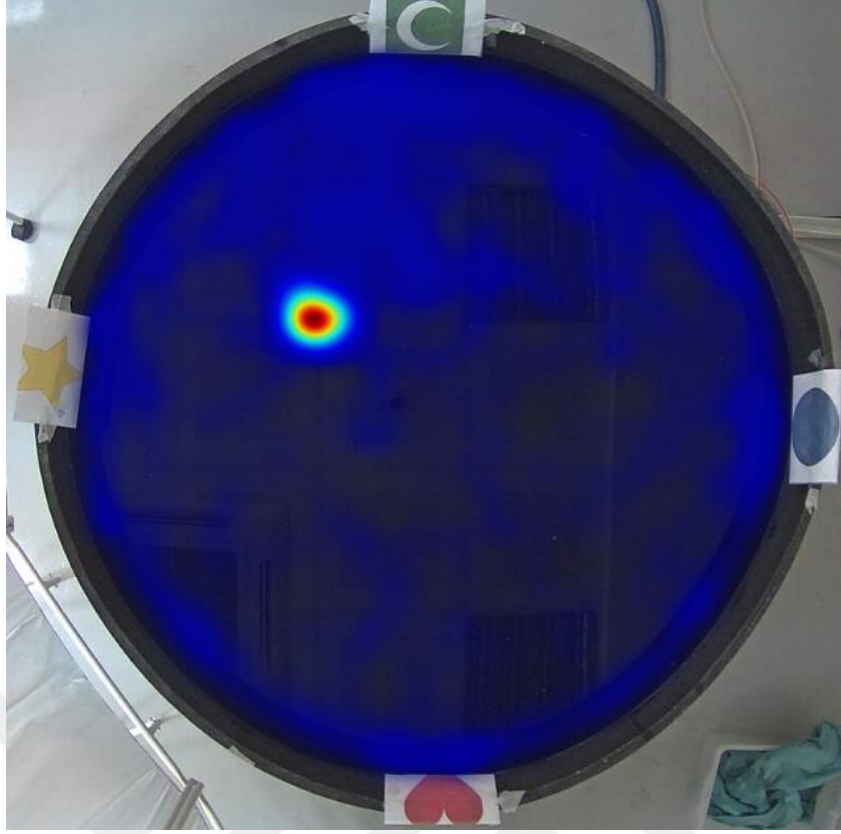


Şekil 4.4: Deney ve kontrol gruplarının kaçış platformunu bulma sürelerinin karşılaştırma grafiği

Deney hayvanlarının morris su tankı protokolü boyunca kaçış platformunu bulmak için tank içerisindeki kadranda bulunma yoğunlukları vücut ısısına duyarlı kameralar ile kayıt altına alınarak ısı haritası oluşturuldu. Bu ısı haritalarında da kontrol ve obez grupları arasında bariz farklılıklar görülmüştür. Obez gruptaki hayvanlar tank içerisinde birçok kadranda dolaşarak kaçış platformuna çıkarken(Resim 4.2), kontrol grubu hayvanları kaçış platformuna yakın tank yüzeyine asılı ipuçları arasındaki kadranda dolaşarak kolay bir şekilde kaçış platformuna çıkmıştır (Resim 4.3). Bu ısı haritaları da kontrol grubunun obezlere göre mekânsal ipuçlarını daha iyi öğrendiğini göstermiştir.



Resim 4.1: Morris su tankı esnasında kontrol grubu hayvanlarının izlediği yolun ısı haritası



Resim 4.2: Morris su tankı esnasında obez grubu hayvanlarının izlediği yolun ısı haritası

4.2 Moleküler Genetik Analiz Bulguları

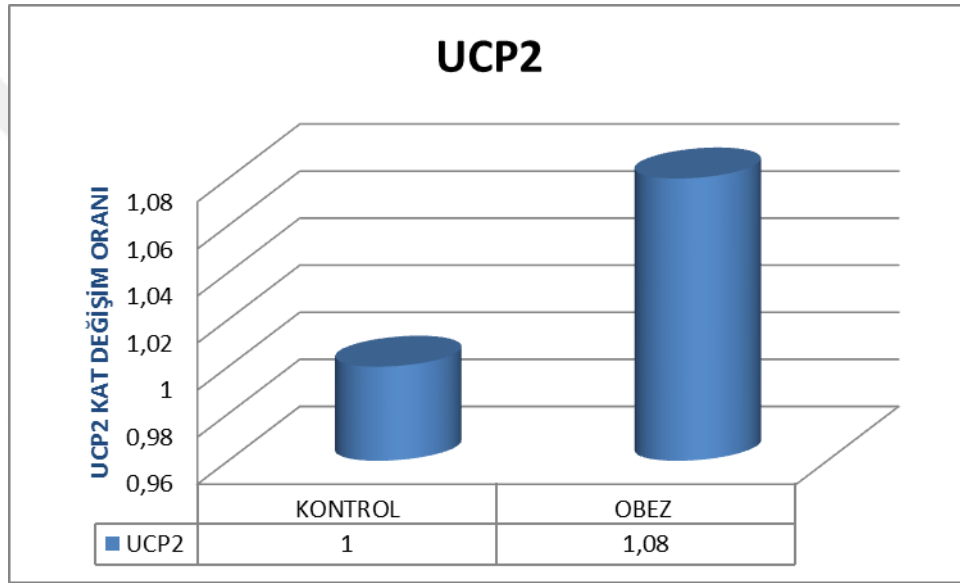
Deney hayvanlarına diseksiyon yapıp dokular alındıktan sonra total RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve gerçek zamanlı PCR yapıldı, gen ifade sonuçlarına bakıldı. Ucp2 gen ifadesi “housekeeping” gen olarak kullanılan Gapdh gen ifadesi ile normalizasyonu yapılarak tespit edildi.

4.2.1 Pankreas Dokularında Ucp2 Gen İfade Sonuçları

Grupların istatistiksel karşılaştırılması qiagen data analiz online veri merkezi kullanılarak yapıldı (Şekil 4.5). Pankreas dokusunda obez deney grubunda kontrol grubuna Ucp2 gen ifadesinde 1.08 kat anlamlı olmayan bir artış saptandı ($p=0.97$) (Şekil 4.6).

Position	Gene Symbol	AVG ΔC_t		$2^{-\Delta C_t}$		Fold Change		p-value	Fold Up- or Down-Regulation
		Group 1	Control Group	Group 1	Control Group	Group 1/Control	Comments	Group 1/Control	Group 1/Control
1	UCP2	1.90	2.01	0.267943	0.248632	1.08		0.975658	1.08
2	GAPDH	0.00	0.00	1.000000	1.000000	1.00		0.000000	1.00

Şekil 4.5: Qiagen data analiz veri tabanı ile Pankreas dokusunda Ucp2 ve Gapdh genlerinin ifade analizlerinin özet tablosu ve p değeri



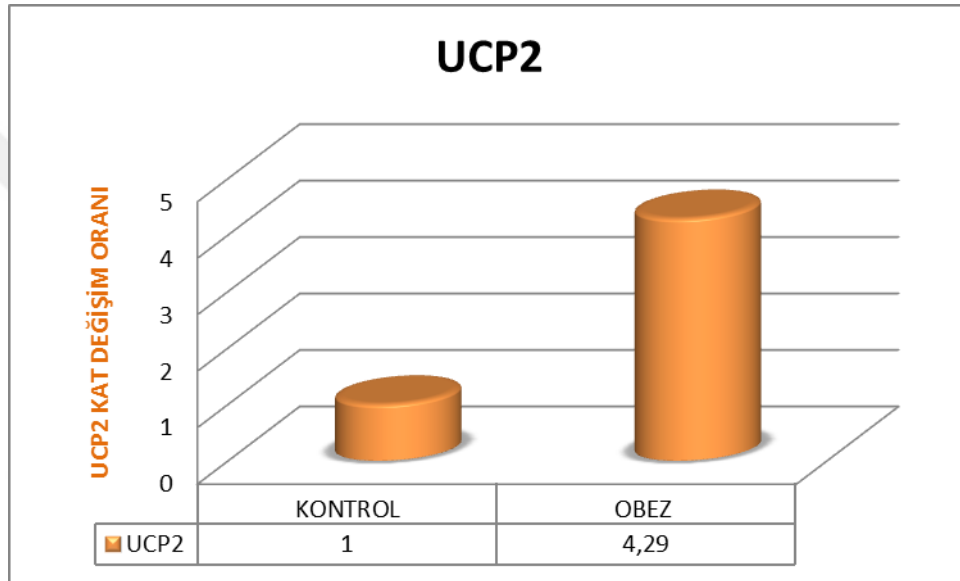
Şekil 4.6: Pankreas dokusunda Ucp2 gen ifadesinin kontrol ve obez deney gruplarındaki katlı oran değişiminin grafiksel olarak gösterimi

4.2.2 Hipokampus Dokularında Ucp2 Gen İfade Sonuçları

Grupların istatistiksel karşılaştırılması qiagen data analiz online veri merkezi kullanılarak yapıldı (Şekil 4.7). Hipokampus dokusunda obez deney grubunda kontrol grubuna göre Ucp2 gen ifadesinde 4.29 kat anlamlı bir artış saptandı ($p=0.05$) (Şekil 4.7).

Position	Gene Symbol	AVG ΔC_t		$2^{-\Delta C_t}$		Fold Change		p-value	Fold Up- or Down-Regulation
		Group 1	Control Group	Group 1	Control Group	Group 1/Control	Comments	Group 1/Control	Group 1/Control
1	UCP2	2.97	5.07	0.127753	0.029770	4.29		0.052101	4.29
2	GAPDH	0.00	0.00	1.000000	1.000000	1.00		0.000000	1.00

Şekil 4.7: Qiagen data analiz veri tabanı ile Hipokampus dokusunda Ucp2 ve Gapdh genlerinin ifade analizlerinin özet tablosu ve p değeri



Şekil 4.8: Hipokampus dokusunda Ucp2 gen ifadesinin kontrol ve obez deney gruplarındaki katlı oran değişiminin grafiksel olarak gösterimi

5 TARTIŞMA

Obezitenin sağlık sorunlarına neden olduğu ve zaman içerisinde daha sık görüldüğü bilinmektedir. Ülkemizde boy ve kilo değerleri kullanılarak hesaplanan vücut kitle indeksi incelendiğinde; 15 yaş ve üstü obez bireylerin oranı 2014 yılında %19.9 iken, 2016 yılında %19.6 olmuştur (108). Cinsiyet farkına bakıldığında ise; 2016 yılında kadınların %23.9' u obez, %30.1'i obez öncesi, erkeklerde ise bu oranlar sırasıyla, %15.2 ve %38.6'dır (108). Obezite, ölüm sıklığı ve hastalığa neden olma açısından başlı başına bir risk faktörüdür (3). Her yıl yaklaşık 300.000 insanın obezitenin zemin hazırladığı kronik hastalıklar nedeniyle öldüğü rapor edilmektedir (3).

Obezite ilerleyen aşamalarında tip 2 diyabet, yüksek tansiyon, dislipidemi, felç, kalp krizi, koroner kalp hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, uyku apnesi, safra kesesi taşı, böbrek taşı, hiperürisemi, osteoartrit, polikistik over sendromu, kısırlık, karaciğer yağlanması, pulmoner embolizm, venlerde kan pıhtılaşması, solunum fonksiyonu bozuklukları, belirli kanser türleri (kolorektal, prostat, meme, safra kesesi) gibi birçok ciddi hastalık ile beraber seyretmektedir (8).

Dünya genelinde bir sorun haline gelen obezitenin metabolizma ve vücudun her bir organı üzerinde ne gibi etkiler meydana getirdiğinin bilinmesini önemli hale getirmiştir. Obezitenin vücut organlarında meydana getirdiği değişikliklerin moleküler ve genetik temellerini aydınlatmak ve uygun tedavi protokolleri oluşturabilmek için in vivo ve in vitro modellerde birçok çalışma yapılmaktadır.

Glikoz ve yağ asitlerinin fizyolojik seviyeleri hücrelerin fonksiyonunu doğru yapabilmesi için önemlidir (5). Bu besinler tarafından hücrelerin sürekli ve aşırı şekilde uyarılması hücrelerin fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilmektedir (5). Pankreas beta hücreleri besin maddelerince sürekli ve aşırı uyarıldığında, ROR birikimi detoksifikasyon sistemlerini alt üst ederek hücre fonksiyon kayıplarına yol açabilmektedir (109). Pankreasın beta hücresi hücre zarı sitozol de bulunan ATP/ADP oranına duyarlı çok sayıda K-ATP kanalı içerir. Gıda alımını takiben hücrede metabolize olan glukoz ATP/ADP oranına duyarlılığı artırarak pankreas beta hücrelerinden insülin salgılatır. Pankreas beta hücrelerinin mitokondri zarında bulunan UCP2' nin insülin salınımında potansiyel düzenleyici olduğu bilinmektedir (110,111).

Çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile oluşturulan obez hayvan modelinin pankreas dokularında Ucp2 gen ifade düzeyi analiz edilerek kontrol grubuna kıyasla obez grubunda 1.08 anlamlı olmayan bir artış gösterdiği belirlendi (p=0.97).

Diğer bir yandan yüksek yağlı diyet ile oluşturulan obezitede pankreasın fizyolojik işlevlerinden biri olan kan glikoz düzeylerinin düzenlenme mekanizmalarındaki değişimleri saptamak için açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Kontrol ve obez gruplarında açlık kan glikoz seviyelerinin ölçümleri sonucunda, obez hayvan modeli oluşturulan grupta deney başlangıcına göre anlamlı bir artış olduğu saptandı (p=0.0001). Ancak obez grubunda kontrol grubuna kıyasla çok daha fazla bir artış olduğu görüldü. Pankreas dokularında Ucp2 gen ifade düzeyinde anlamlı bir artış ile açlık kan glikoz düzeylerinde de bir artış olduğu saptandı.

Literatürde pankreas Langerhans adacık hücre mitokondrilerinde adeno-virus aracılığı ile UCP2 gen ifadesinin artırılması ile ATP üretiminde ve de insulin salınımında azalma olduğu bildirilmiştir (112,113,114). Prediyabetik dönemde ise pankreas beta hücrelerinde bozulmuş insülin salınımı ile artmış UCP2 düzeyi ilişkili bulunmuştur (115). Diğer taraftan UCP2 gen delesyonu olan farelerde insulin salınımı artmış ve açlık kan glukozu azalmıştır (116,117). Ayrıca insülin salgılayan hücrelerde UCP2' nin ifadesinin, özellikle oksidatif strese bağlı olarak stres koşulları tarafından uyarıldığı bildirilmiştir (118). İnsülin hormonunun mutlak ya da göreceli eksikliği sonucunda, hiperglisemi ile seyreden diabetes mellitus oluşmaktadır. STZ' nin yüksek derecede spesifik diabetojenik etkisi ilk kez Rakieten tarafından rapor edilmiştir. STZ' nin diabetojenik etki mekanizması için en fazla benimsenen teori, reaktif oksijen radikallerinin (ROR) salınımıyla ilgilidir. Ortama salınan ROR' lar DNA kırılımına neden olur. DNA' yı tamir amacı ile aktive olan poli (ADP-riboz) sentetaz enziminin intrasellüler NAD' ın moleküllerini kullandığı ve β hücrelerinde NAD düzeyinin patolojik sınırlara inmesinin hücreyi nekroza götürdüğü bildirilmektedir(5).

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma, dokularda oksidan-antioksidan dengesinin sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir. Yapılan birçok çalışmada obezlerde E vitamini, C vitamini, karotenler, fitokimyasallar, çinko, bakır, selenyum, SOD, CAT ve GPx obez olmayan bireylere göre daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle obezlerde antioksidan savunma yetersizliği ortaya çıkmaktadır (119).

Ucp2 gen ifade düzeyi ve açlık kan glikoz seviyeleri arasında ilişkinin daha iyi anlaşılması için insülin hormonu ve antioksidan enzim seviyelerine bakılması destekleyici olacaktır.

Aşırı kilonun ya da obezitenin, yetersiz bilişsel performans için birincil risk faktörü olmadığı varsayımı nedeniyle sinir sistemi üzerine etkileri hakkında literatür de pek fazla çalışma bulunmamakla beraber beyin fonksiyonlarına olan etkisi özellikle frontal lob kaynaklı azalmış bilişsel fonksiyon gibi nörobilişsel olaylarla ilişkilidir (120).

Ayrıca orta yaşlı ve yaşlı obez yetişkinler arasında yapılan motor hız testi, motor hızı ve el becerisi testler aracılığı ile performansta azalma ve yönetici işlevlerde bilişsel fonksiyon kaybı tespit edilmiştir (121). Bilişsel fonksiyon kaybının yanı sıra beyinde hacimsel olarak azalma, bunama, Alzheimer, sosyopati, saldırgan kişilik özellikleri, anksiyete, major depresif bozukluk, depresyon gibi psikolojik bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir (8). Özellikle iç organlardaki yağlanma, küçük hipokampus ve büyük ventriküler hacimle ilişkilendirilmektedir (7).

Sinir sistemi hücrelerinden glia ve nöronlar işlevleri gereği enerjiye daha fazla ihtiyaç duyarlar ve yüksek miktarda yağ içeriklerinden dolayı oksidatif stresin oluşturduğu hasarlara duyarlıdır ve bu hasarlara tepki olarak hızla programlı hücre ölümüne gider (122). Yüksek yağlı diyet, beyin oksidatif stres ve inflamatuvar sinyal oluşumuna yol açar (123). Diğer yandan yüksek glikoz uyarımı sonucu meydana gelen oksidatif stres durumunda da süper oksit anyonu ve proton yükü artar (124). Temel seviyedeki proton sızıntısına ek olarak proton yükünü azaltmak için süperoksit anyonları UCP'lerin ifadenmesini uyarır (124). Süperoksit tarafından uyarılan UCP2'nin bir antioksidan savunma olduğu düşünülmektedir(125,126). Mitokondrilerde ROR'nin üretiminde UCP2 bir uyarıcı görevindedir. UCP2 gen delesyonuna sahip olan farelerin makrofajlarında yüksek düzeyde ROR bulunmuştur (76). Nöronlarda iskemi ve oksidatif strese cevap olarak UCP2 ifadenmesi artmıştır (127). Ayrıca UCP2'nin Parkinson, felç gibi hastalıkların önlenmesinde ve serebral iskemiye takiben siniri korumada etkisi olduğu görülmüştür (128). Parkinson fare modelinde, UCP2 knockout farelerinin bir nörotoksin olan MPTP'ye (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) daha duyarlı olduğu bulunmuştur (86).

Mattiasson ve ark. tarafından ilk olarak, UCP2'nin iskemide önemli bir nöron koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir (86). Ayrıca UCP2 gen ifadesinde artış olan kortikal nöronlarda apoptotik sinyalin baskılandığı ortaya konulmuştur (127).

Lu ve ark. primer astrosit kültürlerinde UCP2 eksikliği veya inhibisyonu sonucunda, oksidatif strese yanıt olarak; IL-1 β üretimi ile hücre ölümünde artış olduğunu ve NLRP3 inflamazomların aktivasyonunu bildirmişlerdir (129).

Merkezi sinir sisteminde mikroglia hücreleri, enfeksiyon ya da hasarı algılamak için nöral savunma hücreleridir(129).De Simone ve ark. UCP2'nin mikroglia aktivasyon durumunu kontrol ettiği hipotezini desteklemişlerdir (130). Diğer bir yandan nöronlarda UCP2 ve UCP3'ün artmış ekspresyonunun glukozla uyarılmış ROR'nin oluşumunu ve mitokondriyal hiperpolarizasyonu önleyerek programlı hücre ölümünü bloke ettiği bulunmuştur (4).

Hipokampus, bağlamsal öğrenme ve hafıza süreçleriyle güçlü bir şekilde bağlantılı bir beyin yapısıdır(103). Ayrıca, hayvanlarda hipokampusta oluşan hasar uzamsal öğrenmeyi etkilemektedir ve bellekte bilgi depolanmasını içeren süreçlerde ciddi bozulmalar oluşur (131,132).

Bu tez çalışmasında yüksek yağlı diyet (%70 yağ) ile oluşturulan obez hayvan modelinde obezitenin öğrenme performansına olan etkileri ortaya koyabilmek için deney hayvanlarında mekânsal öğrenmeyi ve belleği ölçmek için kullanılan morris su tankı testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu birinci öğrenme deneyinde kaçış platformunun obez grubuna göre daha kısa sürede öğrenmiş ve kaçış platformuna daha kısa sürede çıkmıştır (Tablo 4.3). Aynı şekilde öğrenme düzeyini test etmek için yapılan 2.denemede ise obez grubunda 1.denemeye göre kaçış platformunu bulma süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptandı (Tablo 4.3) ($p=0.001$). Ancak kontrol grubuna süre bu azalışın çok az olduğu kanısına varılmıştır. Çünkü kontrol grubu 2.denemede 1.denemeye göre çok daha kısa bir sürede kaçış platformuna çıkmıştır.

Diğer yandan deney hayvanlarının morris su tankı protokolü boyunca kaçış platformunu bulmak için tank içerisindeki kadranda bulunma yoğunlukları vücut ısısına duyarlı kameralar ile kayıt altına alınarak ısı haritası oluşturuldu. Bu ısı haritalarında da kontrol ve obez grupları arasında farklılık olduğu saptanmıştır. Obez gruptaki hayvanlar tank içerisinde birçok kadranda dolaşarak kaçış platformuna çıkarken, kontrol grubu hayvanları kaçış platformuna yakın tank yüzeyine asılı ipuçları arasındaki kadranda dolaşarak kolay bir şekilde kaçış platformuna çıkmıştır. Bu ısı haritaları da kontrol grubunun obezlere göre mekânsal ipuçlarını daha iyi öğrendiğini göstermiştir.

Ucp2 geni ifade analizinde ise kontrol grubuna kıyasla obez grubu deney hayvanlarının hipokampuslarında Ucp2 gen ifadesinde 4.29 kat istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır ($p=0.05$).

Yüksek yağlı diyetle beslenmenin deney hayvanlarının hipokampus dokularında oksidatif strese yola açtığı ve Ucp2 gen ifadesindeki artışın, oluşan oksidatif stresi azaltmaya yönelik bir hücre sel yanıt olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Bu çalışmadaki öğrenme verileri ile genetik analizler karşılaştırıldığında ROR miktarını azaltmak için hücrelerin nöronal sağ kalımda önemli rolü olan Ucp2 gen ifadesi ile öğrenme performansı arasında negatif bir ilişki olabileceği sonucuna varılmıştır. Oksidatif stres ile Ucp2 arasındaki ilişkinin daha iyi analiz edebilmesi için daha sonraki araştırmalarımızda western-blot yöntemiyle Ucp2' nin protein seviyesinin tespit edilmesi ve SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan savunmada önemli enzim seviyelerinin belirlenmesi gibi parametrelerin değerlendirilmesi planlanmaktadır.



6 KAYNAKÇA

1. Annagür BB. Obezitede Çeşitli Risk Faktörleri ve Dürtüsellik. Risk Factors Impuls Obesity. Cur Appr N Psychiatry. 2010;2(4):572-582.
2. Dal B. Ege Obez Hasta Okulu anket çalışması : obezite ile obstrüktif uyku apne sendromu semptomları ve gündüz uykululuk ilişkisi Questionnaire survey of Ege Obese Patient School : Relationship between obesity and obstructive sleep apnea syndrome symptoms.J Med Updat. 2011;50(2):111–117.
3. Bilgili S, Karaca B. Tip-2 Diyabetik Hastalarda Obezite, İnsülin Direnci ve inflamasyon. SSK Tepecik Hast Derg. 2004;14(3):177-182
4. Özdoğan E, Özdoğan O, Altunoğlu EG, Köksal AR. Relationship of blood lipid levels with Hba1c and obesity in patients with type 2 diabetes mellitus. Şişli Etfal Hastan Tip Bul / Med. Bull Sisli Hosp. 2015;(4):248–254.
5. Li N, Stojanovski S, Maechler P. Mitochondrial Hormesis in Pancreatic β Cells: Does Uncoupling Protein 2 Play a Role? Oxid Med Cell Longev. 2012;2012:1-9
6. Erden Y, Tekin S, Kirbag S, Sandal S. Mitochondrial Uncoupling Proteins in the Brain: Their Structure, Function and Physiological Roles Beyindeki Mitokondriyal Eslesme Bozucu Proteinler: Yapisi, Islevi ve Fizyolojik Roller. Med Sci | Int Med J. 2015;4(2):228-229.
7. Wang C, Chan JSY, Ren L, Yan JH. Obesity Reduces Cognitive and Motor Functions across the Lifespan. Neural Plast. 2016; 2016: 247-308.
8. Macit S, Karadag M. Relationship between cognitive functioning impairment and nutrition in obesity: Current Perspective. J Marmara Univ Inst Heal Sci. 2014;4(4):1.
9. Miller AA, Spencer SJ. Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment. Brain Behav Immun. 2014;42:10–21.
10. Harvey RA. lippincott's biochemistry. 5th ed. Harvey RA ferrier denise, editör. chapter 26: lippincot williams&wilkins; 2011: p.349.

11. Aygun N. Obesity: Definition, Complications, Endocrine Control and Nutrition Therapy. *Med J Okmeydani Train Res Hosp.* 2014;30(Supplement 1):45–9.
12. Kahn C.Ronald, C Weir Gordon, L. King George ,M.Jacobson Alan Sr. *Joslin's Diabetes Mellitus.* 4. Edition. Chapter 31; 2005: p.533 .
13. National Heart Lung and Blood Institute, National Institutes of Health (NIH) National Heart, Lung, and Blood Institute N. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. The Evidence Report, NIH Publication No. 98-4083. *WMJ Off Publ State Med Soc Wisconsin.* 1998;158(Suppl 2):51–209.
14. Malafaia AB, Afonso P, Nassif N, Marcondes P, Ariede BL, Sue KN, vd. Obesity Induction With High Fat Sucrose in Rats. *Arq Bras Cir Dig.* 2013;26(Sup1):17–21.
15. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. *Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu.* 2014.
16. Nuttall FQ. Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review. *Nutr Today.* 2015;50(3):117–128.
17. Simson EL GR. The Lee Obesity Index vindicated? *Physiol Behav.* 29(2):371–376.
18. Barışkın PDE, Ersoy PDG. *Obezite İle Mücadele El Kitabı.* 1.baskı. ankara; 2013: p.22-23 .
19. Fox EA. A mechanism underlying mature-onset obesity: evidence from the hyperphagic phenotype of brain-derived neurotrophic factor mutants. *AJP Regul Integr Comp Physiol.* 2004;286(6):994–1004.
20. Killgore WDS, Young AD, Femia LA, Bogorodzki P, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Cortical and limbic activation during viewing of high- versus low-calorie foods. *Neuroimage.* 2003;19(4):1381–1394.
21. Hinney A, Vogel CIG, Hebebrand J. From monogenic to polygenic obesity: Recent advances. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2010;19(3):297–310.

22. Bruch H. Obesity in childhood and personality development. *Obes Res.* 1997;5(2):157–61.
23. Duman BS. Obezite Genetiği. *Türkiye Klinikleri J Med Sc.* 2009;9(2):1–5.
24. Loos RJJ. Recent progress in the genetics of common obesity. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;68(6):811–29.
25. Nur semerci dr. cavida. obezite ve genetik. *gülhane tıp Derg.* 2004;46:353–359.
26. Campbell L V. Genetics of obesity. *Aust Fam Physician.* 2017;46(7):456–459.
27. Chung WK1, Belfi K, Chua M, Wiley J, Mackintosh R, Nicolson M, Boozer CN LR. Heterozygosity for Lep(ob) or Lep(rdb) affects body composition and leptin homeostasis in adult mice. *am j physiol.* 1998;274:985–990.
28. Bell CG1, Walley AJ FP. the genetics of human obesity. *Nat reviews Genet.* 2005;6:221–234.
29. Farooqi IS1 OS. monogenic obesity in humans. *Annu Rev full text Artic.* 2005;443–458.
30. Chung WK. An overview of monogenic and syndromic obesities in humans. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58(1):122–128.
31. Bell CG, Walley AJ FP. The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet.* 2005;6((3)):221–234.
32. Alonso R, Farías M, Alvarez V, Cuevas A. The Genetics of Obesity. *Transl Cardiometabolic Genomic Med.* 2015;161–77.
33. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, vd. The human obesity gene map: The 2005 update. *Obesity.* 2006;14(4):529–644.
34. Singh RK, Kumar P, Mahalingam K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes Rendus - Biol.* 2017;340(2):87–108.
35. M. nelson david l. lehinger michael. lehinger biyokimya ilkeleri. 5.baskı. Murat elçin y.editör. oksidatif fosforillenme ve fotofosforillenme: palme; 2013.p.723-24

36. IS. F. Genetic and hereditary aspects of childhood obesity. *Best Pr Res Clin Endocrinol Metab.* 2005;19:359–374.
37. Pritchard LE, Turnbull A V., White A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: Impact on melanocortin signalling and obesity. *J Endocrinol.* 2002;172(3):411-21
38. Coll AP, Farooqi IS, Challis BG, Yeo GSH, O’Rahilly S. Proopiomelanocortin and energy balance: Insights from human and murine genetics. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2557–2562.
39. Krude H, Biebermann H, Schnabel D, Tansek MZ, Theunissen P, Mullis PE, vd. Obesity Due to Proopiomelanocortin Deficiency: Three New Cases and Treatment Trials with Thyroid Hormone and ACTH4-10. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4633–40.
40. Larder R, Lim CT, Coll AP. Genetic aspects of human obesity. 1. baskı. C. 124, *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier. 2014; p.93-106 .
41. Van Rossum CTM, Pijl H, Adan RAH, Hoebee B, Seidell JC. Polymorphisms in the NPY and AGRP genes and body fatness in Dutch adults. *Int J Obes.* 2006;30(10):1522–8.
42. Yang F, Tao YX. Functional characterization of nine novel naturally occurring human melanocortin-3 receptor mutations. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2012;1822(11):1752–1761.
43. Tao YX. The melanocortin-4 receptor: Physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr Rev.* 2010;31(4):506–543.
44. Huszar D1, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, Gu W, Kesterson RA, Boston BA, Cone RD, Smith FJ, Campfield LA, Burn P LF. targeted disruption od the malonocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell.* 1997;131–141.
45. J.C. Chambers, P. Elliott, D. Zabaneh, W. Zhang, Y. Li, P. Froguel, D. Balding, J. Scott JSK. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat Genet.* 2008;40:716–8.

46. Ichihara S, Yamada Y. Genetic factors for human obesity. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(7–8):1086–98.
47. R. Zurbano, M.C. Ochoa, M.J. Moreno-Aliaga, J.A. Martı́nez AM. Influence of the - 866G/A polymorphism of the UCP2 gene on an obese pediatric population. *Nutr Hosp.* 2006;21:52–56.
48. SERTER R. *Obezite Atlası.* 2003;3–99.
49. Fox SI. *Human physiology.* 12. baskı. Lange, Marty CHW, editör. New York; 2011. 341-42 .
50. Sembulingam K., Sembulingam prema. *Endocrine functions of pancreas.* İçinde: *esssential medical physiology.* 6. baskı JAYPE; 2012. s. 415–24.
51. Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *endocrine funtions of the pancreas regulation of carbonhydrate metabolism.* İçinde: *ganong’s review’s of medical physiology.* 24. baskı lango; 2012: 431–50.
52. Tortora GJ, Bryan D. *Principles of Anatomy and Physiology.* 12 ed. wiley; 2009. p. 669-672 .
53. Affourtit C, Brand MD. On the role of uncoupling protein-2 in pancreatic beta cells. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg.* 2008;1777(7–8):973–979.
54. Smith RAJ, Hartley RC, Murphy MP. Mitochondria-Targeted Small Molecule Therapeutics and Probes. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(12):3021–3038.
55. Wallace DC, Fan W, Procaccio V. *NIH Public Access.* 2011;297–348.
56. Mammucari C, Patron M, Granatiero V, Rizzuto R. Molecules and roles of mitochondrial calcium signaling. *BioFactors.* 2011;37(3):219–227.
57. Campell R. *genel biyoloji.* 6.baskı. gündüz erdinç, demirsoy ali ismail türkan, editör. hücre içine yolculuk; 2010:p.123.
58. Diano S, Horvath TL. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism. *Trends Mol Med.* 2012;18(1):52–58.
59. Aguilar Manuel Gutiérrez BCP. *Physiological and pathological roles of*

- mitochondrial SLC25 carriers. *Biochem J.* 2013;371–386.
60. Palmieri F. Mitochondrial transporters of the SLC25 family and associated diseases: A review. *J Inher Metab Dis.* 2014;37(4):565–575.
 61. Woyda-Ploszczyca AM, Jarmuszkiewicz W. The conserved regulation of mitochondrial uncoupling proteins: From unicellular eukaryotes to mammals. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg.* 2017;1858(1):21–33.
 62. Srivastava N, Prakash J, Lakhan R, Agarwal CG, Pant DC, Mittal B. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with obesity and hyperinsulinemia in northern Indians. *Mol Cell Biochem.* 2010;337(1–2):293–298.
 63. Klingenberg M AM. The uncoupling protein dimer can form a disulfide cross-link between the mobile C-terminal SH groups. *Eur J Biochem.* 1989;180(1):123–131.
 64. Bouillaud F, Alves-Guerra MC, Ricquier D. UCPs, at the interface between bioenergetics and metabolism. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2016;1863(10):2443–464.
 65. Zhang CM, Zhang M, Zhu JG, Ji CB, Zhu C, Kou CZ, vd. Short Report: Tissue-specific Expression Profiles of the Uncoupling Protein Family in Normal Control Mice and Genetically ob/ob Mice. *J Bioenerg Biomembr.* 2010;42(3):255–259.
 66. ucp2. [Electronic Journal]. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7351>) Temmuz,2018.
 67. Garlid KD, Jaburek M JP et al. How do uncoupling proteins uncouple? *Biochim Biophys Acta.* 2000;1459:383–389.
 68. Cell S, Normal Q. PLURIPOTENT STEM CELLS UCP2 Regulates Embryonic Neurogenesis via ROS-Mediated Yap Alternation in the Developing Neocortex. 2017;1479–492.
 69. Bouillaud F. UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg.* 2009;1787(5):377–383.

70. Negre-Salvayre A, Hirtz C, Carrera G, Cazenave R, Troly M, Salvayre R, vd. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *Faseb J.* 1997;11(10):809–815.
71. Cardoso S, Correia S, Carvalho C, Candeias E, Plácido AI, Duarte AI, vd. Perspectives on mitochondrial uncoupling proteins-mediated neuroprotection. *J Bioenerg Biomembr.* 2014;47(1–2):119–131.
72. Produit-Zengaffinen N, Davis-Lameloise N, Perreten H, Bécard D, Gjinovci A, Keller PA, vd. Increasing uncoupling protein-2 in pancreatic beta cells does not alter glucose-induced insulin secretion but decreases production of reactive oxygen species. *Diabetologia.* 2007;50(1):84–93.
73. West JB. *Highlighted Topics.* 2000;(25):2483–2489.
74. JA, Harper JA, Brindle KM, Jekabsons MB BMS. Physiological levels of mammalian uncoupling protein 2 do not uncouple yeast mitochondria. *J Biol Chem.* 276:18633– 18639.
75. Nègre-Salvayre A1, Hirtz C, Carrera G, Cazenave R, Troly M, Salvayre R, Pénicaud L CL. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *FASEB J* 1. 1997;Aug;11(10):809-815.
76. Arsenijevic D, Onuma H PC et al. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet.* 2000;26:435–439.
77. Mailloux RJ, Harper ME. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(6):1106–1115.
78. Lowell, B. B., and Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* (80-). 307:384–387.
79. Mailloux RJ, Fu A, Robson-Doucette C, Allister EM, Wheeler MB, Screatton R, vd. Glutathionylation state of uncoupling protein-2 and the control of glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem.* 2012;287(47):39673–85.
80. P. Maechler and C. B. Wollheim. Mitochondrial function in normal and diabetic

- β -cells. *Nature*. 2001;414,:807–812,.
81. Ma ZA, Zhao Z, Turk J. Mitochondrial dysfunction and β -cell failure in type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res*. 2012;1-11.
 82. Zhang, C. Y., Parton, L. E., Ye, C. P., Krauss, S., Shen, R., Lin, C. T., Porco, J. A., Jr., and Lowell BB. Genipin inhibits UCP2-mediated proton leak and acutely reverses obesity- and high glucose-induced beta cell dysfunction in isolated pancreatic islets. *Cell Metab*. 2006 Jun;3(6):417-427.
 83. Rette CA1, Sultan S, Allister EM, Wikstrom JD, Koshkin V, Bhattacharjee A, Prentice KJ, Sereda SB, Shirihai OS WM obso.-D. Beta-cell uncoupling protein 2 regulates reactive oxygen species production, which influences both insulin and glucagon secretion. *Diabetes*. 2011;Nov;60(11):2710–2719.
 84. Liu W-C, Lai S-J. A synonymous mutation of uncoupling protein 2 (UCP2) gene is associated with growth performance, carcass characteristics and meat quality in rabbits. *J Anim Sci Technol*. 2016;58(1):3.
 85. Listening to Leptin: Regulation of Metabolic Enzymes in Transgenic Mice. [ElectronicJournal].https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1045/mod_resource/content/1/6.%20Pankreas%20fzyp.pdf.16.06.2018
 86. Andrews ZB, Diano S, Horvath TL. Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: In support of function and survival. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(11):829–840.
 87. Nicholls DG WM. Mitochondrial membrane potential and neuronal glutamate excitotoxicity: mortality and millivolts. *Trends Neurosci*. 2000;23(4):166–174.
 88. Patrylo P, Yang L, Beal MF, Barnstable CJ, Horvath TL, Diano S MR. Uncoupling protein 2 prevents neuronal death including that occurring during seizures: a mechanism for preconditioning. *Endocrinology*. 144(11):5014–521.
 89. Coppola A, Liu ZW, Andrews ZB, Paradis E, Roy MC, Friedman JM RD, Richard D, Horvath TL, Gao XB DS. A central thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T3 and UCP2. 2007;5(1):21-33. *Cell Metab*. 2007;5(1):21–33.

90. Andrews ZB, Diano S HT. Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: In support of function and survival. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:829–840.
91. arthur c. guyton M.D. john E hal. PD. Tıbbi Fizyoloji. 11.basım. Çavuşoğlu H, çağlayan yeğen B, editörler. nobel; 2007.p. 556-557.
92. Barrett-Connor E, Barman SM, Boitano S. Learning, memory. İçinde: Ganong's Review of Medical Physiology. 24. lango; 2012. p. 283–91.
93. Sharma S, Rakoczy S, Brown-Borg H. Assessment of spatial memory in mice. *Life Sci.* 2010;87(17–18):521–36.
94. Sembulingam K., Sembulingam prema. Higher inteccual funtions. İçinde: Essentials of Medical Physiology, Jaypee Brothers medical. 6. india: LTD; 2012 : p.937.
95. Siverthorn D, Volker K. Human Physiology An Integrated Approach. inc: pearson; 2012. p.315 .
96. Squire LR, Bloom FE, Spitzer NC, Lac S du, Ghosh A, Berg D. Fundamental Neuroscience. *Fundamental Neuroscience.* 2008. p.1127 .
97. Engin AO, Calapoğlu M, Gürbüzöğlü S. Uzun Süreli Bellek ve Öğrenme. *Sos Bilim Enstitüsü.* 2008;(2):251–62.
98. Costanze linda s. Neurophysiology. İçinde: crystal taylor, editör. *BRS Physiology.* 6. michael tully; 2001. p. 55.
99. Squire LR, Zola SM. Episodic memory, semantic memory, and amnesia. *Hippocampus.* 1998;8(3):205–11.
100. Kaptan Z, Üzüm G. Erişkin Hipokampal Nörogenezin Öğrenme ve Hafıza Fonksiyonlarındaki Rolü The Role of Adult Hippocampal Neurogenesis in Learning and Memory Function. 2016;149–55.
101. Schacter DL, Gilbert DT WD. Semantic and episodic memory. İçinde: *Psychology.* 2nd ed. New York; 2011: 240–241.
102. İzci Y, Erbaş YC. Hipokampus : Yapısı ve Fonksiyonları *Hippocampus : Its Structure and Functions.* 2015;287–295.

103. Kanoski SE. Cognitive and neuronal systems underlying obesity. *Physiology and Behavior*. 2012. Jun 6;106(3):337-344.
104. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001;36(1):60-90
105. Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Da Silva WC, Medina JH, vd. The connection between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain: a review of recent findings. *Neurotox Res*. 2006;10(2):113–121.
106. Morris R. Developments of a watermaze procedure for studying spatial learning in the rat. *Neurosci Methods*. 1984;(11):47–60.
107. Alvin V. Terry J. Spatial Navigation (Water Maze) Tasks. İçinde: *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2nd ed..editor. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. Chapter 13. *Frontiers in Neuroscience*.
108. Mehmet GÜNAL. Türkiye Sağlık Araştırması , 2016. Türkiye İstatistik Kurumu Haber Bülteni. 2017;(18854):19–21.
109. R. PR. P. Robertson, J. Harmon, P. O. T. Tran, and V. Poitout . β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53:119–124,.
110. Krauss S, Zhang CY, Scorrano L, Dalgaard LT, St-Pierre J GS et al. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. *Clin Invest*. 2003;112(12):1831-1832.
111. Chan CB KN. Regulation of insulin secretion by uncoupling protein. *Biochem Soc Trans*. 2006;34:802-805.
112. Zhang CY, Baffy, G, Perret P, Krauss S, Peroni O GD et al. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, β -cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell*. 2001;105:745-755.
113. Hong Y, Fink BD, Dillon JS SW. Effects of adenoviral overexpression of uncoupling protein-2 and -3 on mitochondrial respiration in insulinoma cells. *Endocrinology*. 2001;142(1):249-256.

114. Jang BC, Bae JH, Sohn JN, Bae JH, Suh YH, Kim SY, Lee HY. Overexpression of short heterodimer partner recovers impaired glucose-stimulated insulin secretion of pancreatic beta-cells overexpressing UCP2. *J Endocrinol.* 2004;183(1):133-144.
115. Dalgaard LT, PO. Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and type II diabetes. *Diabetologia.* 2001;44:946-965.
116. Chan CB, Saleh MC, Koshkin V, WM. Uncoupling protein 2 and islet function. *Diabetes.* 2004;53:13-142.
117. Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, GD et al. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell.* 2001;105(6):745-755.
118. Li N, Karaca M, Maechler P. Upregulation of UCP2 in beta-cells confers partial protection against both oxidative stress and glucotoxicity. *Redox Biol.* 2017;13:541-549.
119. Vincent HK, TA. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes.* 2006;3:400-418.
120. Cserjési R, Luminet O, Poncelet AS, Lénárd L. Altered executive function in obesity. Exploration of the role of affective states on cognitive abilities. *Appetite.* 2009;52(2):535-539.
121. Li Y, Dai Q, Jackson JC, Zhang J. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. *Obesity.* 2008;16(8):1809-1815.
122. Vincent AM, Brownlee M, RJ. Oxidative stress and programmed cell death in diabetic neuropathy. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;959:368-383.
123. C. L. White, P. J. Pistell, MNP et al. Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: contributions of maternal. *Neurobiol Dis.* 2009;35:3-13.
124. Ricquier D, Bouillaud F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J.* 2000;345(2):161-179.

125. Echtay KS, Murphy MP, Smith RA, Talbot DA, Brandt BM. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein. *Nature*. 2002;415:96–99.
126. Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grubic D, et al. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell*. 2001;105(6):745–755.
127. Mattiasson G, Shamloo M, Gido G, Mathi K, Tomasevic G, YS et al. Uncoupling protein-2 prevents neuronal death and diminishes brain dysfunction after stroke and brain trauma. *Nat Med*. 2003; Aug;9(8):1062-1068.
128. Boru UT, Alp R, Sargin H, Kocer A, Sargin M, Luleci A, YA. Prevalence of peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients attending a diabetes center in Turkey. *Endocr J*. 2004; 51(6):563-567.
129. Hass DT, Barnstable CJ. Uncoupling protein 2 in the glial response to stress: Implications for neuroprotection. *Neural Regen Res*. 2016;11(8):1197–1200.
130. De Simone R, Ajmone-Cat MA, Pandolfi M, Bernardo A, De Nuccio C, Minghetti L, et al. The mitochondrial uncoupling protein-2 is a master regulator of both M1 and M2 microglial responses. *J Neurochem*. 2015;135(1):147–156.
131. Myers CE, GM. Context, conditioning, and hippocampal rerepresentation in animal learning. *Behav Neurosci*. 1994 Oct;108(5):835-847.
132. Honey RC, W-RJ. Transfer between contextual conditional discriminations: an examination of how stimulus conjunctions are represented. *J Exp Psychol Anim Behav Process*. 2001 Jul; 27(3):196–205.

ÖZGEÇMİŞ

1993 Gaziantep doğumludur. İlköğretim, ortaöğretim ve lise eğitimini Gaziantep'te tamamlamıştır. 2011-2015 yılları arasında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü okumuştur. 2015 yılı güz döneminde Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.





T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
UNIVERSITY OF GAZİANTEP



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI
RESEARCH APPLICATION CONSENT

TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)
07.06.2017	6	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Obez Sıçan Modelinde Pankreas ve Hipokampus Dokularında UCP2 Gen Analizi
	Başvuru Tarihi Application Date	31.05.2017
	Protokol no Protocol no	34

KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2017/18	Decision No: 2017/18
	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul (Accepted)	<input type="checkbox"/> Red (Not Accepted)

Yürütücü Coordinator	Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
-------------------------	--

ETİK KURUL BİLGİLERİ	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ
----------------------	---

Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	H	KATILMADI
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	H	KATILMADI
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karslı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD.	H	H	KATILMADI
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsöyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır