



**SIÇANLARDA İNTRAPERİTONEAL
ADROPİN UYGULAMASININ BESİN
ALIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ersen ERASLAN

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR

Doktora Tezi – 2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İNTRAPERİTONEAL ADROPİN
UYGULAMASININ BESİN ALIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ersen ERASLAN

Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR

Doktora Tezi
2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA İNTRAPERİTONEAL ADROPİN
UYGULAMASININ BESİN ALIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ersen ERASLAN

Tez Savunma Tarihi : 05.01.2018

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mustafa GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Süleyman SANDAL (İnönü Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Fatih AKDEMİR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Suat TEKİN AYDIN (İnönü Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Adropin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları	3
2.2. Adropin Hormonu ile ilgili Hayvan Çalışmaları	3
2.3. Tiroid Hormonlarının Yapısı ve Fonksiyonları	6
2.4. Adiponektin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları.....	7
2.5. Glukagon Benzeri Peptid 1 Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları	8
2.6. Oksintomodulin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları.....	9
2.7. Ghrelin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları	10
2.8. Peptid Tirozin Tirozin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları.....	11
2.9. İnsülin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları	12
2.10. Leptin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları	13
3. MATERYAL ve METOT.....	15
3.1. Deney Hayvanları	15

3.2. Adropin Hormonunun Hazırlanması ve Enjeksiyonu.....	15
3.3. Deneyin sonlandırılması ve dokuların toplanması	16
3.4. Hormon Analizlerin Yapılması.....	16
3.5. Serum TG, LDL, HDL, Kolesterol ve Glukoz Düzeylerinin Fotometrik Yöntemler ile Belirlenmesi	17
3.6. Histopatolojik Analizler.....	17
3.7. İstatistiksel Analiz	20
4. BULGULAR.....	21
4.1. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkileri.....	21
4.2. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Kilo Değişimi Üzerine Etkileri	22
4.3. Adropin Uygulamasının Metabolik Parametreler Üzerine Etkileri.....	23
4.4. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Su Tüketimi Üzerine Etkileri	24
4.5. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Adiponektin Hormonu Üzerine Etkileri.....	25
4.6. Sıçanlara Adropin Uygulamasının OKS Hormonu Üzerine Etkileri.....	26
4.7. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Ghrelin Hormonu Üzerine Etkileri	27
4.8. Sıçanlara Adropin Uygulamasının GLP-1 Hormonu Üzerine Etkileri.....	28
4.9. Sıçanlara Adropin Uygulamasının PYY Hormonu Üzerine Etkileri.....	29
4.10.Sıçanlara Adropin Uygulamasının Leptin Hormonu Üzerine Etkileri	30
4.11.Sıçanlara Adropin Uygulamasının İnsülin Hormonu Üzerine Etkileri.....	31
4.12.Sıçanlara Adropin Uygulamasının Tiroid Bezi Üzerine Etkileri.....	32
4.13.Sıçanlara Adropin Uygulamasının TSH Hormonu Üzerine Etkileri	33
4.14.Sıçanlara Adropin Uygulamasının T3 Hormonu Üzerine Etkileri	34

4.15.Sıçanlara Adropin Uygulamasının T4 Hormonu Üzerine Etkileri	35
4.16.Sıçanlara Adropin Uygulamasının AİP Nöronları Üzerine Etkileri	36
4.17.Sıçanlara Adropin Uygulamasının NPY Nöronları Üzerine Etkileri.....	37
4.18. Sıçanlara Adropin Uygulamasının KADT Nöronları Üzerine Etkileri	38
4.19.Sıçanlara Adropin Uygulamasının POMK Nöronları Üzerine Etkileri	39
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR	45
EKLER	59
EK-1. ÖZ GEÇMİŞ	59
EK-2 ETİK KURUL ONAY FORMU	60

TEŞEKKÜR

Tez olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli destekleri ve katkıları ile tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında çalışmamın gerçekleştirilmesinde katkıları olan Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Ayhan TANYELİ'ne ve Arř. Gör. Dr. Mustafa Can GÜLER'e, biyokimyasal analizlerin yapılmasına katkısı olan Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Dr. Elif Polat'a, histopatolojik çalışmalardaki katkılarından dolayı Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Elif Polat'a, tez çalışmaları süresince bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine müteşekkirim. Bu çalışmayı destekleyen 2015/281-2015/39 numaraları ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüđüne, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Ersen ERASLAN

ÖZET

Sıçanlarda İntraperitoneal Adropin Uygulamasının Besin Alımı Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Beslenme davranışı, hipotalamik alandaki bazı nöronlar ve hormonal sinyaller ile kontrol edilmektedir. Adropin, enerji homeostazı ile ilişkili gen tarafından kodlanan anoreksik etkileri tanımlanmış peptid yapıda bir hormondur. Bu çalışmada adropin hormonunun, beslenme davranışı üzerine etkileri bazı hormon düzeyleri, hipotalamik nöron ekspresyonları ve çeşitli metabolik parametreler ile gıda tüketimi/kilo alımı/total su tüketimi ölçülerek araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada 40 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar eşit olarak 4 gruba (n=10) ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı, sham grubuna adropin çözümü verildi. Tedavi gruplarına ise 4 µg/kg ve 40 µg/kg dozlarda intraperitoneal adropin uygulandı. Çalışma 10 gün sürmüştür ve 11. gün hayvanlar dekapite edilerek ilgili dokular toplanmıştır.

Bulgular: Adropin uygulanan gruplarda serum örneklerinden ölçülen adiponektin, leptin ve PYY azalırken ghrelin, GLP-1 ve T3 düzeyleri arttı. OKS, TSH, T4 ve insülin düzeylerinde önemli değişiklikler saptanmadı. Gıda alımı ile ilişkili nöronların ekspresyonuna bakıldığında gruplar arasında önemli bir fark belirlenmedi. İlaç uygulanan gruplardaki hayvanlarda kilo kaybı, besin ve su tüketimde azalmalar bulundu. Adropin uygulaması glukoz ve trigliserit düzeyini azaltırken HDL düzeyini arttırmıştır. LDL ve kolesterol düzeyleri değişmemiştir.

Sonuç: Sonuçlarımız, adropin hormonunun beslenme davranışı ile ilgili merkezi ve periferik sinyaller üzerinde etkileri olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Adropin, Gıda alımı, Ghrelin, Hipotalamus, Leptin

ABSTRACT

Investigation On The Effects Of Intraperitoneal Adropin Application On The Food Intake Of Rats.

Purpose: Food intake is controlled by various neurons and peripheral signals in hypothalamic area. Adropin has a peptide structure, which is secreted by the gene associated with energy homeostasis, and its anorexic effects have been defined previously. In this study, the effects of adropin hormone on food intake behavior were investigated by checking the levels of some hormones, hypothalamic neuron expressions and various metabolic parameters, and, also by measuring the food consumption/weight gain/total water consumption.

Material and Method: Forty (40) Wistar Albino male rats were used in the study. The rats were separated into 4 equal groups (n=10). The control group did not receive any applications; and the sham control group was given adropin-dissolvent. Adropine was administered intraperitoneally to the treatment groups at doses of 4 μg / kg and 40 μg / kg. The study lasted 10 days. On the 11th day, the animals were decapitated, and relevant tissue samples were collected.

Findings: The adiponectin, leptin and PYY levels were measured from the serum samples in the group to which adropin was applied, and it was determined that these levels were decreased; and ghrelin, GLP-1 and T3 levels increased. No significant changes were detected in OKS, TSH, T4 and insulin levels. When the neuron expressions associated with food intake were evaluated, it was determined that there were no significant differences between the groups. In the animals which received adropin, there were decreases in food and water consumption, and in body loss. Applying adropin decreased the glucose and triglyceride levels, and increased the HDL level. LDL and cholesterol levels did not change.

Result: According to our results, adropin hormone has effects on nutrition behavior, on the center that is relevant to nutrition, and on peripheral signals.

Key Words: Adropin, Food intake, Ghrelin, Hypothalamus, Leptin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADR	:Adropin
AİP	:Agouti ilişkili protein
ARC	:Arkuat çekirdek
BAT	:Kahverengi yağ doku
KADT	:Kokain amfetamin düzenleyici traskript
DIO	:Diet ile indüklenen obezite
DMH	:Dorsomedial hipotalamus
DPP-4	: Dipeptidil peptidaz 4
GLP-1	:Glukagon benzeri peptit-1
GSHR	:Ghrelin reseptörü
HHT	: Hipotalamik hipofizier tiroid
INSR	:İnsülin reseptörü
ICV	: İntraserebral ventriküler
LHA	:Lateral hipotalamik alan
MC3R	:Melanokortin-3 reseptörü
MC4R	:Melanokortin-4 reseptörü
α-MSH	:Alfa-melanosit stimüle edici hormon
MSS	:Merkezi sinir sistemi

NPY	:Nöropeptid Y
OKS	:Oksintomodulin
PVN	:Paraventriküler çekirdek
POMK	:Proopiomelanokortin
PYY	:Peptit tirozin tirozin
TRH	:Tiroid serbestleştirici hormon
TSH	:Tiroid stimüle edici hormon
T3	:Triiyodotironin
T4	:Tiroksin
UCP-1	:Eşleşme bozucu protein-1
VMH	:Ventromedial nükleus
Y1R	:NPY reseptör 1
Y2R	:NPY reseptör 2
YYD	: Yüksek yağlı diet

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Gıda alımına katılan hipotalamik ve periferel sinyaller	2
Şekil 2.1. Enho mRNA sekansı	5
Şekil 2.2. Bazı memelilerde adropin aminoasit sekansı ve değışiklikleri	5
Şekil 4.1. Gruplardaki hayvanların ortalama tükettikleri yem miktarları.....	21
Şekil 4.2. Gruplardaki hayvanların ortalama ağırlık değışimleri	22
Şekil 4.3. Adropin uygulamalarının toplam su tüketimi üzerine etkileri	24
Şekil 4.4. Adropin uygulamalarının adiponektin seviyeleri üzerine etkileri.....	25
Şekil 4.5. Adropin uygulamalarının oksintomodulin seviyeleri üzerine etkileri.....	26
Şekil 4.6. Adropin uygulamalarının ghrelin seviyeleri üzerine etkileri.	27
Şekil 4.7. Adropin uygulamalarının GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri.....	28
Şekil 4.8. Adropin uygulamalarının PYY seviyeleri üzerine etkileri.....	29
Şekil 4.9. Adropin uygulamalarının leptin seviyeleri üzerine etkileri.....	30
Şekil 4.10. Adropin uygulamalarının insülin seviyeleri üzerine etkileri	31
Şekil 4.11. Adropin uygulamasının tiroid bezi üzerine etkileri.....	32
Şekil 4.12. Adropin uygulamalarının TSH seviyeleri üzerine etkileri	33
Şekil 4.13. Adropin uygulamalarının T3 seviyeleri üzerine etkileri	34
Şekil 4.14. Adropin uygulamalarının T4 seviyeleri üzerine etkileri	35
Şekil 4.15. Adropin uygulamasının AİP nöronları üzerine etkileri.....	36
Şekil 4.16. Adropin uygulamasının NPY nöronları üzerine etkileri	37
Şekil 4.17. Adropin uygulamasının KADT nöronları üzerine etkileri	38
Şekil 4.18. Adropin uygulamasının POMK nöronları üzerine etkileri.....	39

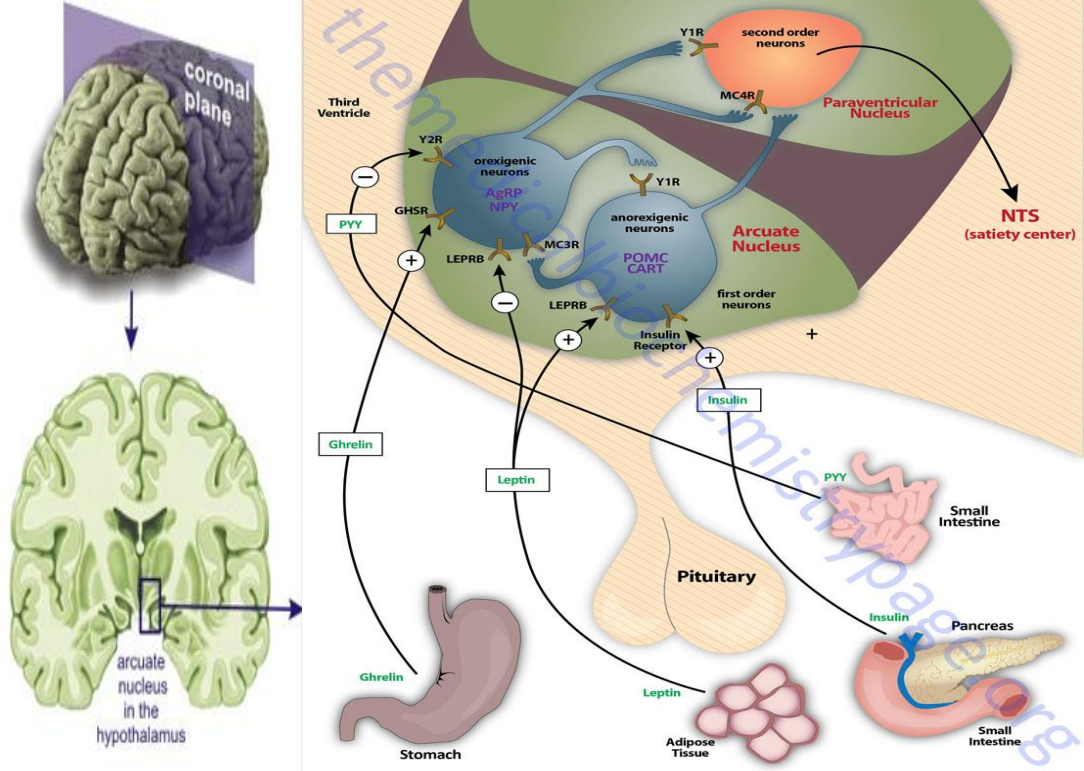
TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Hormon analizlerinde kullanılan elisa kitler.....	16
Tablo 3.2. Doku takip cihazı protokolü	17
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan antikorlar	19
Tablo 3.4. İmmünohistokimyasal işlemlerde kullanılan sarf malzemeler.....	19
Tablo 3.5. İmmünohistokimyasal takip protokolü.....	19
Tablo 4.1. Metabolik parametrelerin değişimi	23
Tablo 4.2. Adropin uygulamasının AİP nöron ekspresyonu üzerine etkileri.....	36
Tablo 4.3. Adropin uygulamasının NPY nöron ekspresyonu üzerine etkileri	37
Tablo 4.4. Adropin uygulamasının KADT nöron ekspresyonu üzerine etkileri	38
Tablo 4.5. Adropin uygulamasının POMK nöron ekspresyonu üzerine etkileri.....	39

1. GİRİŞ

Enerji homeostazı sıkı şekilde düzenlenen bir süreçtir, bu sürecin bileşenleri olan gıda alımı ve enerji tüketimi arasındaki dengesizlik, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, inme ve komorbiditeler için büyük bir risk faktörü olan obezite de dahil olmak üzere birçok metabolik bozukluğa neden olmaktadır. Enerji homeostazının düzenlenmesinde merkezi sinir sistemi (MSS) ve özellikle hipotalamus önemli bir rol oynar.^{1, 2} Hipotalamusta yer alan arkuat çekirdek (ARC), paraventriküler çekirdek (PVN), ventromedial nükleus (VMH), lateral hipotalamik alan (LHA) ve dorsomedial hipotalamus (DMH) gibi farklı çekirdekler nöronal bağlantıları paylaşır ve birlikte vücut homeostazını korurlar.³ Hipotalamusta yer alan arkuat nükleusta nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilişkili protein (AİP) nöronları ortak eksprese edilerek gıda alımını sağlarken, pro-opiomelanokortin (POMK) ve kokain amfetamin düzenleyici transkript (KADT) beslenmeyi baskılayan nöronlar olarak bulunur.

Adropin, 2008 yılında ABD’de bir çalışma ekibi tarafından enerji homeostazı ilişkili (Enho) genin bir ürünü olarak salgılanan peptid yapıda bir hormondur.⁴ Adropinin enerji homeostazının sürdürülmesine ve beslenme davranışı üzerine bazı etkileri belirlenmiştir. Adropin, başta MSS olmak üzere birçok organda eksprese edilmektedir.⁴ ⁵ Adropin ile ilgili ilk kanıtlar, obezite ve insülin direnci kaynaklı hastalıkların tedavisinde potansiyel bir yeni hormon olarak görev yapabileceğini göstermektedir. Adropinin özellikle MSS’de hipotalamik alanlarda ekspresyonu beslenme davranışı üzerinde önemli etkileri olabileceğini göstermektedir.⁴



Şekil 1.1. Gıda alımına katılan hipotalamik ve periferel sinyaller (Gıda alımına katılan hipotalamik ve periferel sinyaller. Ghrelin reseptörü (GSHR), İnsülin reseptörü (INSR), Leptin reseptörü (LepR), Nöropeptid Y (NPY), Agouti İlişkili Protein (AİP), Pro-opiomelanokortin (POMK), Kokain ve amfetamin düzenleyici transkript (KADT), alfa-Melanosit Stimüle Edici Hormon (α -MSH), melanokortin-3 reseptörü (MC3R), melanokortin-4 reseptörü (MC4R), NPY reseptörleri 1-2 (Y1R, Y2R), Paraventriküler Çekirdek (PVN) ve Arkuat Çekirdek (ARC) görülmektedir.⁶

Yapacağımız bu çalışmada sıçanlara farklı dozlarda adropin uygulanmasının yukarıda Şekil 1.1’de kısaca özetlenen beslenmenin hipotalamik ve periferel sinyaller ile enerji metabolizmasının düzenlenmesinde büyük önemi olan hipotalamik hipofizer tiroid aksına etkileri histolojik ve biyokimyasal olarak araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adropin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Adropin, 2008 yılında Kumar ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş olan ilk olarak karaciğer ve beyin dokularından izole edilmiş, 76 aminoasit içeren ve 4499.9 Da moleküler ağırlığa sahip lipid metabolizmasının düzenlenmesinden sorumlu metabolik bir hormon olarak tanımlanmıştır. "Adropin" terimi, iki latince kelime adura”(ateşe atmak) ve pinquis'in (katı ve sıvı (kökenli) yağlar) ilk üç harfini bir araya getirerek üretilmiştir. Adropin, enerji homeostazının ilgili geni (Enho) tarafından kodlanır (Şekil 2.1, Enho mRNA sekansı), besin miktarları ile düzenlenir ve enerji homeostazının sürdürülmesini sağlar.⁴ İnsan, fare ve sıçanlarda adropin amino asit dizileri %100 benzerdir (Şekil 2.2, bazı memelilerde adropin aminoasit sekansı ve değişiklikleri). Adropinin yarılanma ömrü henüz belirlenmemiş olmasına rağmen yaklaşık 3-30 dakika arasında olabileceği ifade edilmiştir. Kandaki normal adropin konsantrasyonu 3.1 ± 1.3 ng/ml⁷, 3.4-4.5 ng/ml arasında değişir.⁸ Stein ve ark.⁹ intraserebroventriküler (icv) yolla adropin hormonu uyguladıkları bir çalışmada, adropin uygulamasının su alımını baskıladığı ve bununla G-protein kenetli reseptör19 (GPR19) aracılığıyla olabileceğini öne sürmüşlerdir.

2.2. Adropin Hormonu ile ilgili Hayvan Çalışmaları

Adropin hormonunun beslenme davranışı üzerindeki etkilerini ilk olarak peptidi bulan grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Kumar ve ark. farelerde diyetle indüklenen obezite (DIO), yüksek yağlı diyet (YYD) veya genetik olarak indüklenen obezite sonucunda farelerin karaciğer dokularında Enho ekspresyonunda bir düşüş bulmuşlardır. Araştırmacılar, bu sıçanlara sistemik adropin uygulamasının karaciğer yağlanmasını

(hepatosteatoz) azalttığını rapor etmişlerdir. Adropin, lipid ve glikoz metabolizmasını düzenleyerek obezite ile ilişkili hiperinsülinemi ve hepatosteatozdan korur.

Lovren ve ark.¹⁰ tarafından farelerde gerçekleştirilen arka bacak iskemi modelinde adropin uygulamasının, damar endotelini koruyabileceği ve nitrik oksit sentetaz aktivitesini artırabileceği belirlenmiştir. Buna ek olarak endotel hücrelerinin geçirgenliğini azalttığı, vasküler proliferasyonu ve vasküler doku benzeri kılcal tüp oluşumunu artırdığı ayrıca tümör nekrozis faktör alfa ile indüklenen apoptozu azalttığı rapor edilmiştir.

Adropin nakavt fareler (Adr-Tg) kullanılarak yapılan bir deneyde, gıda alımı ve enerji harcamasının her ikisinin de normal olmasına rağmen, yağ dokusunun % 50 oranında arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda Adr-Tg farelerde, insülin direnci ile ilişkili olduğu ileri sürülen, hiperinsülinemik-öglisemik koşullarda dislipidemi ve endojen glikoz üretiminin bozulmuş olduğu gösterilmiştir. Bozulmuş glukoz toleransı kilo artışına neden olur. Dolaşımdaki adropin miktarı, diyetteki yağ içeriğindeki artışla orantılı olarak yükselir; yüksek adropin düzeyleri yüksek yağ ve düşük karbonhidratlı diyetle beslenen farelerde bulunurken, düşük yağ ve yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen farelerde daha düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir.¹¹

Normal ve kalori kısıtlı diyet ile 4 ve 20 hafta beslenen farelerde, adropin düzeyinin 4. haftada azaldığı ancak 20. haftada değişmediği gözlenmiştir.¹² Aşırı kilolu ve obez insanlarda adropin düzeyi ölçüldüğü zaman, erkeklerde adropin düzeyinin anlamlı olarak azaldığı, dişi bireylerde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca 30 yaş üzeri erkek ve dişi bireylerde adropin hormon düzeyinin anlamlı olmasa da azaldığı rapor edilmiştir.⁸ Vahşi tip (VT) ve Adr-Tg fareler ile yapılan diyet çalışmasında, gıdadan yoksun bırakılan farelerle kıyaslandığında normal beslenen farelerde serum adropin düzeyinin arttığı gösterilmiştir. YYD ile beslenen farelerin serum

adropin düzeyinin arttığı rapor edilmiştir. Düşük ve yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde ise YYD ile beslenen farelerin serum adropin düzeyinin arttığı rapor edilmiştir. Standart yem ile beslenen erkek ve dişi Adr-Tg farelerde yağ kütlesinin arttığı belirtilmiştir. Ayrıca Adr-Tg farelerde yağ metabolizmasında önemli rol oynayan stearyl-CoA desaturaz-1 (SCD1) ve sterol-düzenleyici element bağlama proteini-1C (SREBP1C) moleküllerinin ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir. Yüksek ve düşük yağlı diyet ile beslenen Adr-Tg farelerde insülin, glikoz ve trigliserit düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.¹¹

```

1 cccgttgccccggaccctctcgcggggcgcgcacccgggctcaactcaggcccaggactgca
61 ggtgggcatcttccctgccaagaagtcgctgtgtgtggacaggacagccaccttgatgg
121 ttggccaccccagagttgtgcctcggcatggccttgccgctgaggcagctccactgtct
181 gcgctggcctgaggggtgctgtctgtcatgggggcagccatctccaaggggctctcatcg
      M G A A I S Q G A L I
241 ccatcgtctgcaatggcctcgttaggcttcttctgtgctactgctctgggtcattctctgct
      A I V C N G L V G F L L L L W V I L C
301 gggcctgccattctcgatctgctgacgtcgattctctctcggaatccagtcccaactcca
      W A C H S R S A D V D S L S E S S P N S
361 gccctggccccctgtcctgagaaggcgcaccacccagaagccagccatgaaggcagct
      S P G P C P E K A P P P Q K P S H E G S
421 acctgctgcagccctgaagggctctggcctagcctggagtcctggacctgagtatacctg
      Y L L Q P *
481 agtcagagcgtggaatcggatccaagaagtcagtcggcctgggggtccagtcgatttgaca
541 ctggaccagcagcctagattgttagccagcctggctccaagagaggcctgagtgcccta
601 gagagaaaggcctggagggggggttaggagttggctagggccagggccatctggactc
661 tgctccatccaagggccaagggtgagtcctgccttccctaggctcagcacatctggg
721 ctccctaggttggggagcaaacgggaaccccatggcaataatgggaggggtgtccaggctg
781 ggccccttctctggtcctccactgtttgttgggaataaatggaactatggcttgcaa
841 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaa

```

Şekil 2.1. Enho mRNA sekansı

Human	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Chimpanzee	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Macaque	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Rat	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Mouse	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Horse	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRADVDSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Dog	MGAAISQGALIAIVCNGLVGFLLLLLWVILCWACHSRAD I DSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Pig	MGAAISQGALIAI I CNGLVGFLLLLLWVILCWACHSR SANI DSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP
Cow	MGAAL S QGALIAI I CNGLVGFLLLLLWVILCWACHSR SANI DSLSESSPNSSPGPCPEKAPPPQKPSHEGSYLLQP

Şekil 2.2. Bazı memelilerde adropin aminoasit sekansı ve değişiklikleri

2.3. Tiroid Hormonlarının Yapısı ve Fonksiyonları

Tiroid bezi, insan ve kemirgenlerde trakeanın yanlarında yer alan iki lobdan oluşur ve zengin damarlanma yapısına sahiptir.¹³ Tiroid hormonlarının sentezi, hipotalamusun paraventricüler çekirdeğindeki hipofizyotropik TRH nöronlarının biyosentezi ile başlar. TRH, hipofizden TSH sentezini ve salınımını uyarmak üzere medyan eminense taşınır ve buradan da hipofizyal portal sistem kapilleri içerisine serbestlenir.^{14, 15} TSH, dolaşımdaki tiroid hormon düzeyinin önemli bir düzenleyicisidir.¹⁶ TSH, tiroid bezinin endokrin fonksiyonunu G-protein kenetli TSHR reseptörü üzerinden kontrol eder. TSH, tiroid bezindeki foliküler hücrelerden tirozin aminoasidin öncülüğünde triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) hormonlarını sentezler. Tiroid bezinden sentezlenen bu hormonlar biyolojik olarak aktiftirler ve salgılanan tiroid hormonlarının yaklaşık %93'ü T4 ve geriye kalanı ise T3 formundadır.¹⁷ Bununla birlikte salgılanan T4'ün tamamına yakını dokularda T3'e dönüşmektedir. Bu iki hormonun işlevleri nitelik olarak aynı olmasına rağmen T4'e kıyasla T3 dört kat daha güçlüdür.¹⁷ Hipotalamus-hipofiz-tiroid aksının düzenlenmesi dolaşımdaki tiroid hormon miktarına bağlıdır ve negatif geri bildirim mekanizması ile çalışır. Vücut sıvılarında tiroid hormonlarının artması, ön hipofizden TSH salgısını azaltır. Ayrıca ön hipofizdeki TSH salgısını hipotalamustan sentezlenen somatostatin ve dopamin inhibe eder.¹⁸ Hipotalamik-hipofizer-tiroid aksı öncelikle tüm dokuların biyolojik fonksiyonu için gerekli olan tiroid hormon seviyelerini dolaşımda sabit tutma görevi görür. Buna ek olarak beyin gelişimi de dahil olmak üzere; kardiyovasküler sistem, kemik ve karaciğer fonksiyonlarının düzenlenmesi, gıda alımı ve enerji harcamasında rol alır.¹⁹

Tiroid hormonlarının oreksijenik etkileri ile ilgili çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. Arkuat nükleusta, nöronal popülasyonları düzenleyen iki farklı enerji homeostazı içerir. Bir alt popülasyon, anorektik nöropeptid α -MSH kodlayan POMK

genini eksprese eder. Diğer oreksijenik faktörler NPY ve AIP nöronlarını eksprese eder. T3'ün periferik uygulanmasının hipotalamik NPY mRNA'sını arttırdığını ve bir NPY Y1 reseptör antagonistinin icv uygulamasının T3 ile oluşturulan hiperfajiyi azalttığı ve T3'ün NPY yoluyla iştahı artırabileceğini düşündürdüğü bildirilmiştir. T3 uygulamasının hipotalamik POMK ekspresyonunu azalttığı da bildirilmiştir.²⁰ Tiroid hormonlarının gıda alımına etkisi direkt olarak ARC aracılı olamaz ancak T3'ün VMN'ye doğrudan enjeksiyonu sıçanlarda besin alımını artırır.²¹

2.4. Adiponektin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Adipoz doku tarafından üretilen ve salınan sitokinler arasında en bol bulunan adipokin, adiponektindir.²² Adiponektin yapısal olarak 244 amino asitten oluşan 28 kDa'lık bir proteindir.²² Fizyolojik olarak, adiponektin 5 ila 30 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda dolaşımda bulunmakta ve plazma proteinlerinin yaklaşık % 0.01'ini temsil etmektedir. Yağ dokusundan salınan adiponektin etkilerini reseptörleri olan AdipoR1 ve AdipoR2 ve T-cadherin'ne²³ bağlanması yoluyla etki eder.²⁴ Adiponektin reseptörleri birçok metabolik yolağı aktive edebilir. Bunlar başlıca: metabolik koşullar (adiponektin, açlık koşullarında bir gıdadan yoksun bırakma (tokluk) hormonu olarak kabul edilir, gıda alımını uyararak enerji tüketimini düşürür ve yağ depolamayı teşvik eder), enflamatuar ve oksidatif stres molekülleri ve bazı doku ve organlarda bağışıklık sisteminin aktivasyonu veya bastırılmasına yol açabilir.^{22, 25} Adiponektinin önemli etkilerinden biride glikoz ve lipid metabolizmasını düzenlenmesidir.²⁶ Genel olarak, adiponektinin inflamasyon ve insülin direncine karşı koruyucu etkisi, lipid ve temel karbonhidrat profillerini düzenleme kapasitesinden kaynaklanmaktadır.²⁷ Adiponektinin vasküler dokuyu modüle ettiği ve endotel hücre göçünü ve adezyonunu baskıladığı bilinmektedir.²⁸ Ek olarak adiponektin, kemik homeostazında anahtar rol oynamaktadır.²⁹

Adiponektin ve reseptörlerinin, sıçanlarda beslenme davranışı ve enerji homeostazının hipotalamik düzenlenmesinde yer alabileceğine dair kanıtlar oldukça fazladır. Adiponektin reseptörleri ARC'de bulunan özellikle NPY ve POMK nöronlarında yüksek düzeyde eksprese edilmektedir.^{30, 31} Adipor1 ve Adipor2'nin aynı nöronal popülasyonlardaki konumu, bu reseptörler ile NPY ve POMK ekspresyonu arasında muhtemel bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir.³² Adiponektinin ARC'de NPY/AİP nöronlarını baskıladığı bulunmuştur. Ayrıca, düşük glukoz düzeylerinde adiponektin, oreksijenik NPY nöronlarını inaktive eder ve anoreksijenik POMK nöronlarını aktive eder.³³

2.5. Glukagon Benzeri Peptid 1 Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1), bağırsaklardaki enteroendokrin L hücrelerinden sentezlenen ve salınan 31 amino asitten oluşan peptid yapıda bir hormondur.³⁴ Enteroendokrin L hücrelerinin, ileum ve distal kolonda baskın olduğu varsayılmaktadır.³⁵ GLP-1 aynı zamanda hipotalamik hücrelerden de sentezlenmektedir.³⁶ Bağırsak lümeninde besin varlığı ve aynı zamanda kullanımı nöral ve/veya endokrin mekanizmalar ile GLP-1 sekresyonunu uyarır.^{34, 37} GLP-1 gastrik boşalmayı inhibe ederek, gıda alımını azaltır ve postprandial glukagon sekresyonunu sınırlandırarak plazma glikoz seviyelerini ve vücut ağırlığını düşürür. Dolaşımda bulunan GLP-1, dipeptidil peptidaz 4 (DPP4) tarafından yıkılır ve etkisiz hale getirilir.^{38, 39} GLP-1 reseptörü (GLP-1R), basit bir yapıya sahip B sınıfı G-protein kenetli reseptördür (GPCR).⁴⁰ Glisemik kontrol üzerindeki etkilerine ek olarak, GLP-1 reseptör agonistlerinin, şeker hastalığı olmayan, aşırı kilolu veya obez bireylerde kilo ve vücut kitle indeksi ve bel çevresinde klinik olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.^{41, 42} Bu bulgu, potansiyel kilo kaybettiren ajan olarak GLP-1 reseptör agonistlerinin düşünülmesini sağlamıştır.⁴³

Bağırsak peptidlerinin aşırı kilolu veya obezite tedavisinde terapötik kullanımındaki en önemli gelişmeler GLP-1 ile yapılan çalışmalardır. Gastrik inhibitör peptid gibi GLP-1 ve diğer inkretinler bağırsak tarafından besin alımına yanıt olarak salgılanır. GLP-1, intestinal L-hücrelerinde ve pankreas β -hücrelerinde sentezlenen prekürsörkagon öncülünden türetilmiştir. Preproglukagon da, GLP-1'in iştah düzenlemesinde etkili olan primer alanlarda da olduğuna inanılmakta olan medulla oblongata ve hipotalamusta sentezlenir.⁴⁴ İnkretinler de insülin sekresyonunu artırır ve glukagon salınımını inhibe eder, böylece glikoz homeostazını korumaya yardımcı olur.³⁷

GLP-1 ve analoglarının kemirgenlerde yapılan çalışmalarda, iştah ve enerji alımının düzenlenmesinde rol oynayan POMK/KADT yolu ve NPY/AİP yolu gibi hipotalamustaki nöronal yolaklar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.⁴⁵ Farelerde nöronal GLP-1R'nin ablasyonunun liraglutid'in (GLP-1 analogu) gıda alımı ve vücut ağırlığı üzerindeki etkisini azalttığını, ancak liraglutid tedavisinin glukoz düşürücü etkisini etkilemediğini göstermiştir.⁴⁶ Buna destek olarak, sıçanlarda GLP-1'in icv uygulanmasının, NPY/AİP ekspresyonundaki artışı zayıflattığı ve ARC'de açlık tarafından tetiklenen POMK/KADT ekspresyonunun inhibisyonunu azalttığı gösterilmiştir.^{47, 48} Ayrıca elektrofizyolojik çalışmalarda GLP-1'in direkt olarak POMK/KADT hücrelerini uyardığı gösterilirken, GLP-1 de dolaylı bir mekanizma yoluyla ARC'deki oreksijenik NPY/AİP hücrelerini inhibe edebildiği gösterilmiştir.⁴⁵

2.6. Oksintomodulin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Oksintomodulin, preproglukagon öncüsünün işlenmesinden ortaya çıkan, 8 amino asitlik bir karboksi terminal uzantısıyla, glukagonun 29 amino asit dizisinin tamamını içeren^{49, 50} 37 amino asitlik, besin maddesi alımıyla orantılı olarak salgılanan bir peptiddir.⁵¹⁻⁵³ Proglukagonun işlenmesi, dokuya spesifiktir ve tek bir proteinden, dokuya bağlı olarak farklı hormonlar üretilmektedir. Pankreatik α -hücrelerinde, prohormon

konvertaz 2 (PC2) ağırlıklı olarak glukagon üretirken, jejunum, ileum ve kolondaki bağırsak L hücrelerinde PC 1/3 baskın olarak glisentin, OKS, GLP1 ve GLP2 üretir.^{51,54} GLP-1 gibi oksintomodulin de DPP-4 ve neprilysin tarafından inaktive edilir ve dolaşımdan hızla temizlenir.⁵⁵ OKS; gıda alımını baskılayarak obez hastalarda kilo kaybına neden olur ve enerji tüketimini artırır. GLP1 ve OKS'nin santral uygulamalarının anorektik etkiler ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Sıçanlara icv veya periferik olarak OKS uygulandığında, oksintomodulin gıda alımını azaltır, enerji tüketimini artırır ve vücut ağırlığındaki artış oranını azaltır.⁵⁶ İnsanlarda oksintomodulinin intra venöz infüzyonu gıda alımını azaltmaktadır,⁵⁷ tekrarlanan subkutan enjeksiyon, enerji harcamasını artırır ve obezlerde kilo kaybına neden olmaktadır.⁵⁸

Oksintomodulin, gıda alımı ve vücut ağırlığı düzenlemesindeki etkisi serum OKS düzeyi ile ilişkilidir. Dolaşımdaki OKS'nin, ARC içinde POMK nöronlarını aktive ederek hipotalamus ile doğrudan etkileşim yoluyla anorektik etkilere aracılık edebileceği rapor edilmiştir. Buna ek olarak periferik OKS uygulaması açlık plazma ghrelinini inhibe etmektedir.⁵⁹

2.7. Ghrelin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Masayasu Kojima ve ark.⁶⁰ 1999 yılında, ön hipofiz bezinden büyüme hormonu salınımını stimüle edebilen GHSR1a'nın endojen ligandı olarak grelin gastrointestinal peptid hormonunu keşfettiler. Ghrelin prekürsörü preproghrelin, 117 amino asit uzunluğundadır ve 28 pozisyonunda bir n-oktanoillenmiş serin ile 28 amino asitten oluşan grelin peptidini meydana getirir. 2000 yılında Mark Heiman ve ark.⁶¹ ghrelin'in besin alımını, vücut ağırlığını, yağlanmayı ve glikoz metabolizmasını düzenleyecek şekilde beyinde etkileri olduğunu keşfettiler. Ghrelin ekspresyonu iştahı kontrol eden önemli bir bölge olan hipotalamusun arkuat çekirdeğinde yüksek düzeyde bulunmuştur.⁶² Ghrelin'in oreksijenik sinirsel devrelerin aktivasyonu yoluyla sistemik metabolizmayı modüle ettiği

bulunmuştur.^{62, 63} Ghrelin, omurgalılarda büyüme hormonu sekresyonu, gıda alımı ve enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan çok yönlü bir hormondur.^{64, 65} Ghrelin aynı zamanda insülin salınımını uyarır ve büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin (PRL) salgılanmasını düzenler. Ayrıca, ghrelin, uyku, mide hareketleri, kardiyovasküler işlev gibi birçok fizyolojik fonksiyonun yanı sıra hücre proliferasyonu, pro-inflamatuar sitokinler ve glikoz üretimini de etkiler.^{66, 67} Ghrelin'in fare 3. ventriküle enjekte edilmesi, gıdaların alımını uyarmaktadır.⁶¹

Ghrelin, beslenme davranışı üzerindeki etkilerini arkuat çekirdekte bulunan NPY/AİP/GABA nöronları üzerindeki reseptörüne bağlanmasıyla gerçekleştirir. Ghrelin, NPY ve AİP genlerin ekspresyonunu artırır. NPY ve AİP, paraventriküler nükleusta (PVN) anoreksijenik nöronların aktivitesini inhibe eder ve aynı zamanda LHA'daki oreksijenik nöronları uyarır. Buna ek olarak, ghrelin aminobütirik asit vasıtasıyla POMK/KADT nöronlarının inhibisyonuna neden olur.^{68, 69}

2.8. Peptit Tirozin Tirozin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Peptit Tirozin Tirozin (PYY), domuz bağırsağından ilk izole edilen bağırsak hormonudur.⁷⁰ PYY ve ilgili peptitler NPY ve pankreatik polipeptit, 36 amino asitten oluşur ve biyolojik aktiviteleri, C terminalinde bir amid grubunun varlığına bağlıdır. Yetişkinlerde, midede enteroendokrin hücrelerde düşük seviyelerde PYY tespit edilebilir ve konsantrasyonu gastrointestinal sistem boyunca artar, böylece en yüksek ekspresyonu kolonik ve rektal L hücrelerinde bulunur, burada pro-glukagon ürünleri olan glicentin ve glukagon benzeri peptit ile birlikte bulunur. Plazma PYY seviyeleri, gıda alımı olmadığında en düşük seviyededir ve distal gastrointestinal sistemdeki besinlerin varlığına yanıt olarak, bir öğünün 30 dakikasında L hücrelerinden salınmaktadır.⁷¹ Maksimum PYY seviyeleri insanlarda postprandiyal 1-2 saat içinde görülür ve yükselmiş seviyeler 6 saate kadar korunur.⁷² Gıda alımını inhibe etmenin yanı sıra, PYY gastrik

boşalmayı geciktirir, bağırsak motilitesini inhibe eder, ileumdan sıvı ve elektrolit emilimini arttırır ve pankreatik sekresyonları azaltır.^{73, 74} Kemirgenler ile yapılan çalışmalarda intravenöz veya subkutan PYY infüzyonunun gıda alımını inhibe ettiği rapor edilmiştir.^{75, 76} PYY3-36'nın periferal uygulamasının etkileri Y2 reseptörü aracılığıyla ARC'de bulunan POMK nöronlarında c-fos ekspresyonunu indükleyerek gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Y2-R, ARC'de NPY nöronlarında bol miktarda eksprese edilen presinaptik bir inhibitör reseptördür⁷⁷ ve Y2R nakavt farelerde PYY3-36'nın anoreksik etkilerine dirençli olduğu gösterilmiştir.⁷⁸ Elektrofizyolojik çalışmalar, PYY3-36'nın NPY nöronlarını inhibe ettiğini ve POMK nöronal aktivitesi üzerindeki NPY nöronlarının önleyici etkilerini bloke ettiği rapor edilmiştir.⁷⁸ Başka bir çalışmada PYY3-36 ile indüklenen hipofajide NPY inhibisyonuna göre POMK sinir aktivitesinin daha belirgin bir rolü olduğu gösterilmiştir.⁷⁹

2.9. İnsülin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

İnsülin, pankreatik β -hücreleri tarafından üretilen 6000 dalton büyüklüğünde polipeptid yapıda bir hormondur. İnsülin iki aminoasit zincirinden oluşmaktadır. A kısa zinciri 21 aminoasit, B uzun zinciri ise 30 aminoasit içermektedir. Bu zincirler sistein rezidüleri arasında yer alan iki disülfür köprüsü ile bağlanmaktadır.⁸⁰ İnsülin hormonu, glikoz metabolizması ile ilişkilendirilmiştir ve yapılmış olan çalışmalar insülinin MSS'de anorektik bir sinyal olarak da rol oynadığını göstermektedir. Glikozla indüklenen insülin, yağ depoları ile orantılı olarak kan dolaşımına salınır⁸¹ ve beyne doğru hareket eder.⁸² İnsülin hormonunun icv veya intrahipotalamik uygulaması primatlara ve kemirgenlerde gıda alımını azaltır.^{83, 84} İnsülin reseptörü ve onun baskılanma mekanizması, iştah denetiminde yer alan hipotalamik bölgelerde ifade edilir^{85, 86} ve AİP ve POMK nöronlarında lokalizedir.³¹

Enerji homeostazı kontrolünde insülinin hipotalamik etkisi bu hormonun en önemli rollerinden biridir. İnsülin doğrudan arkuat mükleusta POMK/KADT nöronları ve AİP/NPY/GABA nöronlarında bulunan reseptörüne bağlanır. POMK/KADT nöronları, α -melanokortinin arttırılmış salınımıyla anoreksijenik nöronları uyarır. Buna ek olarak, insülin oreksijenik nöronlar üzerindeki POMK/KADT nöronlarının inhibitör etkisini arttırır ve anoreksijenik nöron gruplarını AİP/NPY/GABA inhibe eder. İnsülin'in etkisi ile arkuat nukleusta, uyarılmış anoreksijenik nöronlardan tokluk merkezine (NTS) gönderilen sinyaller tokluğa neden olur.^{87, 88}

2.10. Leptin Hormonunun Yapısı ve Fonksiyonları

Zhang ve ark.⁸⁹ tarafından 1994'te keşfedilen leptin obezite ile ilişkisi en çok araştırılan hormondur. Leptin, öncelikle adipositler tarafından salınan 16-kDa ağırlığında bir protein olarak tanımlanmıştır. Leptinin gıda alımı, enerji tüketimi ve nöroendokrin fonksiyonların düzenlenmesinde önemli roller oynadığı bilinmektedir.⁹⁰ Bu fonksiyonların gerçekleşmesi leptinin reseptörüne (LEPR) bağlanmasıyla gerçekleşir.⁹¹ LEPR, tek bir transmembran alanlı sitokin benzeri reseptör ailesine aittir.⁹¹ Leptin geninin mutasyonu, artan besin alımı, yüksek insülin ve insülin bağımlı olmayan diabetes mellitusta önemli obezite ile sonuçlanır. İnsanlarda nadir de olsa, leptin eksikliği artmış gıda alınımı, enerji tüketiminin azalması ve hiperinsülinemi gelişimi nedeniyle ciddi obeziteye neden olur.⁹² Buna karşılık leptin eksikliği bulunan insanlarda veya hayvanlarda leptinin verilmesi, aşırı beslenme ve obezitenin azalmasına neden olur.⁹² Bununla birlikte, vahşi tip hayvanlarda ve çoğu insanda obez bireylerde leptin seviyeleri vücut yağının artmasıyla birlikte artar ve bu obez bireylerde leptin direncine işaret eder.⁹⁰

Leptin yağ dokudan salgılanmasıyla birlikte arkuat çekirdekdeki reseptörüne bağlanır. Reseptör ObR, POMK/KADT nöronları ve AİP/NPY/GABA nöronları çevresinde bulunur. POMK/KADT nöronlarının leptin ile uyarılması sonucunda

anoreksijenik nöronlardan besin tokluk merkezine giden sinyaller PVN çevresinde reseptörüne (MC4-R) bağlanarak α -melanokortin salgılanmasına neden olur. POMK/KADT nöronları oreksijenik nöronları inhibe eder.^{87, 93}



3. MATERYAL ve METOT

Çalışma, Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM), ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafınca onaylanan (Protokol no:2017/65) çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, ortalama ağırlıkları 304 ± 11 g ağırlıklarında Wistar albino cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneye başlamadan önce bütün hayvanların ağırlıkları belirlendi. Hayvanlar vücut ağırlık ortalamaları birbirlerine en yakın olacak şekilde; kontrol grubu, sham grubuna 300 µl saf su, düşük doz adropin (4 µg/kg) grubu ve yüksek doz adropin (40 µg/kg) uygulanan grup olmak üzere dört gruba ayrıldı (n=10). Deney süresince hayvanlar 21 ± 1 °C sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık ortamda tutuldu. Sıçanlar *ad libitum* olarak standart sıçan yemi ile beslendiler ve normal musluk suyu içtiler.

3.2. Adropin Hormonunun Hazırlanması ve Enjeksiyonu

Çalışmada kullanılan adropin hormonu Phoenix pharmaceuticals'dan (USA) temin edilmiştir. Çalışma zamanına kadar uygun şartlar altında buzdolabında -20 °C'de saklanan adropin çalışma günü çıkarılarak saf suda çözülmüştür ve her gün için uygulanacak enjeksiyon miktarınca hazırlanmıştır.

Çalışmadaki enjeksiyon düzeyi, 300 g'lık bir hayvan için 300 µl enjeksiyon (10 g/10 µl) şekli kullanılmıştır. Sham grubuna 300 µl adropin çözücüsü, düşük ve yüksek doz adropin uygulanan gruplarda ise sırasıyla 4 µg/kg ve 40 µg/kg adropin hormonu saf suda çözülerek her gün aynı zaman dilimlerinde intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

3.3. Deneyin sonlandırılması ve dokuların toplanması

10 gün süren enjeksiyonlar sonunda hayvanlar dekapite edilerek; kan, hipotalamus ve tiroid bezi dokuları toplandı. Toplanan kan örnekleri 10 dakika süreyle 5000 rpm’de santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve ELISA kitler ile analizler yapılincaya kadar -80 °C’de saklandı. Hipotalamus ve tiroid bezi %10 formaldehitte histopatolojik çalışmalar için saklandı.

3.4. Hormon Analizlerinin Yapılması

Çalışmada kullanılan ELISA kitlere ait bilgiler Tablo 3.1’de sunulmuştur. ELISA kitler üretici firmaların protokollerine uygun şekilde ELISA okuma cihazında (ELISA, BioTEK powerwawe XS Winooski, U.K) analizleri yapılmıştır.

Tablo 3.1. Hormon analizlerinde kullanılan ELISA kitler

ELISA Kit Adı	Katalog Numarası	Marka/Üretim Yeri
Adiponektin	E-EL-R0329	Elabscience/Çin
Ghrelin	E-EL-R0842	Elabscience/Çin
Leptin	E-EL-R0582	Elabscience/Çin
İnsülin	E-EL-R2466	Elabscience/Çin
PYY	E-EL-R0720	Elabscience/Çin
GLP1	E-EL-R0059	Elabscience/Çin
OKS	E-EL-R1130	Elabscience/Çin
T3	E-EL-R1097	Elabscience/Çin
T4	E-EL-R0390	Elabscience/Çin
TSH	E-EL-R0976	Elabscience/Çin

3.5. Serum TG, LDL, HDL, Kolesterol ve Glukoz Düzeylerinin Fotometrik Yöntemler ile Belirlenmesi

TG, LDL, HDL, kolesterol ve glukoz düzeyleri fotometrik yöntem kullanılarak Cobas Integra 1600 tam otomatik biyokimya analizatör (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ile belirlendi.

3.6. Histopatolojik Analizler

Işık Mikroskopik İşlemleri

Hayvanlardan alınan doku örnekleri (hipotalamus ve tiroid dokuları), %10'luk formalin solüsyonuna alınarak 72 saat fiksasyon için bekletilmiş. Devamında doku takip işlemlerine tabi tutulmuştur. Bu amaçla doku örnekleri gruplara göre kasetleme yapıp otomatik takip cihazına konularak takip işlemi başlatılmıştır. Doku takip cihazı protokolü Tablo 3.2'deki gibidir.

Doku takibi tamamlanan numuneler parafin bloklara gömülerek ve mikrotomla (Leica RM2125RT/İngiltere) 5 µm'lik kesitler alınarak lamlara aktarılmıştır. Elde edilen kesitler hematoksilin-eozin (H&E) ve immünohistokimyasal boya ile boyanmıştır. Boyanmış preparatların mikroskopik fotoğraf görüntüleri aynı ışık ayarında fotoğraflanarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.2. Doku takip cihazı protokolü

Uygulama	Süre
Musluk suyunda yıkama	4 saat
%50 Alkol çözeltisi	2 saat
%70 Alkol çözeltisi	1 saat
%80 Alkol çözeltisi	1 saat
%96 Alkol çözeltisi	1 saat
%99 Alkol çözeltisi	1 saat

Tablo 3.2. (Devamı)

% 99 Alkol çözeltisi	1 saat
Ksilen çözeltisi	15 dakika
Ksilen çözeltisi	15 dakika
Ksilen çözeltisi	15 dakika
Yumuşak parafinde (49-56 °C)	1 saat
Sert parafinde (56-60 °C)	1 saat

Hematoksilen ve Eosin Boyama Protokolü

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 20 dakika 65 °C'de etüvde bekletilir. Parafinin tam olarak uzaklaştırılması için etüvden sonra 45 dakika ksilolde bekletildi. 5 dakikalık 2 ksilol serisinden sonra azalan alkol serilerinden geçirildi. %99'luk alkolde 5, %96'lık alkolde 5, %80'lik alkolde 5, %70 lik alkolde 5 ve son olarak %50'lik alkolde 5 dakika bekledikten sonra 5 dakika akan suda yıkanır.

Yıkamanın ardından mayers-hematoksilen boyasında 8 dakika bekletilir ve tekrar 5 dakika yıkama yapılır. Yıkamadan sonra boya tespit ve netleşmesi için bluing reaktifi solüsyonunda 45 saniye tutulur ve tekrar 5 dakika yıkanır. Yıkamanın ardından 8 dakika eozin Y solüsyonunda zıt boyama yapılır. Fazla boyanın giderilmesi için 5 kez mape daldır çıkar yapılarak %100'lük 2 alkol serisinde 5 dakika tutulur ve ardında 3 ksilol serisinde 5 dakika tutularak entellan kullanılarak lamelle lamlar kapatılır.

İmmunohistokimyasal Otomatik Boyama Protokolü

Parafin bloklardan mikrotom (Leica DSC2/ İngiltere) ile 5 µm'lik kesitler pozitif şarjlı cam lamlar üzerine alınır ve sonra ventana benchmark gx cihazı ile NPY, KADT, POMK ve AİP antikoları ile boyama yapıldı. Antikolar ile ilgili ürün bilgileri Tablo 3.3'de sunulmuştur. Tüm antikolar 1/100 oranında sulandırılarak kullanıldı. IHC

işlemlerinde kullanılan sarf malzemeler Tablo 3.4’de sunulmuştur. İmmünohistokimyasal takip protokolü Tablo 3.5’deki gibi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan antikolar

Ürün Adı	Katalog Numarası	Marka/Üretim Yeri
AİP	sc-517457	SantaCruz /(ABD)
KADT	sc-293241	SantaCruz /(ABD)
NPY	sc-14727	SantaCruz /(ABD)
POMK	sc-20148	SantaCruz /(ABD)

Tablo 3.4. İmmünohistokimyasal işlemlerde kullanılan sarf malzemeler

Ürün Adı	Katalog Numarası	Marka/Üretim Yeri
DAB görüntüleme tespit kiti	5266157	Ventana/(ABD)
Gelişmiş evrensel DAB tespit kit	5269806	Ventana/(ABD)
Büyütme kit	5266114	Ventana/(ABD)
Bluing reaktifi	5266769	Ventana/(ABD)
Hematoksilen	5266726	Ventana/(ABD)
Proteaz 1	5266688	Ventana/(ABD)
Endojen biyotin blokaj kiti	5266092	Ventana/(ABD)

Tablo 3.5. İmmünohistokimyasal takip protokolü

Kesitler 75°C’de 4 dakika inkübe edilir,
Ez Prep uygulanarak 4 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Ez Prep uygulanarak 4 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Ez Prep uygulanarak 4 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Kesitler 75 °C’de 4 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır (3 tekrar ile),

Tablo 3.5. (Devamı)

Kısa 8 dk iyileştirme 95 °C'de CC1 EZ Prep/CC1 uygulanarak 8 dakika inkübe edilir,
Yumuşak 30 dakika iyileştirme:100 °C'de EZ Prep/CC uygulanarak 30 dakika inkübe edilir,
Standart 60 dakika iyileştirme:100 °C'de EZ Prep/CC uygulanarak 60 dakika inkübe edilir,
Kesitler tepkime tamponu ile yıkanır,
Kesitler 37°C'de 2 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Gelişmiş (UV) inhibitör (%3 H ₂ O ₂) ile 4 dakika inkübe edilir,
Yükseltici A (NPY,KADT, POMK ve AİP) ile 8 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Yükseltici B ile 8 dakika inkübe edilir,
UV HRP Univ Mult ile 8 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır (3 tekrar ile),
UV DAB ve UV DAB H ₂ O ₂ ile 8 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
UV bakır ile 4 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Hematoksilen ile 8 dakika inkübe edilir,
Tepkime tamponu ile yıkanır,
Bluing reaktifi ile 4 dakika inkübe edilir
Tepkime tamponu ile yıkanır,
% 99 alkol'de 2 dakika bekletilir,
Ksilol'de 4 dakika bekletilir
Entellan ile kapatılır

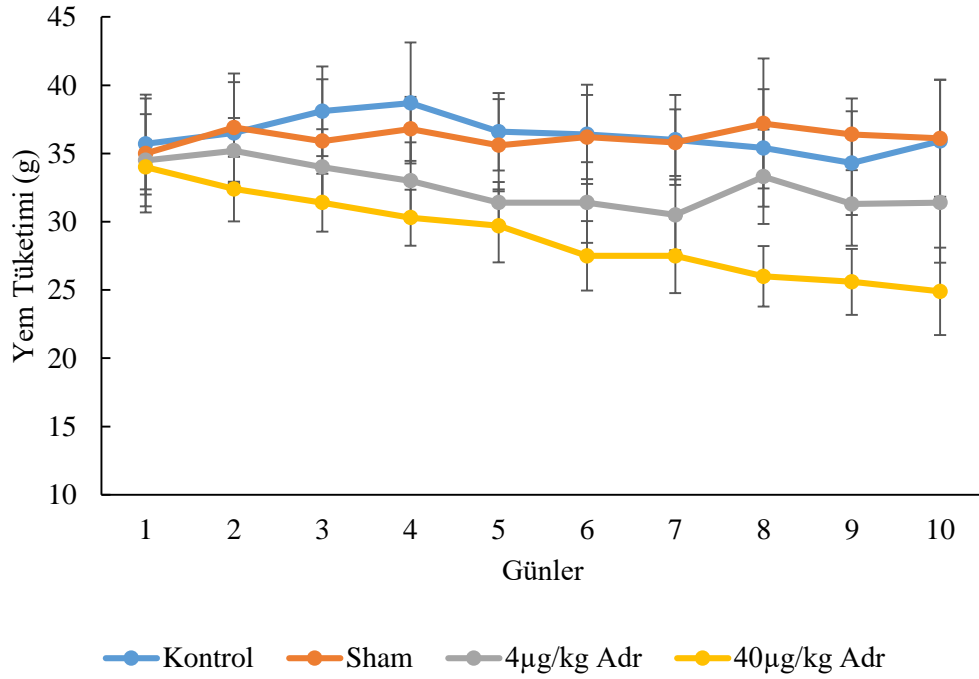
3.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS statistics 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin normalliği istatistiksel olarak değerlendirildi. Kan serumundan hormon seviyeleri bonferroni düzeltmeli tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkileri

Gruplardaki sıçanların ortalama günlük tükettikleri yem miktarları Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta 6. gün itibariyle yem tüketiminde önemli bir azalma tespit edilmiştir.

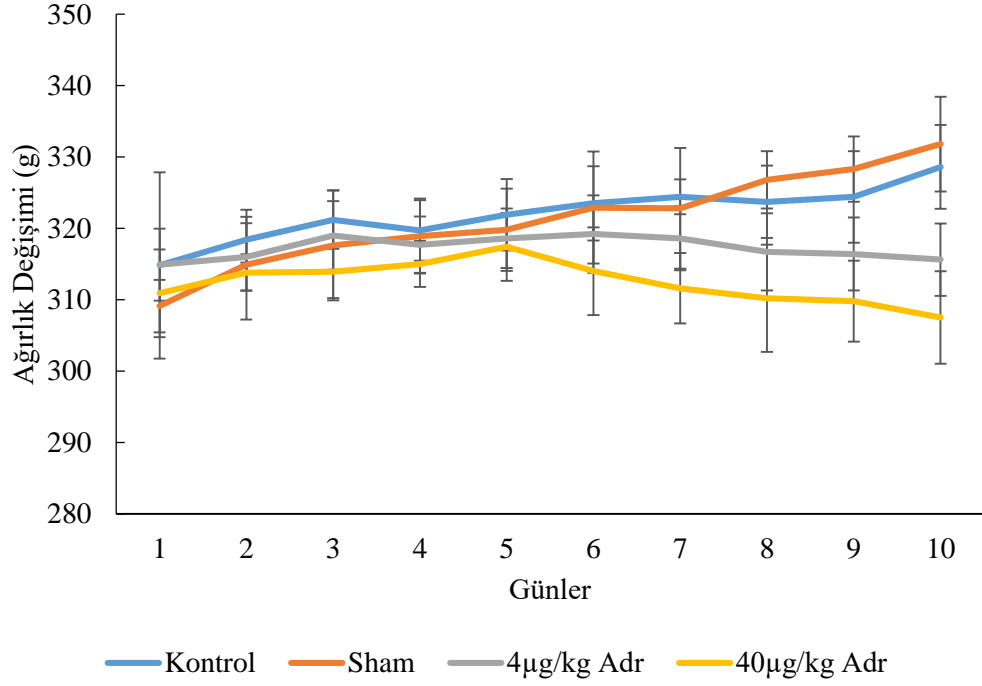


Şekil 4.1. Gruplardaki hayvanların ortalama tükettikleri yem miktarları

6.gün kontrol ve sham gruplarına kıyasla yüksek doz adropin uygulanan grup $p<0.01$. 7. gün kontrol ve sham gruplarına kıyasla yüksek doz adropin uygulanan grup $p<0.01$. 8. gün kontrol, sham ve düşük doz adropin uygulanan gruplara göre yüksek doz adropin uygulanan grup $p<0.001$. 9. gün kontrol sham ve düşük doz adropin uygulanan gruplara göre yüksek doz adropin uygulanan grup $p<0.001$. 10. gün kontrol/sham ve düşük doz adropin uygulanan gruplara göre yüksek doz adropin uygulanan grup $p<0.001$, $n=10$.

4.2. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Kilo Değişimi Üzerine Etkileri

Gruplardaki sıçanların ortalama günlük kilo değişimleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta 6. günden itibaren kilo kaybı gözlenmiştir.



Şekil 4.2. Gruplardaki hayvanların ortalama ağırlık değişimleri

6.gün kontrol grubuna kıyasla yüksek doz adropin $p<0.05$. 7.gün kontrol grubuna kıyasla yüksek doz adropin $p<0.001$. 8.gün kontrol grubuna kıyasla yüksek doz adropin $p<0.001$. 9.gün kontrol ve sham grubuna kıyasla yüksek doz adropin $p<0.001$, 10.gün kontrol/sham ve düşük doz adropin grubuna kıyasla yüksek doz adropin uygulanan grup sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.001$, $n=10$.

4.3. Adropin Uygulanmasının Metabolik Parametreler Üzerine Etkileri

Çalışma sonunda grupların serum örneklerinden ölçülen metabolik parametreler üzerine etkileri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Adropin uygulaması glukoz ve trigliserit düzeylerini artırırken, HDL düzeyini azaltmıştır. LDL ve kolesterol düzeylerinde anlamlı değişiklikler olmamıştır.

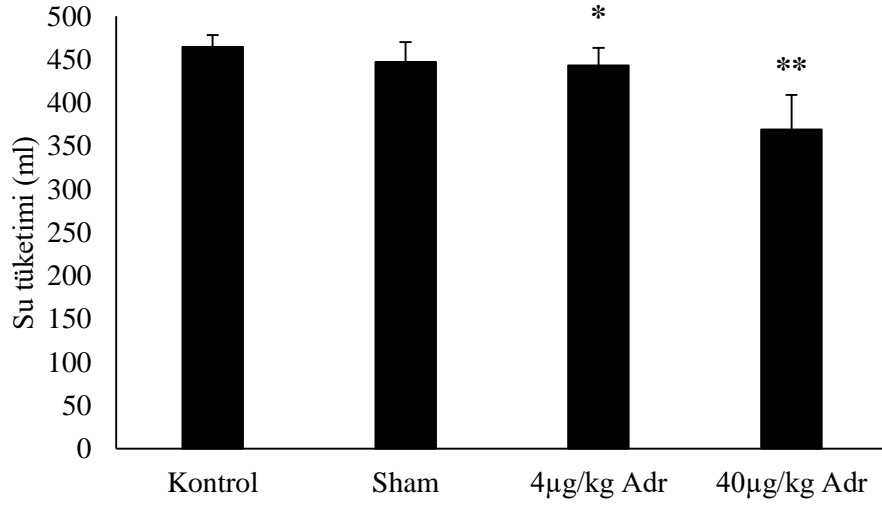
Tablo 4.1. Metabolik parametrelerin değişimi

Parametreler/Gruplar	Glukoz (mmol/dl)	LDL (ng/dl)	HDL (ng/dl)	Trigliserit (ng/dl)	Kolesterol (ng/dl)
Kontrol	157±5.1	11.85±2.3	37.40±6.4	34±5.1	67±7.1
Sham	161±4.4	11.25±1.9	38.30±7.1	33±2.9	71±4.9
4 µg/kg ADR	133±7.1*	11.00±2.3	34.15±6.5	27±6.3	63±2.6
40 µg/kg ADR	126±4.6**	10.00±1.1	42.55±6.6***	24±2.4**	61±4.8

Tabloda gruplar arası metabolik parametrelerin değişimleri gösterilmiştir. Glukoz düzeyi 4 µg/kg ADR (*p<0.005) ve 40 µg/kg (**p<0.01) uygulanan gruplarda azalmıştır. Trigliserit düzeyi 40 µg/kg ADR (**p<0.01) uygulanan grupta azalmıştır. HDL düzeyi 40 µg/kg ADR (***p<0.05) uygulanan grupta artmıştır. LDL ve kolesterol düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanmadı, n=10.

4.4. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Su Tüketimi Üzerine Etkileri

Gruplardaki sıçanların 10 gün sonunda tükettikleri toplam su miktarları Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Düşük ve yüksek doz adropin uygulanan gruplarda su tüketimi kontrol ve sham grubu kıyasla anlamlı olarak azalmıştır.



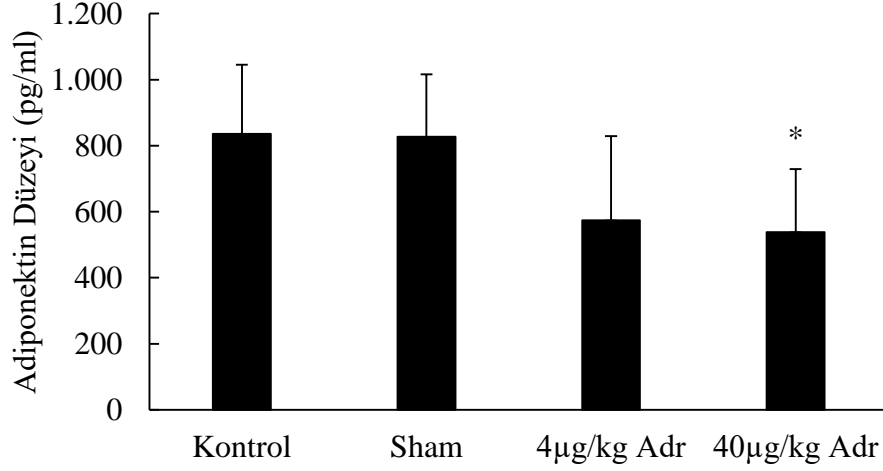
Şekil 4.3. Adropin uygulamalarının toplam su tüketimi üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, $n = 10$.

4.5. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Adiponektin Hormonu Üzerine

Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen adiponektin düzeyleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta serum adiponektin düzeyi azalmıştır.

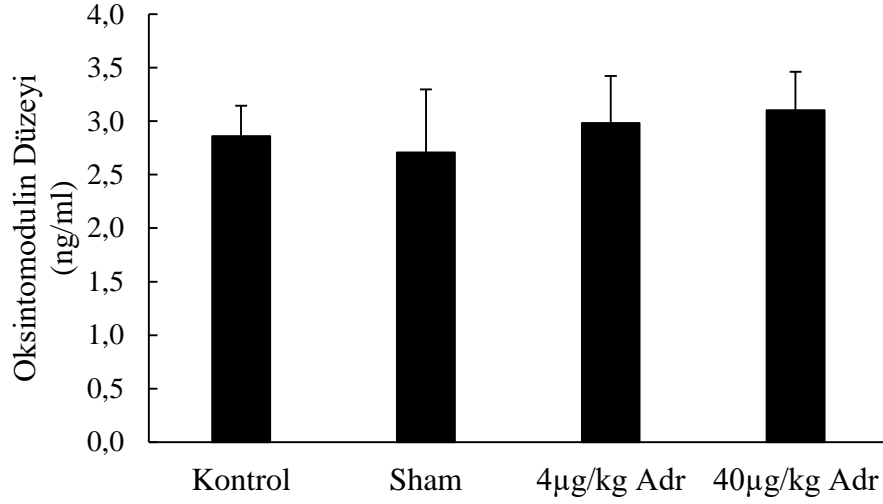


Şekil 4.4. Adropin uygulamalarının adiponektin seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.05$, $n=10$.

4.6. Sıçanlara Adropin Uygulamasının OKS Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen oksintomodulin düzeyleri Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.

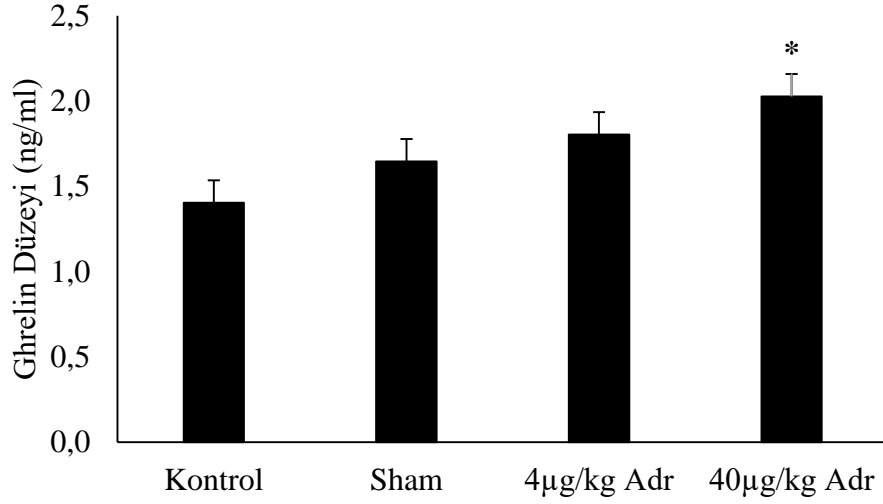


Şekil 4.5. Adropin uygulamalarının oksintomodulin seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur, n=10.

4.7. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Ghrelin Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen ghrelin düzeyleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta serum ghrelin düzeyi yükselmiştir.

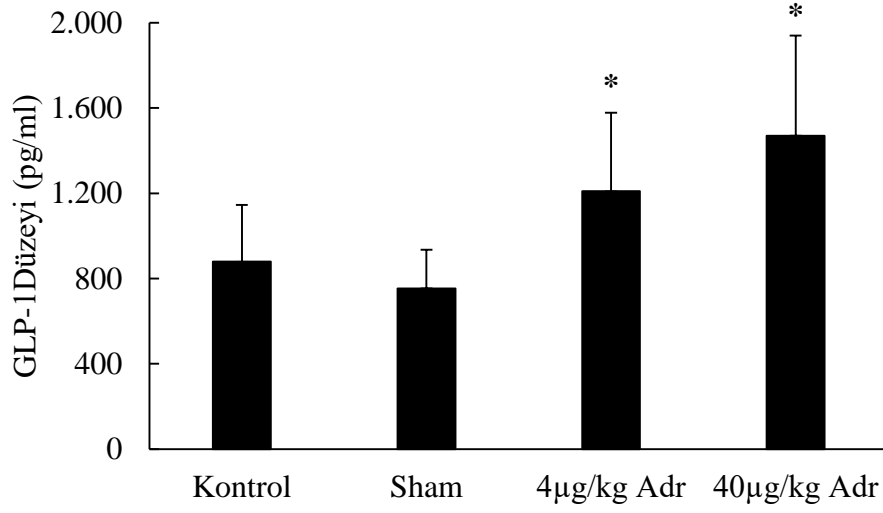


Şekil 4.6. Adropin uygulamalarının ghrelin seviyeleri üzerine etkileri.

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.05$, $n = 10$.

4.8. Sıçanlara Adropin Uygulamasının GLP-1 Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen GLP-1 düzeyleri Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Kontrol ve sham grubuna kıyasla adropin uygulanan gruplarda serum GLP-1 düzeyi yükselmiştir.

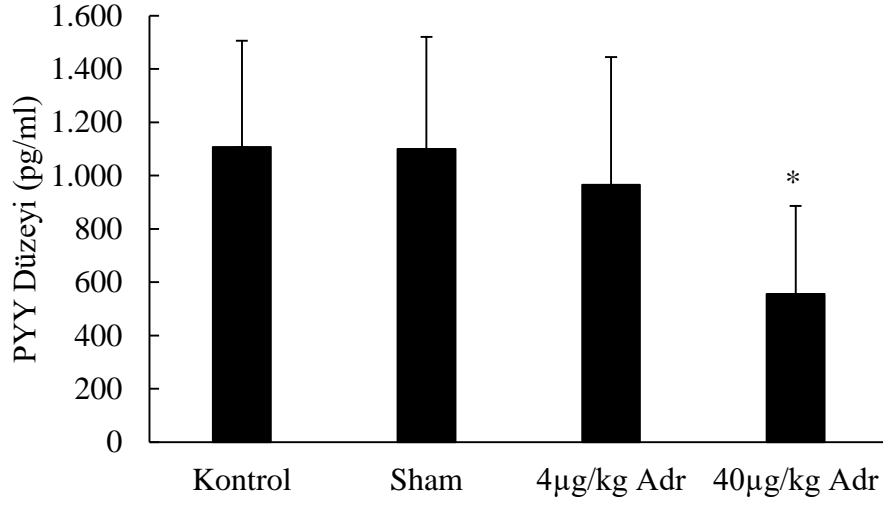


Şekil 4.7. Adropin uygulamalarının GLP-1 seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.005$, $n=9$.

4.9. Sıçanlara Adropin Uygulamasının PYY Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen PYY düzeyleri Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Kontrol ve sham grubuna kıyasla yüksek doz adropin uygulanan grupta serum PYY düzeyi azalmıştır.

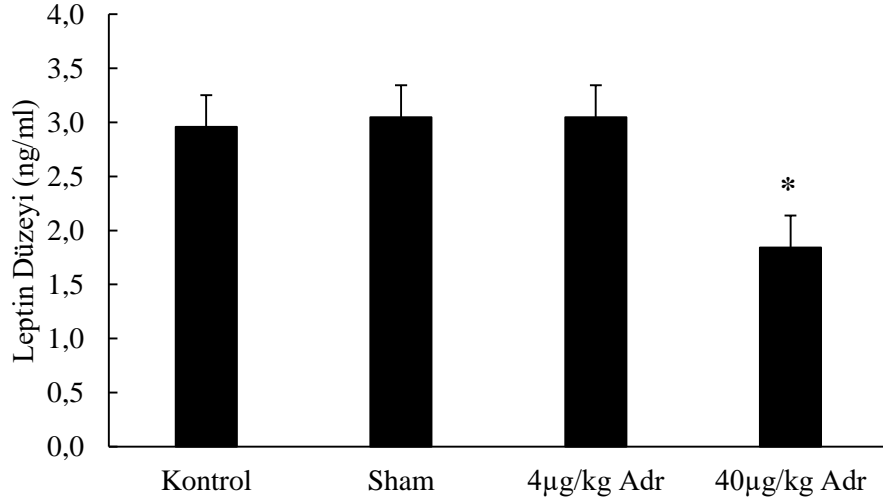


Şekil 4.8. Adropin uygulamalarının PYY seviyeleri üzerine etkileri.

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.05$, $n=9$.

4.10. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Leptin Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen leptin düzeyleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta serum leptin düzeyi anlamlı olarak azalmıştır.

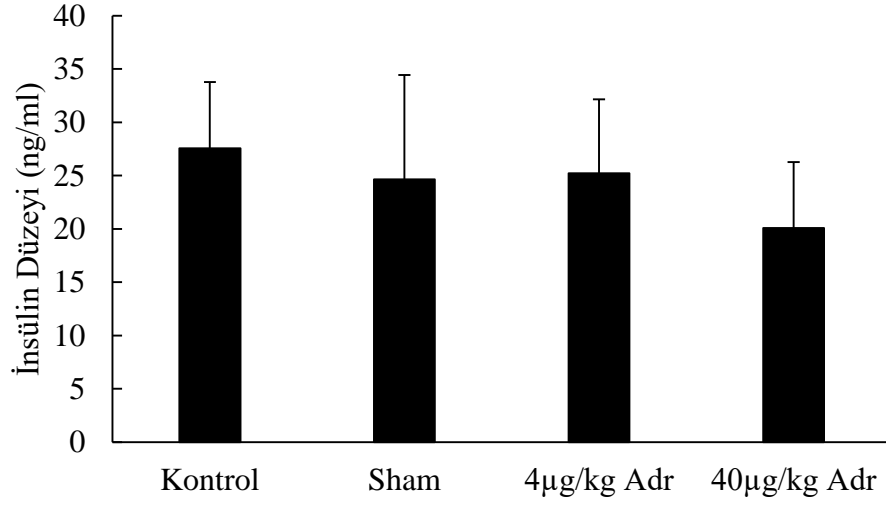


Şekil 4.9. Adropin uygulamalarının leptin seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0,0,1$ $n=10$.

4.11. Sıçanlara Adropin Uygulamasının İnsülin Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen insülin düzeyleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta serum insülin düzeyi azalmıştır ancak bu değişim anlamlı bulunmamıştır.

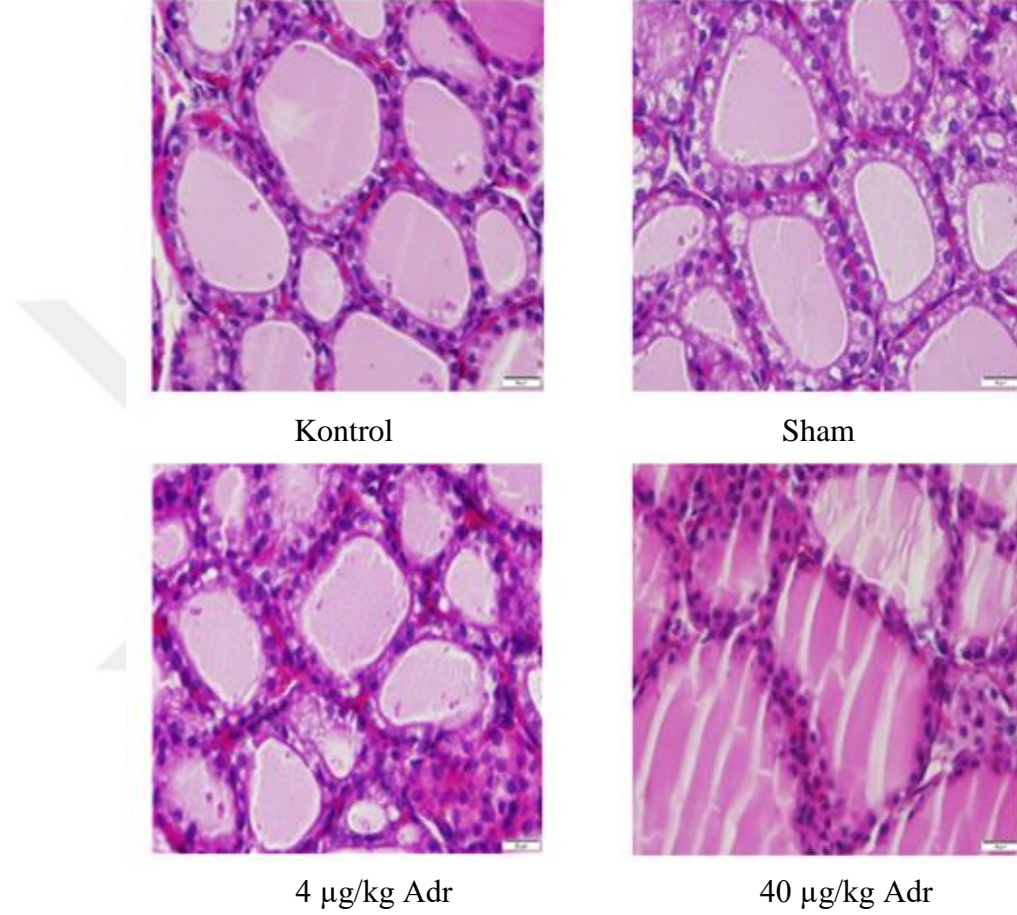


Şekil 4.10. Adropin uygulamalarının insülin seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur, n=10.

4.12. Sıçanlara Adropin Uygulamasının Tiroid Bezi Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulaması sonucunda tiroid dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikler Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



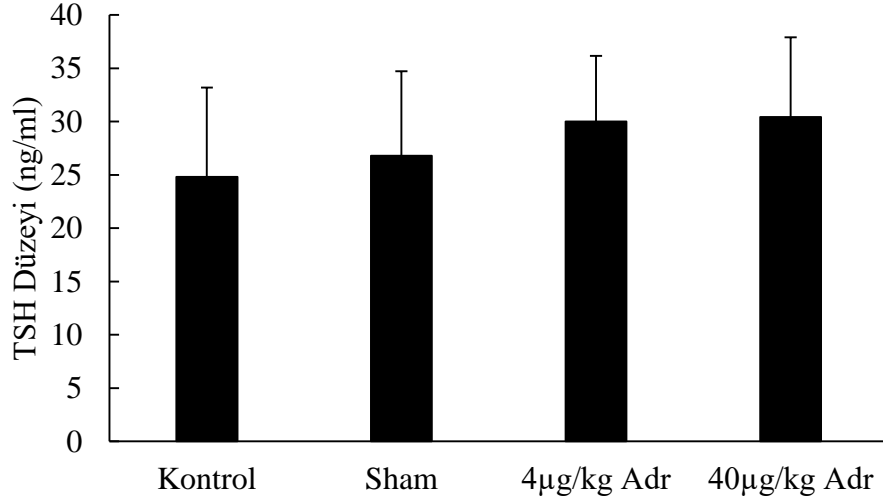
Şekil 4.11. Adropin uygulamasının tiroid bezi üzerine etkileri.

40 µg/kg Adropin uygulanan grupta tiroid bezinde, foliküller içerisinde bulunan kolloidin bütünlük göstermediği saptanmıştır. Bu durum tiroid bezi aktivitesinin arttığına bir göstergesidir, n=3.

4.13. Sıçanlara Adropin Uygulamasının TSH Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen TSH düzeyleri

Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir değişiklik yoktur.

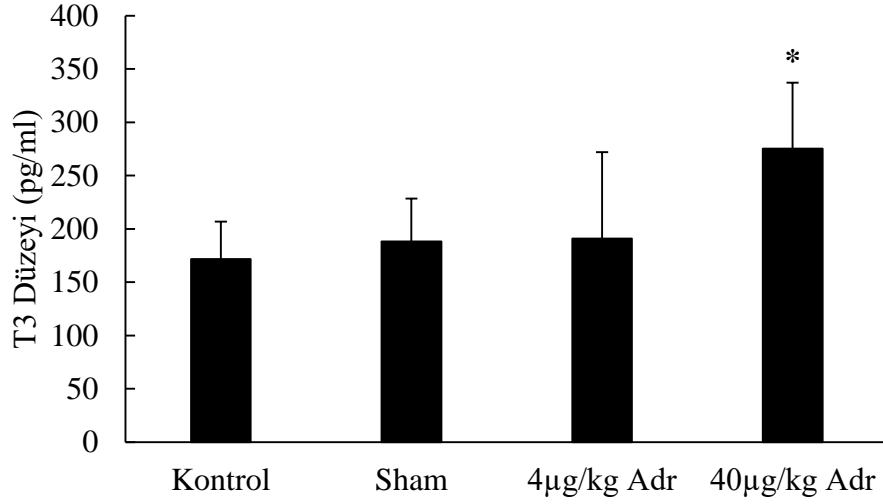


Şekil 4.12. Adropin uygulamalarının TSH seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur, n=10.

4.14. Sıçanlara Adropin Uygulamasının T3 Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen T3 düzeyleri Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Yüksek doz adropin uygulanan grupta serum T3 düzeyi anlamlı olarak yükselmiştir.

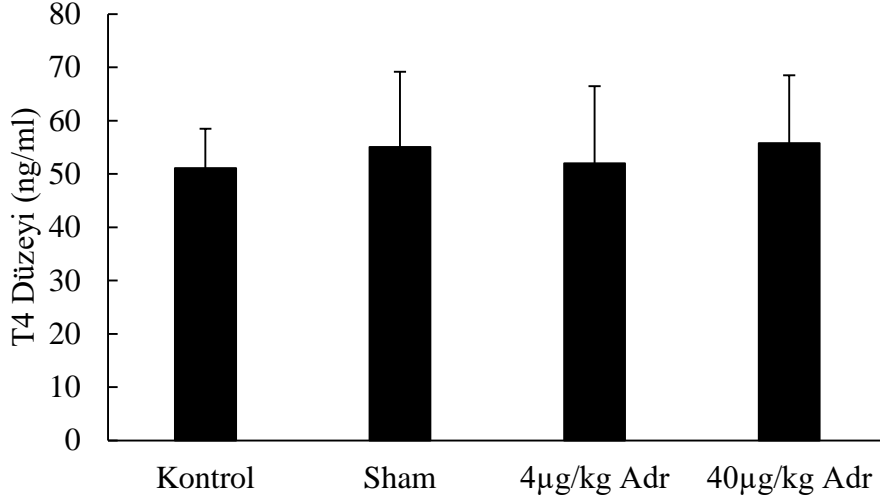


Şekil 4.13. Adropin uygulamalarının T3 seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur * $p < 0.05$, $n = 10$.

4.15. Sıçanlara Adropin Uygulamasının T4 Hormonu Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasıyla değişen T4 düzeyleri Şekil 4.14'de gösterilmiştir. Gruplar arasında önemli bir değişiklik saptanmamıştır.

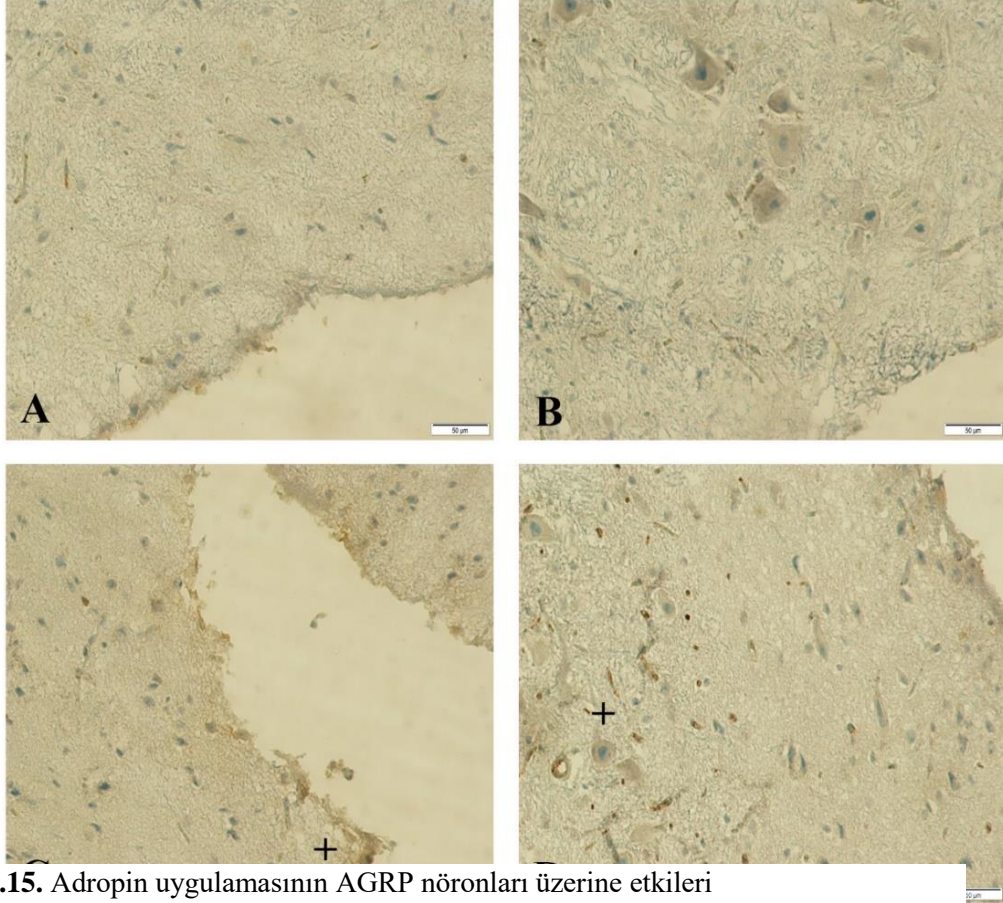


Şekil 4.14. Adropin uygulamalarının T4 seviyeleri üzerine etkileri

Verilerin değerlendirilmesinde bonferroni düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur, n=10.

4.16. Sıçanlara Adropin Uygulamasının AİP Nöronları Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasının AİP nöronları üzerine etkileri Şekil 4.15’de, bu nöronların ekspresyonlarındaki değişimler Tablo 4.2’de gösterilmiştir.



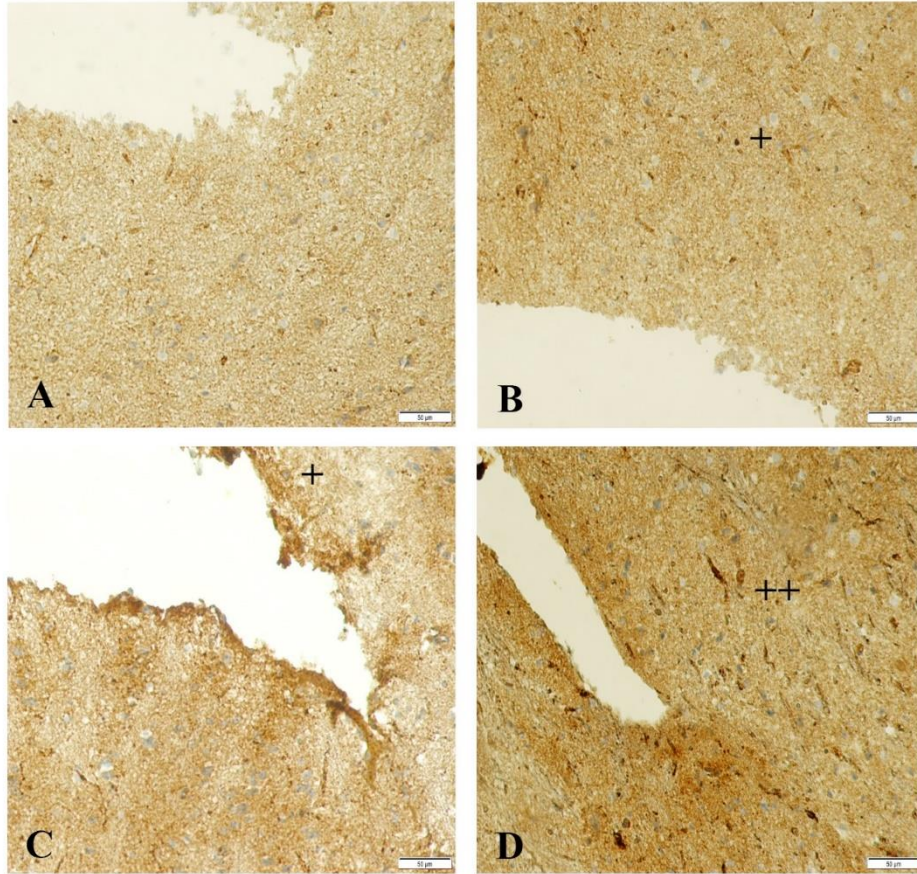
Şekil 4.15. Adropin uygulamasının AGRP nöronları üzerine etkileri

Tablo 4.2. Adropin uygulamasının AİP nöron ekspresyonu üzerine etkileri

Nöron Tipi	Kontrol	Sham	4 µg/kg Adr	40 µg/kg Adr
AİP	-	-	+	+

4.17. Sıçanlara Adropin Uygulamasının NPY Nöronları Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasının NPY nöronları üzerine etkileri Şekil 4.16'da, bu nöronların ekspresyonlarındaki değişiklikler Tablo 4.3'de gösterilmiştir.



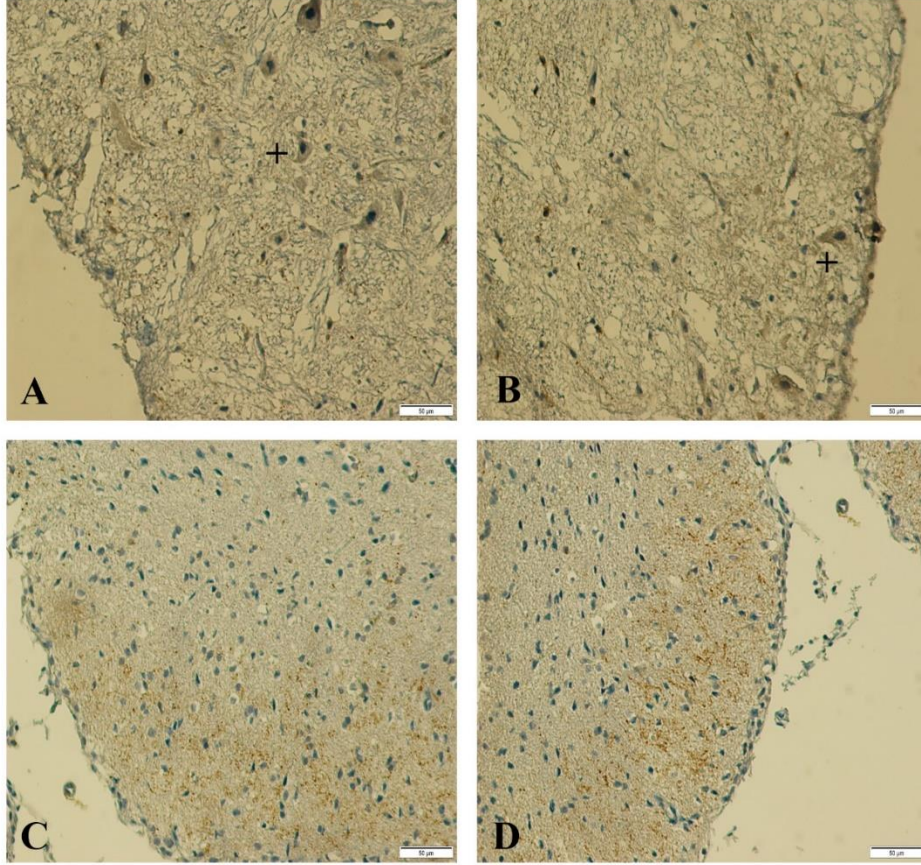
Şekil 4.16. Adropin uygulamasının NPY nöronları üzerine etkileri

Tablo 4.3. Adropin uygulamasının NPY nöron ekspresyonu üzerine etkileri

Nöron Tipi	Kontrol	Sham	4 µg/kg Adr	40 µg/kg Adr
NPY	-	+	+	++

4.18. Sıçanlara Adropin Uygulamasının KADT Nöronları Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasının KADT nöronları üzerine etkileri Şekil 4.17’de, bu nöronların ekspresyonlarındaki değişiklikler Tablo 4.4’de gösterilmiştir.



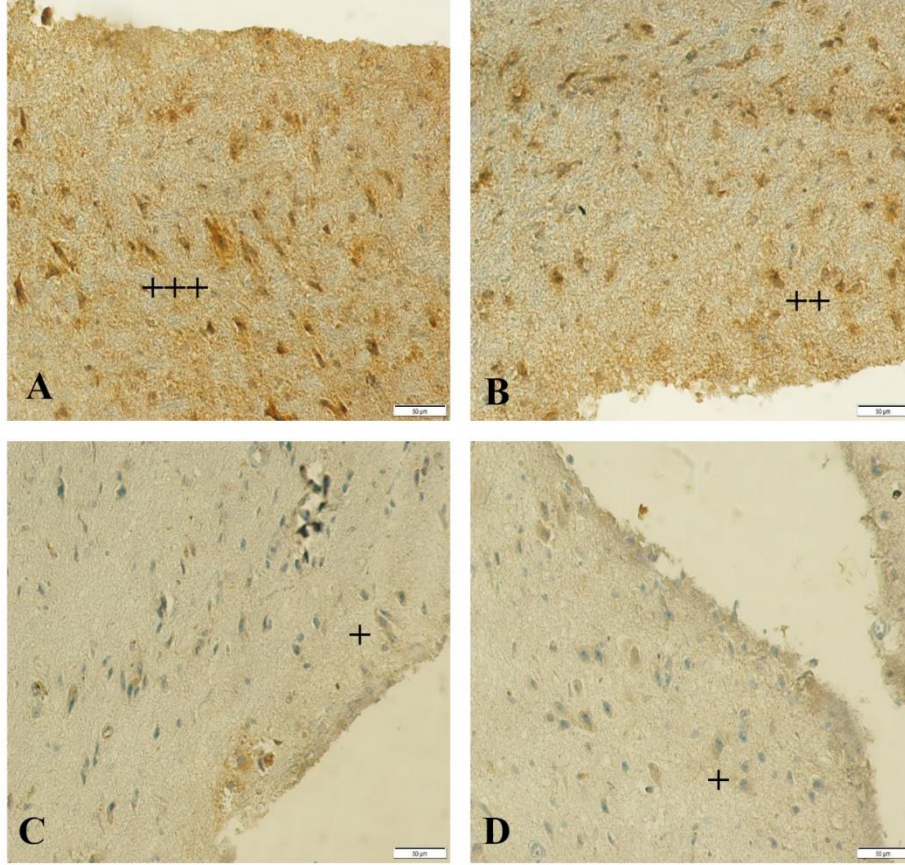
Şekil 4.17. Adropin uygulamasının KADT nöronları üzerine etkileri

Tablo 4.4. Adropin uygulamasının KADT nöron ekspresyonu üzerine etkileri

Nöron Tipi	Kontrol	Sham	4 µg/kg Adr	40 µg/kg Adr
KADT	+	+	-	-

4.19. Sıçanlara Adropin Uygulamasının POMK Nöronları Üzerine Etkileri

Sıçanlara 10 gün intraperitoneal adropin uygulamasının POMK nöronları üzerine etkileri Şekil 4.18'de, bu nöronların ekspresyonlarındaki değişiklikler Tablo 4.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Adropin uygulamasının POMK nöronları üzerine etkileri

Tablo 4.5. Adropin uygulamasının POMK nöron ekspresyonu üzerine etkileri

Nöron Tipi	Kontrol	Sham	4 µg/kg Adr	40 µg/kg Adr
POMK	+++	++	+	+

5. TARTIŞMA

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından dünya çapında önlenebilir sekiz kronik hastalığın ana nedeni olarak sınıflandırılmıştır. Obezite, bireylerin kardiyovasküler hastalık, felç, periferik vasküler hastalık, renal yetmezlik, kanser, osteoartrit ve tip 2 diabetes mellitus riskini önemli ölçüde arttırmaktadır.^{94,95}

Obezite prevalansı, yaşam ortamı ve yaşam biçimindeki değişiklikler nedeniyle büyük ölçüde artmaktadır. Obezite, enerji alımı ile tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır ve fazla enerji, yağ dokusunda depolanır. Gıda alımı ve enerji tüketimi öncelikle merkezi sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir. Gıdaların alınması ve besin tüketimi tüm türlerde hayatta kalma ve üreme için gereklidir, bu nedenle beslenme davranışını korumak için çok sayıda sinir devresi ve periferal sinyaller gelişmiştir.^{96,97}

Bu çalışmada, beslenme davranışı ve enerji dengesinin homeostatik regülasyonunda yer alan sinirsel devreler ve periferal sinyallerin fonksiyonları ve etkileşimleri üzerine adropin hormonunun etkilerini güncel metodlar ile araştırmayı amaçladık.

Yaptığımız bu çalışmada ilk kez adropin hormonunun beslenme ve enerji metabolizmasıyla ilişkili hormonlar üzerinde etkileri açıklanmaya çalışıldı ve adropin uygulamasının bu hormonların düzeylerini ne şekilde değiştirdiği belirlendi. Bu çalışmada adropin hormonunun sıçanlarda beslenme davranışı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesindeki rolü adiponektin, PYY, leptin, insülin, ghrelin, oksintomodulin, TSH, T3 ve T4 hormonları gibi periferal sinyaller üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediği test edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adropin uygulanan gruplarda, GLP-1, ghrelin, T3 serum düzeyleri artış gösterirken, PYY, adiponektin ve leptin serum düzeyinde azalma gözlemlendi. Oksintomodulin, insülin, TSH ve T4 serum düzeylerinde anlamlı değişiklikler olmadığını belirledik. Elde edilen metabolik bulgularda

ise 40 µg/kg adropin hormonu uygulanan grupta 6. gün ile beraber gıda alımındaki azalma ile birlikte yem tüketiminde de anlamlı azalmalar belirlendi. Buna ek olarak çalışma sonunda ölçülen toplam su tüketiminde 4 µg/kg adropin ve 40 µg/kg adropin uygulanan gruplarda azalma olduğu belirlendi. Metabolik parametrelerden glukoz ve trigliserit düzeyinde azalma HDL düzeyinde artışlar belirledik. LDL ve kolesterol düzeylerinde ise anlamlı değişiklikler saptanmamıştır. Bizim verilerimize benzer şekilde Kumar ve ark.⁴ tarafından yapılan çalışmada farklı dozlarda adropin uygulamasının farelerde gıda alımını azalttığı rapor edilmiştir.

Adropin gıda alımı ve vücut ağırlığının düzenlendiği hipotalamik alanlar ile başta karaciğer ve kas dokusu olmak üzere birçok organda tespit edilmiştir.^{4,5} Son zamanlarda yapılan çalışmalar adropinin beslenme davranışı üzerindeki rolünün anlaşılmasına ışık tutsa da bu konuda bilinenler sınırlıdır. Adropin hormonunu keşfeden ekibin yaptığı çalışmalarda gıda kısıtlaması yapılan farelerde adropin düzeyinin azaldığı ve gıda kısıtlaması uygulanmayan farelerde ise adropin düzeyinin yükseldiği belirlenmiştir. Farklı şekillerde indüklenen obezite modellerinde, yağ doku birikimi ile birlikte adropin düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Yine aynı çalışma grubunun transgenik adropin nakavt (Adr-Tg) ve vahşi tip (VT) fareler kullanarak yaptıkları deneysel modelde Adr-Tg farelerin VT farelere kıyasla serum insülin düzeyinde azalma ve serum adiponektin düzeyinde artış gösterilmiştir.^{4,11} Yapılan çalışmalar, serum adropin düzeyi ile vücut yağ doku hacmi arasında ilişkinin varlığını kuvvetlendirmektedir. Bu bulgular obezitenin fizyopatolojisinde adropinin rolünün önemli olabileceğini düşündürmüştür.

Gıda alımının kısa süreli düzenlenmesinde sindirim sistemi, merkezi sinir sistemi ve çeşitli organlar görev alırken, uzun süreli gıda alımının kontrolünde ise leptin ve adiponektin gibi çeşitli yağ doku hormonları rol oynar.⁹⁸ Bizim bulgularımızda adropin uygulamasıyla yağ doku hormonları olan serum adiponektin ve leptin düzeylerinin

azaldığını belirledik. Başka bir çalışmada metabolik sendromlu hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla leptin seviyesi artarken, adropin seviyesi azalmıştır. Bu durumun metabolik sendromlu bireylerdeki artan yağ kütlesiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir.⁹⁹ Pediatrik obeziteye bağlı nonalkolik yağlı karaciğer hastalarında adropin düzeyi azalırken, leptin düzeyinin yükseldiği rapor edilmiştir.¹⁰⁰ Bizim sonuçlarımızda benzer şekilde adropin uygulamasıyla yağ doku hormon düzeylerinin azaldığını göstermektedir. Bu muhtemel etki adropinin yağ doku hacmini azaltarak yağ doku hormon düzeyinin azalmasıyla ilişkili gibi görünüyor. Sonuçlarımıza göre adropin hormonu ile yağ doku hormonları arasında negatif bir korelasyonun varlığından söz edilebilir.

Mevcut çalışma gıda alımı ile ilişkili gastrointestinal sistem hormonları olan PYY, oksintomodulin, GLP-1 ve ghrelin hormonları ile adropin hormonu arasındaki ilişkiyi ilk kez biz gösterdik. PYY, GLP-1 ve oksintomodulin gıda alımını baskılayarak, ghrelin gıda alımını artıran bir hormondur. OKS, anorektik etkilere sahiptir ve GLP-1'e kıyasla çok daha düşük potans ile inkretin etkinliği gösterir.¹⁰¹ Bu hormonlar ile adropin hormonu arasındaki ilişki ilk olarak Zapata ve ark.¹⁰² tarafından süt ineklerinde araştırılmıştır. Post-partum dönemde yağlı diyet ve pre-partum dönemde laktasyon diyeti uygulanan süt ineklerinde diyetlerden iki hafta sonra alınan serum örneklerinde leptin ve insülin düzeyi yükseklik gösterirken, doğum sonrası dönemde PYY, GLP-1 ve adropin düzeyleri artış göstermiştir. Oksintomodulin, GLP-1 ve PYY anoreksijinek etkilere sahip distal gastrointestinal sistemin L hücrelerinden salgılanır. Bu üç hormon etkilerini hipotalamusun arkuat nükleusunda bulunan nöron grupları aracılığı ile gerçekleştirir.^{45,}
^{48, 103} Bizim sonuçlarımızda adropin uygulamasının yağ doku hormonlarının düzeylerinde azalmaya sebep olduğunu bulduk. Yağ doku hormonu leptin düzeyindeki azalmalara karşı ghrelin seviyesinde artışlar olduğu ve bu iki hormonun birbirine zıt çalıştıkları ifade edilmiştir.¹⁰⁴ Bu bilgiler ışığında oreksijenik bir peptit olan ghrelin

düzeyindeki artış ile anoreksijenik bir peptit olan leptin düzeyindeki azalma bu şekilde açıklanabilir. Ayrıca bu iki hormon hipotalamik alanda birbirine karşıt etkiler gösteren nöron grupları aracılığıyla beslenme davranışını kontrol etmektedir.^{87, 88, 93}

Hipotalamik-hipofizer tiroid aksının vücut ağırlığını ve metabolik hızını etkilediği iyi bilinmektedir. Tiroid disfonksiyonu, iştah ve vücut ağırlığı üzerinde klinik olarak önemli sonuçlar doğurabilir. Hipotiroidizm klasik olarak ağırlık artışıyla bazal enerji tüketiminin azalmasına neden olur.^{105, 106} Tersine, hipertiroidizm enerji tüketimini artırır ve vücut ağırlığını azaltır.^{107, 108} Bununla birlikte, yeni kanıtlar, hipotalamik hipofizer tiroid aksının, enerji tüketimine etkilerinden bağımsız olarak iştahın hipotalamik düzenlenmesinde doğrudan bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Klasik olarak, hipotalamik TRH, tiroid hormonları olan T3 ve T4'ün salınımını uyararak ön hipofizden TSH salınımını uyarır. Bu sinyal moleküllerinin hepsinin gıda alımını doğrudan etkileyebileceği ileri sürülmüştür.^{109, 110} Sınırlı gıda kullanılan dönemlerde insanlarda¹¹¹ ve kemirgenlerde açlık süresince serum T4 ve T3 seviyeleri düşmektedir.¹¹² Adropinin enerji homeostazının sürdürülmesi sağladığı rapor edilmiştir ancak bu etkinin hangi sinyaller aracılığı ile gerçekleştiğine dair net kanıtlar yoktur.^{4, 11} Bizim sonuçlarımızda 40 µg/kg adropin uygulanan grupta diğer gruplara kıyasla daha aktif bir tiroid bezi ve T3 düzeyinde önemli artışlar saptadık. Adropin hormonunun tiroid aksın üzerine etki ettiğine dair ilk kanıtları elde etmiş olduk.

Adropin hormonunun beslenme davranışı ve enerji metabolizması üzerine etkilerini araştırdığımız bu çalışmada, adropinin bu iki mekanizmanın düzenlenmesiyle ilişkili hormonal sinyaller üzerine etkileri olabileceğini ortaya koyduk. Aynı zamanda adropin hormonu periferden salgılanan hormonlar veya doğrudan kan beyin bariyerini geçerek arkuat nükleusta bulunan oreksijenik ve anoreksijenik nöron grupları üzerine etkisi olabileceği sonucuna ulaştık.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda sıçanlara farklı dozlarda adropin hormonu uygulamasının gıda alımıyla ilişkili çeşitli hormonlar, metabolik parametreler, gıda tüketimi ve kilo alımı arasındaki ilişki ve toplam su tüketimi üzerine etkileriyle ilgili veriler elde edilmiştir. Bu çalışma sıçanlara intraperitoneal adropin uygulamasıyla beslenme davranışı arasındaki ilişkinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuçlarda literatür ile eşleşen ve eşleşmeyen bazı veriler elde edilmiştir. Çalışmayı daha üst noktalara taşımak için adropin hormonunun uygulama şekli ve uygulama dozları değiştirilebilir çünkü adropinin kan beyin bariyerini geçip geçmediği ile ilgili net kanıtlar yoktur. Adropin hormonunun lateral ventriküle icv olarak infüzyon şeklinde uygulanması ve uygulama süresinin daha uzun tutulması daha kararlı sonuçlar elde edilebileceği düşünülebilir. Ayrıca çalışmada protein analiz metotları kullanmanın verilerin güvenilirliğini daha da artıracakını düşünmekteyiz

KAYNAKLAR

1. Cowley MA, Pronchuk N, Fan W, Dinulescu DM, Colmers WF, Cone RD. Integration of NPY, AIP, and melanocortin signals in the hypothalamic paraventricular nucleus: evidence of a cellular basis for the adipostat. *Neuron*, 1999, 24: 155-163.
2. Kim JD, Leyva S, Diano S. Hormonal regulation of the hypothalamic melanocortin system. *Front Physiol*, 2014, 5: 480.
3. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 2000, 404: 661-671.
4. Kumar KG, Trevaskis JL, Lam DD, Sutton GM, Koza RA, Chouljenko VN, Kousoulas KG, Rogers PM, Kesterson RA, Thearle M, Ferrante AW, Jr, Mynatt RL, Burris TP, Dong JZ, Halem HA, Culler MD, Heisler LK, Stephens JM, Butler AA. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. *Cell Metab*, 2008, 8: 468-481.
5. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I, Kocaman N, Citil C, Kendir Y. Expression of adropin in rat brain, cerebellum, kidneys, heart, liver, and pancreas in streptozotocin-induced diabetes. *Mol Cell Biochem*, 2013, 380: 73-81.
6. Gut-Brain Interrelationships and Control of Feeding Behavior. <http://themedicalbiochemistrypage.org/gut-brain.php#intro>. 21.12.2017
7. Celik E, Yilmaz E, Celik O, Ulas M, Turkcuoglu I, Karaer A, Simsek Y, Minareci Y, Aydin S. Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus. *J Perinat Med*, 2013, 41: 375-380.
8. Butler AA, Tam CS, Stanhope KL, Wolfe BM, Ali MR, O'Keeffe M, St-Onge MP, Ravussin E, Havel PJ. Low circulating adropin concentrations with obesity and aging correlate with risk factors for metabolic disease and increase after gastric bypass surgery in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 3783-3791.

9. Stein LM, Yosten GL, Samson WK. Adropin acts in brain to inhibit water drinking: potential interaction with the orphan G protein-coupled receptor, GPR19. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2016, 310: R476-480.
10. Lovren F, Pan Y, Quan A, Singh KK, Shukla PC, Gupta M, Al-Omran M, Teoh H, Verma S. Adropin is a novel regulator of endothelial function. *Circulation*, 2010, 122: S185-192.
11. Ganesh Kumar K, Zhang J, Gao S, Rossi J, McGuinness OP, Halem HH, Culler MD, Mynatt RL, Butler AA. Adropin deficiency is associated with increased adiposity and insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)*, 2012, 20: 1394-1402.
12. Kuhla A, Hahn S, Butschkau A, Lange S, Wree A, Vollmar B. Lifelong caloric restriction reprograms hepatic fat metabolism in mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014, 69: 915-922.
13. Zoeller RT, Tan SW, Tyl RW. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Crit Rev Toxicol*, 2007, 37: 11-53.
14. Hall R, Amos J, Garry R, Buxton RL. Thyroid-stimulating hormone response to synthetic thyrotrophin releasing hormone in man. *Br Med J*, 1970, 2: 274-277.
15. Harris AR, Christianson D, Smith MS, Fang SL, Braverman LE, Vagenakis AG. The physiological role of thyrotrophin-releasing hormone in the regulation of thyroid-stimulating hormone and prolactin secretion in the rat. *J Clin Invest*, 1978, 61: 441-448.
16. Boelen A, Wiersinga WM, Fliers E. Fasting-induced changes in the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Thyroid*, 2008, 18: 123-129.
17. Guyton A, Hall J. *Guyton ve Hall Medical Physiology*, 13th ed. Philadelphia, Elsevier, 2016: 951-963.
18. Molina PE. *Endocrine Physiology*. 4th ed. USA, McGraw-Hill Companies, 2013:73-93.

19. Fekete C, Lechan RM. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. *Endocr Rev*, 2014, 35: 159-194.
20. Ishii S, Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Sugihara H, Oikawa S. Hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway activated by a reduction in circulating leptin, but not by an increase in circulating ghrelin, contributes to hyperphagia associated with triiodothyronine-induced thyrotoxicosis. *Neuroendocrinology*, 2003, 78: 321-330.
21. Kong WM, Martin NM, Smith KL, Gardiner JV, Connoley IP, Stephens DA, Dhillo WS, Ghatei MA, Small CJ, Bloom SR. Triiodothyronine stimulates food intake via the hypothalamic ventromedial nucleus independent of changes in energy expenditure. *Endocrinology*, 2004, 145: 5252-5258.
22. Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzeo G, Costagliola C, Bianco A, Daniele A. New Insight into Adiponectin Role in Obesity and Obesity-Related Diseases. *Biomed Res Int*, 2014.
23. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev*, 2012, 33: 547-594.
24. Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: A review of their structure, function and how they work. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2014, 28: 15-23.
25. Nagaraju GP, Rajitha B, Aliya S, Kotipatruni RP, Madanraj AS, Hammond A, Park D, Chigurupati S, Alam A, Pattnaik S. The role of adiponectin in obesity-associated female-specific carcinogenesis. *Cytokine & Growth Factor Rev*, 2016, 31: 37-48.
26. Hada Y, Yamauchi T, Waki H, Tsuchida A, Hara K, Yago H, Miyazaki O, Ebinuma H, Kadowaki T. Selective purification and characterization of adiponectin multimer species from human plasma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356: 487-493.

27. Berg AH, Combs TP, Du XL, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nature Medicine*, 2001, 7: 947-953.
28. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappa B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*, 2000, 102: 1296-1301.
29. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6: 772-783.
30. Schwartz MW, Sipols AJ, Marks JL, Sanacora G, White JD, Scheurink A, Kahn SE, Baskin DG, Woods SC, Figlewicz DP. Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology*, 1992, 130: 3608-3616.
31. Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci*, 2002, 22: 9048-9052.
32. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab*, 2007, 6: 55-68.
33. Suyama S, Lei W, Kubota N, Kadowaki T, Yada T. Adiponectin at physiological level glucose-independently enhances inhibitory postsynaptic current onto NPY neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Neuropeptides*, 2017, 64: 1-9.
34. Vilsboll T, Holst JJ. Incretins, insulin secretion and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2004, 47: 357-366.

35. Sjolund K, Sanden G, Hakanson R, Sundler F. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology*, 1983, 85: 1120-1130.
36. Donath MY, Burcelin R. GLP-1 effects on islets: hormonal, neuronal, or paracrine? *Diabetes Care*, 2013, 36 Suppl 2: S145-148.
37. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*, 2007, 87: 1409-1439.
38. Deacon CF, Johnsen AH, Holst JJ. Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80: 952-957.
39. Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology*, 1999, 140: 5356-5363.
40. Roth JD, Erickson MR, Chen S, Parkes DG. GLP-1R and amylin agonism in metabolic disease: complementary mechanisms and future opportunities. *Br J Pharmacol*, 2012, 166: 121-136.
41. Vilsboll T, Christensen M, Junker AE, Knop FK, Gluud LL. Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ*, 2012, 344: 1-11.
42. Zhang F, Tong Y, Su N, Li Y, Tang L, Huang L, Tong N. Weight loss effect of glucagon-like peptide-1 mimetics on obese/overweight adults without diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Diabetes*, 2015, 7: 329-339.
43. Holst JJ, Deacon CF. Is there a place for incretin therapies in obesity and prediabetes? *Trends Endocrinol Metab*, 2013, 24: 145-152.

44. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev*, 1999, 20: 68-100.
45. Secher A, Jelsing J, Baquero AF, Hecksher-Sorensen J, Cowley MA, Dalboge LS, Hansen G, Grove KL, Pyke C, Raun K, Schaffer L, Tang-Christensen M, Verma S, Witgen BM, Vrang N, Bjerre Knudsen L. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. *J Clin Invest*, 2014, 124: 4473-4488.
46. Sisley S, Gutierrez-Aguilar R, Scott M, D'Alessio DA, Sandoval DA, Seeley RJ. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect. *J Clin Invest*, 2014, 124: 2456-2463.
47. Seo S, Ju S, Chung H, Lee D, Park S. Acute effects of glucagon-like peptide-1 on hypothalamic neuropeptide and AMP activated kinase expression in fasted rats. *Endocr J*, 2008, 55: 867-874.
48. Dalvi PS, Nazarians-Armavil A, Purser MJ, Belsham DD. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4, regulates feeding-associated neuropeptides in hypothalamic neurons in vivo and in vitro. *Endocrinology*, 2012, 153: 2208-2222.
49. Campos RV, Lee YC, Drucker DJ. Divergent tissue-specific and developmental expression of receptors for glucagon and glucagon-like peptide-1 in the mouse. *Endocrinology*, 1994, 134: 2156-2164.
50. Larsen PJ, Tang-Christensen M, Holst JJ, Orskov C. Distribution of glucagon-like peptide-1 and other proglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience*, 1997, 77: 257-270.
51. Ghatei MA, Uttenthal LO, Christofides ND, Bryant MG, Bloom SR. Molecular forms of human enteroglucagon in tissue and plasma: plasma responses to nutrient stimuli

in health and in disorders of the upper gastrointestinal tract. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983, 57: 488-495.

52. Drucker DJ. Biologic actions and therapeutic potential of the proglucagon-derived peptides. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2005, 1: 22-31.

53. Pocai A. Unraveling oxyntomodulin, GLP1's enigmatic brother. *J Endocrinol*, 2012, 215: 335-346.

54. Habib AM, Richards P, Cairns LS, Rogers GJ, Bannon CA, Parker HE, Morley TC, Yeo GS, Reimann F, Gribble FM. Overlap of endocrine hormone expression in the mouse intestine revealed by transcriptional profiling and flow cytometry. *Endocrinology*, 2012, 153: 3054-3065.

55. Lynch AM, Pathak N, Flatt YE, Gault VA, O'Harte FP, Irwin N, Flatt PR. Comparison of stability, cellular, glucose-lowering and appetite suppressing effects of oxyntomodulin analogues modified at the N-terminus. *Eur J Pharmacol*, 2014, 743: 69-78.

56. Baggio LL, Huang Q, Brown TJ, Drucker DJ. Oxyntomodulin and glucagon-like peptide-1 differentially regulate murine food intake and energy expenditure. *Gastroenterology*, 2004, 127: 546-558.

57. Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Batterham RL, Park A, Patterson M, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88: 4696-4701.

58. Wynne K, Park AJ, Small CJ, Meeran K, Ghatei MA, Frost GS, Bloom SR. Oxyntomodulin increases energy expenditure in addition to decreasing energy intake in overweight and obese humans: a randomised controlled trial. *Int J Obes (Lond)*, 2006, 30: 1729-1736.

59. Dakin CL, Small CJ, Batterham RL, Neary NM, Cohen MA, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR. Peripheral oxyntomodulin reduces food intake and body weight gain in rats. *Endocrinology*, 2004, 145: 2687-2695.
60. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999, 402: 656-660.
61. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 2000, 407: 908-913.
62. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001, 409: 194-198.
63. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 2003, 37: 649-661.
64. van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*, 2004, 25: 426-457.
65. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 2001, 50: 707-709.
66. Gualillo O, Lago F, Gomez-Reino J, Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Lett*, 2003, 552: 105-109.
67. Korbonits M, Grossman AB. Ghrelin: update on a novel hormonal system. *Eur J Endocrinol*, 2004, 151 Suppl 1: S67-70.

68. Ueberberg B, Unger N, Saeger W, Mann K, Petersenn S. Expression of ghrelin and its receptor in human tissues. *Horm Metab Res*, 2009, 41: 814-821.
69. Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, Matsubara M, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides*, 2002, 23: 531-536.
70. Tatemoto K, Mutt V. Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. *Nature*, 1980, 285: 417-418.
71. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*, 1985, 89: 1070-1077.
72. Batterham RL, Bloom SR. The gut hormone peptide YY regulates appetite. *Ann NY Acad Sci*, 2003, 994: 162-168.
73. Savage AP, Adrian TE, Carolan G, Chatterjee VK, Bloom SR. Effects of peptide YY (PYY) on mouth to caecum intestinal transit time and on the rate of gastric emptying in healthy volunteers. *Gut*, 1987, 28: 166-170.
74. La Sala MS, Hurtado MD, Brown AR, Bohorquez DV, Liddle RA, Herzog H, Zolotukhin S, Dotson CD. Modulation of taste responsiveness by the satiation hormone peptide YY. *FASEB J*, 2013, 27: 5022-5033.
75. Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger RD. Intravenous infusion of peptide YY(3-36) potently inhibits food intake in rats. *Endocrinology*, 2005, 146: 879-888.
76. Karra E, Chandarana K, Batterham RL. The role of peptide YY in appetite regulation and obesity. *J Physiol*, 2009, 587: 19-25.
77. Broberger C, Landry M, Wong H, Walsh JN, Hokfelt T. Subtypes Y1 and Y2 of the neuropeptide Y receptor are respectively expressed in pro-opiomelanocortin- and

neuropeptide-Y-containing neurons of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology*, 1997, 66: 393-408.

78. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*, 2002, 418: 650-654.

79. Challis BG, Pinnock SB, Coll AP, KADTer RN, Dickson SL, O'Rahilly S. Acute effects of PYY3-36 on food intake and hypothalamic neuropeptide expression in the mouse. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311: 915-919.

80. Weiss M, Steiner DF, Philipson LH. Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships. İçinde:De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A (editörler). *Endotext*, South Dartmouth (MA), 2000.

81. Bagdade JD, Bierman EL, Porte D, Jr. The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *J Clin Invest*, 1967, 46: 1549-1557.

82. Baura GD, Foster DM, Porte D, Jr, Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, Schwartz MW. Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *J Clin Invest*, 1993, 92: 1824-1830.

83. Woods SC, Lotter EC, McKay LD, Porte D, Jr. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*, 1979, 282: 503-505.

84. Air EL, Benoit SC, Blake Smith KA, Clegg DJ, Woods SC. Acute third ventricular administration of insulin decreases food intake in two paradigms. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, 72: 423-429.

85. Havrankova J, Roth J, Brownstein M. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 1978, 272: 827-829.
86. Schneeberger M, Gomis R, Claret M. Hypothalamic and brainstem neuronal circuits controlling homeostatic energy balance. *J Endocrinol*, 2014, 220: T25-46.
87. Horvath TL. The hardship of obesity: a soft-wired hypothalamus. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 561-565.
88. Williams KW, Scott MM, Elmquist JK. Modulation of the central melanocortin system by leptin, insulin, and serotonin: co-ordinated actions in a dispersed neuronal network. *Eur J Pharmacol*, 2011, 660: 2-12.
89. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372: 425-432.
90. Engin A. Diet-Induced Obesity and the Mechanism of Leptin Resistance. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 381-397.
91. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 1995, 83: 1263-1271.
92. Bluher S, Shah S, Mantzoros CS. Leptin deficiency: clinical implications and opportunities for therapeutic interventions. *J Investig Med*, 2009, 57: 784-788.
93. Malendowicz LK, Rucinski M, Belloni AS, Ziolkowska A, Nussdorfer GG. Leptin and the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Int Rev Cytol*, 2007, 263: 63-102.
94. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Collins R, Peto R. Prospective studies collaboration. Body-mass index and cause-

specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet*, 2009, 373: 1083-1096.

95. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*, 2000, 404: 635-643.

96. Berthoud HR. Metabolic and hedonic drives in the neural control of appetite: who is the boss? *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21: 888-896.

97. Berthoud HR. The neurobiology of food intake in an obesogenic environment. *Proc Nutr Soc*, 2012, 71: 478-487.

98. Lenard NR, Berthoud HR. Central and Peripheral Regulation of Food Intake and Physical Activity: Pathways and Genes. *Obesity*, 2008, 16: S11-S22.

99. Yosae S, Khodadost M, Esteghamati A, Speakman JR, Shidfar F, Nazari MN, Bitarafan V, Djafarian K. Metabolic Syndrome Patients Have Lower Levels of Adropin When Compared With Healthy Overweight/Obese and Lean Subjects. *Am J Mens Health*, 2017, 11: 426-434.

100. Sayin O, Tokgoz Y, Arslan N. Investigation of adropin and leptin levels in pediatric obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2014, 27: 479-484.

101. Schjoldager BT, Baldissera FG, Mortensen PE, Holst JJ, Christiansen J. Oxyntomodulin: a potential hormone from the distal gut. Pharmacokinetics and effects on gastric acid and insulin secretion in man. *Eur J Clin Invest*, 1988, 18: 499-503.

102. Zapata RC, Salehi R, Ambrose DJ, Chelikani PK. Effects of prepartum fat supplementation on plasma concentrations of glucagon-like peptide-1, peptide YY, adropin, insulin, and leptin in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*, 2015, 98: 6876-6885.

103. Dakin CL, Gunn I, Small CJ, Edwards CM, Hay DL, Smith DM, Ghatei MA, Bloom SR. Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat. *Endocrinology*, 2001, 142: 4244-4250.
104. Warchol M, Krauss H, Wojciechowska M, Opala T, Pieta B, Zukiewicz-Sobczak W, Kupsz J, Grochowalska A. The role of ghrelin, leptin and insulin in foetal development. *Ann Agric Environ Med*, 2014, 21: 349-352.
105. Manji N, Boelaert K, Sheppard MC, Holder RL, Gough SC, Franklyn JA. Lack of association between serum TSH or free T4 and body mass index in euthyroid subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006, 64: 125-128.
106. Iossa S, Lionetti L, Mollica MP, Barletta A, Liverini G. Thermic effect of food in hypothyroid rats. *J Endocrinol*, 1996, 148: 167-174.
107. Alton S, O'Malley BP. Dietary intake in thyrotoxicosis before and after adequate carbimazole therapy; the impact of dietary advice. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1985, 23: 517-520.
108. Klieverik LP, Coomans CP, Endert E, Sauerwein HP, Havekes LM, Voshol PJ, Rensen PC, Romijn JA, Kalsbeek A, Fliers E. Thyroid hormone effects on whole-body energy homeostasis and tissue-specific fatty acid uptake in vivo. *Endocrinology*, 2009, 150: 5639-5648.
109. Lin MT, Chu PC, Leu SY. Effects of TSH, TRH, LH and LHRH on thermoregulation and food and water intake in the rat. *Neuroendocrinology*, 1983, 37: 206-211.
110. Ishii S, Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Sugihara H, Oikawa S. Triiodothyronine (T3) stimulates food intake via enhanced hypothalamic AMP-activated kinase activity. *Regul Pept*, 2008, 151: 164-169.

111. Chan JL, Heist K, DePaoli AM, Veldhuis JD, Mantzoros CS. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *J Clin Invest*, 2003, 111: 1409-1421.
112. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*, 1996, 382: 250-252.



EKLER

EK-1. ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı : Ersen ERASLAN Doğum tarihi : 03.08.1985 Doğum yeri : Elazığ Medeni hali : Bekar Uyruğu : T.C. Adres : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi,Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel : 0442 344 66 14 Faks : E-mail : ersen.eraslan@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p>Lise : Kayabayazıtöğlu Lisesi (2002) Lisans : Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi (2005-2009) Yüksek lisans : Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı (2010-2012) Doktora : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı (2009-2012)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : Orta (ÜDS 63.75, Mart 2010)</p> <hr/> <p>Almanca :</p> <hr/> <p>Rusça :</p> <hr/>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>Türk Fizyolojik Bilimler Derneği</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>Mide hasarı, Oksidatif stres, Beslenme ve obezite, İskemi reperfüzyon</p>

EK-2 ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700196070
Konu : HADYEK Kararı.

11.07.2017

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 26.05.2017 tarihli ve 42190979-945-E.1700153560 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.06.2017 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 65 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 30.06.2017

Toplantı Sayısı : 5

KARAR N0 65: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Tuncer NACAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Sıçanlara İntraperitoneal Adropin Uygulamasının Besin Alımı Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 26.05.2017 tarih ve 42190979-945-E.1700153560 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=7F0AA07



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI
(Tez başlığı değişikliği önerisi olanlar için)
(FORM: 22)

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı : Ersen ERASLAN
Programı (Fakülte/Y.Okul) : Tıp Fakültesi
Anabilim Dalı : Fizyoloji

Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR
Ortak Danışman :

Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26/12/2017 ve
49/102 sayılı kararıyla oluşturulan tez savunma sınavı jürisi, Farelere
Beslenme Davranışını Kontrol Eden Bazı Periferik Sinyaller Üzerine Adropin Hormonunun
Etkilerinin Araştırılması-
başlıklı doktora tezini incelemiş ve adayı 05.01.2018 tarihinde, saat 14 : 00'da tez savunma
sınavına tabi tutmuştur.

DEĞERLENDİRME VE SONUÇ:

- Jüri raporlarının tartışılması sonucunda **başarıyla** savunulan tezin **KABUL EDİLMESİNE**,
 Jüri raporlarının tartışılması sonucunda, ay ek süre verilerek tezin **DÜZELTİLMESİNE**,
 Jüri raporlarının tartışılması sonucunda tezin **REDDİLMESİNE**,
 ancak konu ve içeriği değişmeksizin tez başlığının **Sıçanlarda İntraperitoneal
Adropin Uygulamasının Besin Alımı Üzerine Etkilerinin Araştırılması**
-- olarak düzenlenmesine,

OY BİRLİĞİ

OY ÇOKLUĞU ile karar verilmiştir.

Tez Sınav Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	:Prof. Dr. Mustafa GÜL	
Üye	:Prof. Dr. Süleyman SANDAL	
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Tuncer NACAR	
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Fatih AKDEMİR	
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Suat TEKİN	
Üye	:.....
Üye	:.....