



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**APELİNİN BESLENME DAVRANIŞI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL
OLARAK İNCELENMESİ**

Sinan SARAL

DOKTORA TEZİ

Doç. Dr. Sinan CANPOLAT

TRABZON-2013



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**APELİNİN BESLENME DAVRANIŞI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL
OLARAK İNCELENMESİ**

Sinan SARAL

DOKTORA TEZİ

Doç. Dr. Sinan CANPOLAT

TRABZON-2013

ONAY

Bu tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Sinan SARAL'ın hazırladığı "Apelinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Sinan CANPOLAT



Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

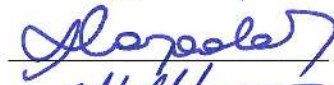
Prof. Dr. Ahmet AYAR



Prof. Dr. Selim KUTLU



Doç. Dr. Sinan CANPOLAT



Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM



Doç. Dr. Ahmet ALVER



Tarih: 07/ 02/ 2013

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

03.01.2013

Sinan SARAL

İTHAF

Bu tezi kıymetli Annem ve Babam ile tanıyamasam da varlığından onur duyduğum rahmetli dedem Ahmet SARAL'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yakın ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, kıymetli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sinan CANPOLAT'a gönülden teşekkür ederim. Aynı şekilde eğitimim boyunca desteğini hissettiğim Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR'a, tezimin her aşamasında yardım ve desteklerini gördüğüm tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ahmet ALVER'e teşekkür ederim. Çalışmalarımın deneysel ve istatistiksel analiz aşamasında yardımlarını esirgemeyen Giresun Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet ALKANAT'a, tez yazım aşamasında eleştirileri ile tezime katkıda bulunan Bitlis Eren Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Engin YILMAZ'a, her zaman manevi desteğini hissettiğim Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi kıymetli büyüğüm Sayın Prof. Dr. Yunus SARAL'a, KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalının değerli Öğretim Üyeleri, Doktora ve Yüksek Lisans Öğrencilerine, KTÜ Cerrahi Araştırmalar Merkez'i çalışanlarına, tezimi 2010.114.001.5 kod numarası ile destekleyen KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca bu zorlu süreçte bana sabır gösteren ve destek olan ablama, kardeşlerime ve diğer aile bireylerim ile sevgili eşim Özlem SARAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sinan SARAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İç kapak sayfası

KABUL ve ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ

v

ŞEKİLLER DİZİNİ

vi

SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ

vii

1.ÖZET

1

2. SUMMARY

2

3. GİRİŞ ve AMAÇ

3

4. GENEL BİLGİLER

5

4.1. Gıda Alımının Düzenlenmesinde Merkezi Sinir Sisteminin Rolü

5

4.1.1. İştahı Düzenleyen Hipotalamik Alanlar

5

4.1.1.1. Arkuat Nükleus

6

4.1.1.2. Paraventriküler Nükleus

7

4.1.1.3. Lateral Hipotalamik Alan

8

4.1.1.4. Ventromedial Nükleus

8

4.1.1.5. Dorsomedial Nükleus

9

4.1.2. Gıda alımında Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Rolü

9

4.1.2.1. Serotonin

9

4.1.2.2. Dopamin

10

4.1.2.3. Noradrenalin

10

4.1.3. Gıda Alımında Nöropeptiderjik Sistemin Rolü

11

4.1.3.1. Nöropeptid Y

11

4.1.3.2. Agouti ile İlişkili Protein

12

4.1.3.3. Pro-Opiomelanokortin Sistemi

13

4.1.3.4. Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript

13

4.1.3.5. Oreksinler	14
4.2.1. Gastrointestinal Hormonların Gıda Alımı Üzerine Etkileri	14
4.2.1.1 Ghrelin	14
4.2.1.2. Peptid YY	16
4.2.1.3. Kolesistokinin	17
4.2.2. Yağ Doku Hormonlarının Gıda Alımı Üzerine Etkileri	18
4.2.2.1. Adiponektin ve Resistin	18
4.2.2.2. Leptin	19
4.2.3. Apelin	20
4.2.3.1. Apelin Reseptörü	20
4.2.3.2. Apelin Biyosentezi	21
4.2.3.3. Apelinin Gıda Alımı Üzerine Etkisi	23
4.2.3.4. Apelinin Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi	24
4.2.3.5. Apelinin Diğer Sistemler Üzerine Etkileri	25
5. GEREÇ ve YÖNTEM	27
5.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	27
5.2. Çalışma Protokolü	29
5.3. Metabolik Ölçümler ve Apelin-13/ SF Uygulamaları	30
5.4. Numunelerin Toplanması	30
5.5. Biyokimyasal Değerlendirme	31
5.5.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar	31
5.5.2. Serum Peptid YY Düzeylerinin Ölçülmesi	32
5.5.3. Serum Nöropeptid Y Düzeylerinin Ölçülmesi	32
5.5.4. Serum Leptin Düzeylerinin Ölçülmesi	32
5.5.5. Serum Ghrelin Düzeylerinin Ölçülmesi	32
5.6. İstatistiksel Değerlendirme	33
6. BULGULAR	34
6.1. Metabolik Bulgular	34
6.1.1. Grupların Canlı Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	35
6.1.2. Grupların Yem Tüketimlerinin Değerlendirilmesi	37

6.1.2.1. Grupların Karanlık Faz Yem Tüketim Değerleri	37
6.1.2.2. Grupların Aydınlik Faz Yem Tüketim Değerleri	39
6.1.2.3. Grupların Günlük Yem Tüketim Değerleri	41
6.1.3. Grupların Su Tüketimlerinin Değerlendirilmesi	43
6.1.3.1. Grupların Karanlık Faz Su Tüketim Değerleri	43
6.1.3.2. Grupların Aydınlik Faz Su Tüketim Değerleri	45
6.1.3.3. Grupların Günlük Su Tüketim Değerleri	47
6.2. Biyokimyasal Sonuçlar	49
6.2.1. Serum Nöropeptid Y Değerleri	49
6.2.2. Serum Leptin Değerleri	50
6.2.3. Serum Ghrelin Değerleri	51
6.2.4. Serum Peptid YY Değerleri	52
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	53
8. SONUÇLAR	60
9. KAYNAKLAR	62
10. EKLER	84
Ek.1. Nöropeptid Y Standart Grafiği	84
Ek.2. Leptin Standart Grafiği	85
Ek.3. Ghrelin Standart Grafiği	86
Ek.4. Peptid YY Standart Grafiği	87
11. ETİK KURUL ONAYI	88
12. ÖZGEÇMİŞ	89

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Sıçan, fare ve insanlarda APJ ve Apelin mRNA'sının doku dağılımı	22
Tablo 2. Çalışmada kullanılan sıçan yeminin bileşimi	29
Tablo 3. Çalışmada kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar	30
Tablo 4. Çalışmada kullanılan cihazların ve laboratuvar malzemelerinin özellikleri	31
Tablo 5. Grupların günlük canlı ağırlık ortalamaları	35
Tablo 6. Grupların % canlı ağırlık değişim tablosu	36
Tablo 7. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri	37
Tablo 8. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri	39
Tablo 9. Grupların günlük 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri	41
Tablo 10. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri	43
Tablo 11. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri	45
Tablo 12. Grupların günlük 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri	47
Tablo 13. Grupların serum Nöropeptid Y düzeyleri	49
Tablo 14. Grupların serum leptin düzeyleri	50
Tablo 15. Grupların serum ghrelin düzeyleri	51
Tablo 16. Grupların Serum Peptid YY düzeyleri	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. ARN'deki NPY/AgRP nöron devrelerinin diğer hipotalamik çekirdekler ile bağlantısı	7
Şekil 2. Apelin geninden biyolojik olarak aktif olan fragmanların üretim şeması	21
Şekil 3. Sıçanların bakım ve beslenmesinde kullanılan metabolik kafesler	28
Şekil 4. Grupların % canlı ağırlık değişim grafiği	36
Şekil 5. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları	38
Şekil 6. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları	40
Şekil 7. Grupların günlük periyotta 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları	42
Şekil 8. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları	44
Şekil 9. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları	46
Şekil 10. Grupların günlük periyotta 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları	48
Şekil 11. Grupların serum Nöropeptid Y düzeylerini gösteren grafik	49
Şekil 12. Grupların serum leptin düzeylerini gösteren grafik	50
Şekil 13. Grupların serum ghrelin düzeylerini gösteren grafik	51
Şekil 14. Grupların serum Peptid YY düzeylerini gösteren grafik	52

SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

aa	Aminoasit
AdipoR1	Adiponektin Reseptör 1
AdipoR2	Adiponektin Reseptör 2
AgRP	Agouti ilişkili Protein
α-MSH	Alfa-Melanosit Stimüle Edici Hormon
AMPK	AMP-Bağımlı Protein Kinaz
AN	Aneroksia Nervosa
APJ	Apelinerjik Reseptör
ARN	Arkuat Nükleus
AVP	Arginin Vasopressin
BN	Bulumia Nervosa
CART	Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript
CCK	Kolesistokinin
CRF	Kortikotropin Salgılatıcı Faktör
DA	Dopamin
DMN	Dorsomedial Nükleus
ELISA	Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
GABA	Gama-Aminobütirik Asit
γ-MSH	Gama-Melanosit Stimüle Edici Hormon
GH	Büyüme Hormonu
Glu	Glutamik Asit
i.c.v	İntraserebroventriküler
i.p	İntraperitoneal
i.v	İntravenöz
JAK	Janus Kinaz
kDa	Kilo Dalton
Kg	Kilogram
LHA	Lateral Hipotalamik Alan

MCH	Melanin Konsantre Edici Hormon
MC3R	Melanokortin-3 Reseptör
MC4R	Melanokortin-4 Reseptör
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NA	Noradrenalin
ng	Nanogram
NPY	Nöropeptid Y
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NTS	Nükleus Traktus Solitarus
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
POMC	Pro-opiomelanokortin
PVN	Paraventriküler Nükleus
PYY	Peptid YY
SF	Serum Fizyolojik
SON	Supraoptik Nükleus
SSS	Sempatik Sinir Sistemi
STAT	Signal Transducerand Activators of Transcription
VMN	Ventromedial Nükleus
VTA	Ventral Tegmental Alan
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
5-HT	Serotonin

ÖZET

Apelinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi

Apelin, G-protein kenetli APJ reseptörünün endojen ligantıdır. Apelinerjik sistemin (apelin, APJ) hipotalamusun arkuat, supraoptik ve paraventriküler çekirdekleri gibi santral beyin alanları ile yağ doku, mide ve gastrointestinal kanal gibi periferel dokularda yaygın bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu doku dağılımı apelinin enerji dengesi ve beslenmenin kontrolünde rol oynayabileceğini göstermekle birlikte bu alanda yapılan önceki çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur. Bu çalışma, apelin-13'ün, beslenme davranışının düzenlenmesinde görev alan leptin, ghrelin, Nöropeptid Y ve Peptid YY hormon düzeyleri ile olan ilişkisinin yanısıra vücut ağırlığı, yem tüketimi, su alımı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. Araştırma için 32 adet Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler, her biri 8 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Sıçanlara 10 gün boyunca karanlık faza geçişte intraperitoneal yolla kontrol grubuna % 0,9'luk serum fizyolojik diğer çalışma gruplarına sırasıyla 30, 100 ve 300 µg/kg apelin-13 uygulandı. Deney süresince 12 saat aralıklarla sıçanların vücut ağırlığı, gıda alımı ve su tüketim değerleri kayıt edildi. Çalışmanın sonunda, sıçanlar dekapite edildi ve kan örnekleri toplandı. Örneklerde serum peptid düzeylerinin belirlenmesi için biyokimyasal analizler gerçekleştirildi. Metabolik sonuçlar, apelin-13 uygulanan grupların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarının arttığını gösterdi ($p<0.05$). İlave olarak, Apelin-13 uygulanan grupların yem tüketimi ve su alım değerleri, aydınlık fazda değişmezken karanlık faz ve bir günlük periyot ortalamalarına göre değerlendirildiğinde arttığı gözlemlendi. Biyokimyasal analizlerde serum leptin düzeyinin 100 ve 300 µg/kg apelin-13 uygulanan gruplarda arttığı tespit edildi. Ghrelin seviyeleri apelin-13 uygulanan bütün gruplarda yüksek bulundu. Serum Nöropeptid Y düzeyleri kademeli olarak azalırken sadece 300 µg/kg apelin-13 uygulanan grupta anlamlı bir azalma meydana geldi. Serum Peptid YY düzeyleri ise değişmedi. Sonuç olarak, apelin-13'ün sıçanlarda günlük vücut ağırlığı, yem tüketimi ve su alımını arttırdığı tespit edildi. Bu sonuçlar, apelin-13'ün ghrelin ve leptin aracılı etkilerle besin alımını düzenleyebileceğini gösterdi.

Anahtar Sözcükler: Apelin-13, Beslenme, Ghrelin, Leptin, Nöropeptid Y, Peptid YY

SUMMARY

Experimental Investigation of the Effects of Apelin on Nutrition Behavior

Apelin is the endogenous ligand for the G-protein coupled APJ receptor. The apelinergic system (apelin, APJ) have been found to have a widespread distribution in both the central nervous system such as arcuate, supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus and the peripheral tissues such as adipose tissue, stomach and gastrointestinal tract. This distribution suggests apelin may play a important role in feeding behavior and energy homeostasis, but previous studies in this area have shown conflicting results. This study aims to investigate the relationship between apelin-13 and leptin, ghrelin, Neuropeptide Y and Peptide YY levels effect on body weight, food intake and water consumption which are involved in nutrition behaviour regulation. In this study, 32 male Sprague Dawley rats were selected randomly and divided into 4 groups, each consisting of 8 rats. At dark phase transition, rats were injected intraperitoneally % 0.9 saline to control group, respectively 30, 100 and 300 µg/kg Apelin-13 to the other study group for 10 days. The rats' body weight, food intake and water consumption were recorded in 12-hour intervals during the experiment. At the end of the study, the rats were decapitated and blood samples were collected. Biochemical analyzes were performed to determine the levels of peptide in the blood samples. Metabolic results show that the groups which were implemented apelin-13, compared with the control group, increase body weight ($p < 0.05$). In addition to, food and water intake values of the apelin-13 administered groups did not change at the light phase; however, an increase was observed according to the dark phase and the evaluation of the the average of a one-day period. It was found in biochemical analyses that serum leptin levels had an increase on the groups administered 100 and 300 µg/kg apelin-13. Ghrelin levels were found higher in all of the groups administered apelin-13. While serum neuropeptide Y levels were gradually decreasing, there occurred a significant decrease just in group administered 300 µg/kg apelin-13. Serum Peptide YY levels did not change. As a result, it was found that chronic peripheral administration of apelin-13 increased body weight, food intake and water intake per day in rats. These results suggest that apelin-13 is able to regulate food intake through the peripheral peptides such as ghrelin and leptin.

Keywords: Apelin-13, Feeding, Ghrelin, Leptin, Neuropeptide Y, Peptide YY

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde, sağlığın korunması ya da yeniden kazandırılmasında beslenmenin rolü giderek önem kazanmaktadır. Bununla birlikte dünyada yetersiz veya aşırı gıda alımı ile karakterize beslenme hastalıklarının prevalansında hızlı bir artış görülmektedir. Obezite başta olmak üzere gelişmiş ve gelişmekte olan endüstriyel toplumların ciddi halk sağlığı problemleri arasında yer alan, Anoreksia Nervosa (AN), Bulimia Nervosa (BN) ve spesifik olmayan yeme bozuklukları gibi beslenme problemlerinin yaşam kalitesi ve süresini olumsuz yönde etkilediği ifade edilmiştir (1, 2). Beslenme hastalıkları sadece yetişkinler için değil aynı zamanda genç kuşaklar içinde önemli sağlık problemleri arasında yer almaktadır (3). Öyleki, obezite ve ilgili beslenme bozukluklarının gelişen dünyada hem ölümlerin hem de hastalıkların ortaya çıkışında başlıca sebepler arasında yer aldığı görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, 2008 yılı itibarıyla dünyada 20 yaş ve üzeri yaklaşık 1.4 milyar insanın kilolu ve bu bireyler içerisinde yaklaşık 300 milyon kadın ve 200 milyondan fazla erkeğin ise obez olduğu rapor edilmiştir (4). Obezite prevalansında görülen bu ciddi artışın beraberinde Tip 2 diyabet, hiperlipidemi, arteriyel hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve kanser gibi bazı hastalıkların ortaya çıkışına zemin hazırladığı bildirilmiştir (5, 6).

Vücut ağırlığının dengeli ve sabit tutulmasının yanında enerji homeostazisinin sürdürülebilmesi bir dizi karmaşık sistemler ile sağlanabilmektedir. Bu kompleks yapı, duysal ve ödüllendirme yolları gibi yüksek kortikal merkezlerin yanı sıra enerji depoları ve tokluk sinyallerini ileten periferik alanlardan oluşmaktadır. Santral düzeyde hipotalamus, enerji dengesi ve beslenme davranışını düzenlenmesinde önemli bir beyin bölgesidir (7). Bununla birlikte hipotalamus, yağ doku, sindirim sistemi ve beyin sapından gelen sinyal girdilerinin alındığı ve değerlendirildiği nöronal çekirdeklere sahiptir. Apelin, mide ve yağ dokudan sentezlenen peptid yapılı bir hormondur (8, 9). Apelinerjik sistem (apelin, APJ), beslenme ve enerji metabolizmasının düzenlendiği periferik yapılar ve santral beyin alanlarında gösterilmiştir (10, 11, 12). Ancak, apelinerjik sistemin, beslenmenin nöroendokrin düzenlenmesinde görev alan leptin, ghrelin, Nöropeptid Y (NPY) ve Peptid YY (PYY) gibi başlıca nöromodulatorlerle

ilişkisi hakkında bilinenler sınırlıdır. Bununla birlikte, bu alanda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada çelişkili sonuçlar gösterilmiştir (13, 14, 15).

Bu çalışmada sıçanlara kronik periferel apelin-13 uygulamasının yem tüketimi, su alımı ve vücut ağırlığı gibi metabolik veriler ile leptin, ghrelin, NPY ve PYY gibi biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, beslenme hastalıklarının önlenmesine önemli ölçüde katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Gıda Alımının Düzenlenmesinde Merkezi Sinir Sisteminin Rolü

Açlık, tokluk ve iştah duyuları, besin alımı ile enerji tüketimi arasında bir denge oluşturacak şekilde beslenme davranışının gerçekleşmesini sağlar. Bu dengenin oluşumu çok sayıda nöromodülatörün etkinliği ile gerçekleşir. İştah, besin alımındaki bireysel cevabı düzenlemeye yönelik etkileşen periferik sinyaller ve merkezi kompleks bir sistem tarafından düzenlenir. Besin alımının Merkezi Sinir Sistemi (MSS) tarafından düzenlenmesine Nöropeptiderjik, Monoaminerjik ve Endokannabinoid sistem gibi çok sayıda efektör yapı eşlik eder. Bununla birlikte MSS, yeme davranışının başlatılmasındaki duysal deneyimlerin yanında yutma, emilim, metabolizma ve enerji depolama gibi süreçleri de kontrol eden geniş bir ağı içine alır. Periferik olarak ise beslenmenin daha çok gastrointestinal kanal ve yağ dokudan köken alan açlık veya tokluk sinyallerinin santral düzeydeki etkileri ile düzenlendiği rapor edilmiştir (16).

Beyin ile gastrointestinal kanal arasında yer alan en önemli sinyal yolağı vagus siniridir. Abdominal afferent sinir liflerinin hücre gövdeleri içerisine aktarılan sinyaller beyin sapı üzerine projekte olur. Dorsal vagal kompleks olarak adlandırılan bu bölgedeki sinyaller Nükleus Traktus Solitarus (NTS) aracılığıyla hipotalamus ve yüksek beyin merkezlerine iletilir (17). NTS'den hipotalamusa projekte olan afferent sinyaller besin alımının düzenlenmesine yönelik nöroendokrin devreleri uyarır. Uzun yıllardır yapılan çalışmalarda hipotalamusun beslenme ve metabolizmanın kontrolünde birçok peptid aracılığıyla etkin rol oynadığı gösterilmiştir (18).

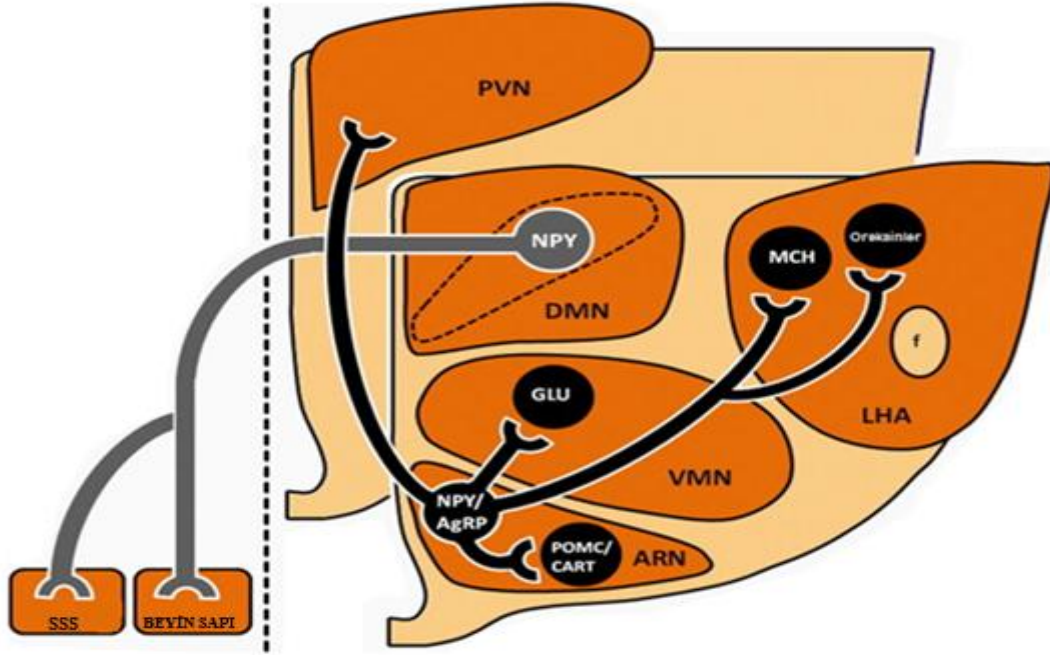
4.1.1. İştahı Düzenleyen Hipotalamik Alanlar

Hipotalamus, enerji dengesi ve besin alımının kontrolünü sağlayan çok sayıda nöronal çekirdekten oluşmuştur. Aksonal projeksiyonlar aracılığıyla birbiri ile etkileşim halinde olan bu çekirdekler hem yağ dokudan hem de gastrointestinal kanaldan köken alan periferik açlık ve tokluk sinyallerine karşı oluşacak beslenme cevabını şekillendirirler (19, 20).

Gıda alımının merkezi kontrolünü açıklayan teoriler, deney hayvanlarında oluşturulan hipotalamik lezyonlar sonucu “çift merkezli alan” hipotezi üzerine kurulmuştur. Bu alanlardan ilki Ventromedial Nükleus’tur (VMN) ve “doyma merkezi” olarak adlandırılmıştır. Diğer hipotalamik alan ise Lateral Hipotalamik Alandır (LHA) ve “açlık sinyallerini alan” merkez olarak tanımlanmıştır. Deneysel olarak LHA’da oluşturulan lezyonların gıda alımında azalma ve iştahsızlığa neden olduğu gösterilirken VMN’ da meydana gelen hasarın ise iştah merkezini uyararak obeziteye neden olduğu bildirilmiştir (21, 22). Bu alanların yanı sıra hipotalamusta açlık ve tokluğun kontrolünde anahtar rol oynayan Arkuat Nükleus (ARN), Paraventriküler Nükleus (PVN) ve Dorsomedial Nükleus (DMN) gibi farklı nöron çekirdeklerinin de varlığı gösterilmiştir (23).

4.1.1.1. Arkuat Nükleus

Beslenmenin düzenlenmesinde öncül hipotalamik merkez olarak adlandırılan ARN, 3. ventrikülün tabanı ile median eminensin üst kısmında yer alır. Periferik dokulardan salınan ve vücudun beslenme durumunu (açlık, tokluk) düzenleyen sinyaller ARN’ye ulaşır. ARN’nin median eminense yakınlığı PYY, glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1), leptin ve insulin gibi çok sayıda peptid yapılı hormonun kan beyin bariyerini kolayca geçmesine olanak tanır (24, 25, 26). Hipotalamik ARN’de fonksiyonel olarak birbirinden farklı, enerji dengesi ve iştahı düzenleyen iki ayrı nöron grubu gösterilmiştir. Bu nöronlar oreksijenik (besin alımını uyarıcı) etkili NPY ve Agouti İlişkili Protein (AgRP) ile anoreksijenik (besin alımını baskılayan) etkili Pro-opiomelanokortin (POMC) ve Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript (CART) üreten nöronlardır. Oreksijenik sinyallerin, ARN’de bulunan NPY/AgRP nöronlarını aktive ederek besin alımını güçlü bir şekilde uyardığı gösterilirken, leptin benzeri anoreksijenik sinyallerin lateral ARN içerisindeki POMC/CART nöronları aracılığıyla besin alımını baskıladığı tespit edilmiştir (27). İlave olarak, ARN’nin besin alımının kontrolünde sempatik sinir sistemi (SSS), beyin sapı ve diğer hipotalamik çekirdekler ile (LHA, VMN, DMN ve PVN) etkileşim halinde olduğu (şekil 1) gösterilmiştir (19). ARN’de toplanan bütünleştirici sinyaller, ilgili çekirdeklerdeki nöronal alanlara projekte olup iştahın kontrolünü gerçekleştirir.



Şekil 1. ARN'deki NPY/AgRP nöron devrelerinin diğer hipotalamik çekirdekler ile bağlantısı. PVN; Paraventriküler Nükleus, ARN; Arkuat Nükleus, VMN; Ventromedial Nükleus, LHA; Lateral Hipotalamik alan, DMN; Dorsomedial Nükleus, MCH; Melanin Konsantre Edici Hormon, NPY; Nöropeptid Y, AgRP; Agouti ilişkili Protein, POMC; Proopiomelanokortin, CART; Kokain Amfetamin İlişkili Transkript, GLU; Glutaminerjik Reseptör, SSS; Sempatik Sinir Sistemi, f; Fornikal alan (Rebecca'dan, 28).

4.1.1.2. Paraventriküler Nükleus

PVN, iştah ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görevli çok sayıda nöroendokrin yapıdan bütünleştirici sinyaller alan hipotalamik bir çekirdektir. PVN'ye ulaşan sinyaller, özellikle ARN'deki NPY/AgRP ve POMC/CART nöronları ile LHA'da yer alan oreksin nöronlarından köken alır (29). Deneysel olarak, sıçanlarda bilateral PVN lezyonlarının şiddetli hiperfaji ve obeziteye neden olduğu bildirilmiştir (30). Bunun yanı sıra PVN, NTS'den gelen anoreksijenik sinyallerin sonlandığı yer olarakta bilinmektedir (31). Özellikle leptin ve kolesistokinin (CCK) gibi periferik peptidlerin salınımına cevap olarak PVN nöron aktivitesinin arttığı ancak açlık sinyallerinden sorumlu ghrelin ve NPY'nin benzer etki oluşturmadığı tespit edilmiştir (32, 33, 34). Leptinin PVN aracılı iştah ve besin alımını baskılayıcı etkisinde alfa-

Melanosit stimüle edici hormonun (α -MSH) etkinliği gösterilmiştir. Öyleki, leptin ARN'den α -MSH sentezini uyarır ve bu sinyaller PVN'ye projekte olur. α -MSH düzeyindeki artış PVN'de bulunan melanokortin 4 reseptörünü (MC4R) aktive eder. Bunun sonucunda bir yandan besin alımında baskılanma meydana gelirken diğer yandan enerji harcanmasına yönelik mekanizmalar uyarılmış olur. Bu mekanizmanın oluşumunda PVN'den çıkan sinyallerin beyin sapına, omuriliğe, kortekse, talamus ve ön hipofize ulaşması rol oynar (35).

4.1.1.3. Lateral Hipotalamik Alan

LHA 'nın uyarılması besin alımında artış meydana getirir. Vücut ağırlığının azalmasına yanıt olarak, LHA nöronlarının uyarılması, bir yandan besin alımını arttırırken diğer yandan enerji harcanımını azaltılır. Bunun sonucunda yağ depoları doldurularak kilo alımı sağlanmaya çalışılır. Deneysel LHA lezyonlarının anoreksi ile sonuçlandığı ve bu durumun gıda alımı ve vücut ağırlığı kazanımı için gerekli olan motivasyonel hissi azalttığı bildirilmiştir (22). LHA bir yandan, aynı nöronal alanda yer alan ve besin alımını uyararak Melanin Konsantre Edici Hormon (MCH) ve oreksin sinyalleri ile uyarılırken diğer yandan ARN'den oreksijenik sinyaller alır. Bu yapı içerisinde NPY, AgRP ve α -MSH'nın nöron çekirdekleri ile oreksin ve MCH üreten nöronların hücre gövdelerinin temas halinde olduğu gösterilmiştir (36). Beslenmenin düzenlenmesinde PFA'nı da içine alan LHA'nın etkinliği uzun bir süredir bilinmesine karşın moleküler mekanizmaların açıklanabilmesi, ilk oreksijenik peptid olan MCH'nın keşfi ile netlik kazanmıştır. MCH, magnoselüler nöronlarda eksprese edilir ve gıda alımının düzenlenmesinde önemli bir etkinliğe sahiptir. Sıçanlara tekrarlanan i.c.v MCH uygulamalarının LHA aracılı gıda alımını ve vücut yağ oranını arttırdığı rapor edilmiştir (37, 38, 39). Ayrıca LHA'da oreksin sinyal aktivasyonunun başlıca NPY sentezi üzerinden iştah ve enerji metabolizmasının kontrolünde etkin rol oynadığı bildirilmiştir (40, 41).

4.1.1.4. Ventromedial Nükleus

Hipotalamik yapılar arasında VMN “doyma merkezi” olarak bilinir ve gıda alımı üzerine baskılayıcı bir etkiye sahiptir. Bray ve ark (42) deneysel VMN hasarının sıçanlarda hiperfajiye ve devamında obezite neden olduğunu göstermişlerdir. Ancak

daha sonra yapılan bazı çalışmalarda bu sonuç teyid edilememiştir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda oral glukoz yüklemesini takiben hipotalamik VMN nöronlarının sinyalizasyonunda artış meydana gelmiştir. Bu sonuç VMN’de çok sayıda glukoz duyarlı nöronun varlığını işaret etmektedir (43). Vücudun hipotalamik düzeyde açlık ve tokluk hissinin oluşumundan sorumlu ghrelin ve leptin salınımının VMN nöron aktivitesini değiştirdiği bilinmektedir. Santral düzeyde NPY sentezinin baskılanarak leptin aracılı POMC nöronlarının aktive edilmesi VMN’nin anoreksijenik etkisini açıklar (44, 45). Sıçanlarda VMN içerisine leptin mikroyenjeksiyonunun vücut ağırlığı ve gıda alımını belirgin bir şekilde azalttığı rapor edilmiştir (46). Benzer bir çalışmada da VMN içerisine düşük dozlarda (50 ng) leptin enjeksiyonunun sempatik aktiviteyi uyardığı ve enerji harcanmasında artışa neden olduğu gösterilmiştir (47).

4.1.1.5. Dorsomedial Nükleus

Hipotalamik DMN’nin besin alımı ve enerji homeostazisinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (48). Bu alanın deneysel olarak uyarılmasının besin alımını hem uyardığı hem de baskıladığı gösterilmiştir. Sıçanlarda oluşturulan DMN hasarının hiperfaji ve obezite ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (48,49). DMN’nin gıda alımını düzenleyici etkisi, özellikle hipotalamusun ARN bölgesinden köken alan ve uyarıldıklarında besin alımını arttıran NPY/AgRP nöronları ile düzenlenir (50). DMN içerisinde NPY sentezleyen hücre gövdeleri vardır ve bu yapılar gebe ve laktasyonda olan sıçanlardaki hiperfajinin nedeni olarak bilinmektedir (51). Deneysel obezite oluşturulan farelerde DMN ve VMN’deki NPY düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaklaşık % 40 oranında arttığı tespit edilmiştir (52). Tam tersine CART nöronların DMN’ye projekte olarak leptin aracılı besin alımını azalttığı da bildirilmiştir (53).

4.1.2. Gıda Alımında Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Rolü

4.1.2.1. Serotonin

Vücudun total serotonin (5-HT) seviyesinin yaklaşık %80’i gastrointestinal kanalda bulunan enterokromafin hücrelerde bulunmaktadır (54). İlave olarak, 5-HT dorsal raphe nükleusu içerisinde de sentezlenmektedir. Deney hayvanı modellerinde

yapılan çalışmalarda 5-HT sinyalizasyonunun gıda alımı ve enerji dengesinin düzenlendiği beyin alanlarındaki etkinliği gösterilmiştir. 5-HT iştahı baskılayıp enerji tüketimini arttıran bir nörotransmitter olarak bilinmektedir (19). Sıçanlarda medial raphe çekirdeğinin 5-HT üreten nöronlarının deneysel olarak baskılanmasının beslenme davranışını uyararak yem tüketimini arttırdığı rapor edilmiştir (55). Farklı bir çalışmada ise hipotalamusun medial çekirdekleri içerisine doğrudan 5-HT infüzyonunun besin alımını azalttığı gösterilmiştir (56). 5-HT bir yandan hipotalamik düzeyde anoreksijenik POMC nöronlarının aktivite ederken diğer yandan ARN'de bulunan NPY ve AgRP nöronlarını hiperpolarize ederek uyarılabilirliklerini azaltır (57). Bu mekanizmada, 5-HT aracılı besin alımının baskılanmasında melanokortin sistemin etkinliğinin daha belirgin olduğu ifade edilmiştir (58).

4.1.2.2. Dopamin

Beslenme davranışının düzenlenmesinde dopaminerjik sinyallerin önemi gösterilmekle birlikte (59), dopaminerjik lifler ile dopamin (DA) üreten hücre gövdelerinin hipotalamusta yer aldığı bildirilmiştir (60). Hipotalamik beyin alanlarında DA'nın besin alımı üzerine etkisine aracılık eden beş farklı (D1-D5) reseptör alt tipi belirlenmiştir. Genel olarak iki farklı reseptörün etkinliği belirgindir. D1 reseptörü Supraoptik Nükleus (SON), VMN ve LHA'da etkinlik gösterirken, D2 reseptörü bu alanlardan farklı olarak ARN ve lateral mamillar nükleus'da etkinlik göstermektedir (61). Sıçanlarda D1 ve D2 reseptör agonistlerinin günlük besin alımı ve vücut ağırlığını azalttığı rapor edilmiştir. Besin alımı üzerine DA'nın baskılayıcı etkisinin hipotalamik NPY düzeyindeki azalmanın bir sonucu olduğu ifade edilmiştir (62). Ventral Tegmental Alandan köken alan DA reseptörleri ile leptin, ghrelin ve insülin reseptörlerinin etkileşim halinde olduğu bilinmektedir. Deneysel obezite oluşturulan farelerde DA agonistlerinin vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir (63). Ayrıca, hipotalamik DA düzeylerinin yem tüketiminin sürekliliği, öğün sayısı ve miktarı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (64).

4.1.2.3. Noradrenalin

Noradrenalin (NA), MSS'de dorsal vagal kompleks ve locus seruleus gibi alanlardan sentezlenmektedir. Buradan köken alan NA sinyalleri hem kaudal spinal

kord hem de hipotalamus, talamus ve korteks gibi beyin alanlarına projekte olur. Hipotalamik PVN içerisine projekte olan NA sinyalleri hem NPY hem de POMC içeren nöronal alanlara yakın bölgelerde sonlanmaktadır (19). Sıçanlarda, PVN içerisinde sonlanan NA sinyallerinin beslenme davranışı üzerine etkileri, birbirleriyle antagonistik etki gösteren α -adrenerjik reseptörlerin iki alt tipi aracılığıyla gerçekleşir. α_2 -adrenerjik reseptörlerin uyarılması besin alımını uyarırken, α_1 -adrenerjik reseptörlerin aktive edilmesinin ise besin alımını baskıladığı rapor edilmiştir (65). Bunun yanı sıra, NA'nın anoreksijenik etkinliğinin daha belirgin olduğu bilinmektedir. Bu etkinin oluşumunda NA'nın rolü adipositlerdeki β_3 - adrenerjik reseptörlere bağlanarak leptin gen ekspresyonunu azaltması şeklindedir (66).

4.1.3. Gıda Alımında Nöropeptiderjik Sistemin Rolü

4.1.3.1. Nöropeptid Y

1982 yılında beyin dokusundan izole edilen NPY, polipeptid yapılı ve 36 a.a'dan oluşan bir peptittir. NPY, santral düzeyde güçlü oreksijenik etkinliği bilinen bir nörohormondur (67). Oreksijenik etkinliği ön plana çıkan NPY'nin, kardiyovasküler fonksiyonlar (68), anksiyete (69), öğrenme ve bellek (70) gibi birçok fizyolojik süreçte görev aldığı gösterilmiştir. NPY, MSS'de besin alımı ve iştahı düzenleyen hipotalamik ARN, PVN ve LHA'da belirgin olmak üzere VMN ve DMN'de de gösterilmiştir (71). NPY sentezleyen nöronal yapıların özellikle hipotalamik ARN bölgesinde yoğun olduğu bilinmektedir. İlave olarak, NPY santral düzeyde hipotalamik çekirdekler dışında beyin sapı ve hipokampusta yer alırken periferel dokularda ise bazı organların kan damarlarının etrafındaki sinir plexuslarında, adrenerjik sinir uçlarında ve adrenal medullanın kromafin hücrelerinde noradrenalin ile birlikte yer alır (72). İştahın kısa süreli kontrolünden sorumlu olan NPY'nin fizyolojik etkileri G protein kenetli (Y1,Y2,Y4,Y5,Y6) 5 farklı reseptör aracılığıyla düzenlenir. Ancak, NPY'nin oreksijenik etkisine aracılık eden esas reseptörler Y1 ve Y5 reseptörleridir (73). Erişkin sıçanlarda NPY Y1 reseptör agonistlerinin i.c.v uygulaması besin alımını uyarırken (74) Y1 reseptör antagonistlerinin ise besin alımını baskıladığı gösterilmiştir (75). Benzer bir çalışmada, Sıçan PVN içerisine selektif Y5 reseptör agonisti ([Ala³¹, Aib³²]) uygulamasının besin alımını uyardığı rapor edilmiştir (76). Deneysel olarak, sıçanlarda

PVN ve LHA içerisine kronik NPY enjeksiyonlarının besin alımını hızlı bir şekilde uyardığı ve tokluk hissinin oluşmasını geciktirdiği tespit edilmiştir. NPY'nin oreksijenik etkinliği başlıca, alınan besinin hacminde bir artış meydana getirmesi ve besin alım süresini uzatmak şeklindedir. Bu durum şiddetli hiperfaji ve obezite ile sonuçlanır (77).

Beslenme davranışının kontrolünde ARN'deki NPY nöronları sadece santral düzeydeki nöron çekirdeklerinden sinyal almakla kalmaz aynı zamanda yağ doku ve gastrointestinal kanaldan köken alan periferik sinyallerin de hipotalamustaki hedef bölgesi olarak işlev görür (78). Mide kaynaklı periferik açlık sinyalleri oluşturan ghrelin hormonunun farelere hem santral hem de periferal uygulanmasının NPY/AgRP nöronlarının aktivitesini uyarak besin alımını arttırdığı gösterilmiştir (79). Diğer yandan özellikle leptin gibi anoreksijenik peptidler NPY salınımını baskılayarak besin alımını azaltırlar (80). Bu etki leptinin bir yandan NPY/AgRP nöronlarını baskılayarak diğer yandan POMC nöronlarını uyarmasının bir sonucudur (81). Deneysel çalışmalarda, sıçanlara i.c.v NPY uygulamasının bir yandan besin alımı ve yağ birikimini arttırırken diğer yandan termogenezi azaltarak kalori harcanmasını sınırlandırdığı rapor edilmiştir (82). ARN'den NPY sentez ve salınımını uyaran adiponektin (83) ve oreksin (84) gibi hormonların gıda alımını uyardığı, insülin ve amilin benzeri hormonların ise NPY salınımını baskılayarak gıda alımını azalttığı gösterilmiştir (85).

4.1.3.2. Agouti İlişkili Protein

Agouti geninin bir ürünü olan AgRP, ARN'nin medial kısmında yer alan ve uyarıldığında besin alımını arttıran oreksijenik bir peptiddir. NPY'nin aksine AgRP gıda alımının uzun süreli düzenlenmesinden sorumludur (86). AgRP, bir yandan ghrelinin oreksijenik etkilerine aracılık ederken diğer yandan leptin ve insülin gibi vücut ağırlığının kontrolünde anahtar rol oynayan anoreksijenik peptidlerin etkilerini azaltır (87). Erişkin farelerde iştah ve enerji homeostazisinin sürdürülebilmesi için AgRP gen ekspresyonunun gerekli olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada, ARN'de aşırı AgRP üretiminin besin alımını arttırdığı tespit edilmiştir (88). Bununla birlikte, oreksinler ve opioid reseptörlerin de AgRP'nin oreksijenik etkisine aracılık edebileceği

gösterilmiştir (19). Yapılan bazı çalışmalarda insanların dolaşımındaki yüksek AgRP seviyelerinin obeziteye neden olduğu (89), AgRP gen polimorfizminin ise obezite gelişimini geciktirdiğine yönelik raporlar gösterilmiştir (90).

4.1.3.3. Pro-Opiomelanokortin Sistemi

Enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan POMC, başta α -MSH olmak üzere β -endorfin ve γ -MSH gibi moleküllerin prekürsör maddesidir. Vücutta yağ doku artışına bağlı artan leptin düzeyinin POMC gen ekspresyonu ve POMC türevi peptidlerin sentezini arttırdığı bildirilmiştir (91). POMC ekspresyonuna bağlı artan α -MSH'nin anoreksijenik etkinliği, santral düzeyde melanokortin-3 (MC3R) ve MC4R olmak üzere iki farklı reseptör aracılığıyla düzenlenir. Bu reseptörlerin beyinde özellikle hipotalamik ARN'de yoğun olduğu bilinmektedir (19). Leptinin anoreksijenik sinyal uzantılarının PVN'ye ulaşması MC4R'nin uyarılmasına neden olur. Artan MC4R aktivitesi ise besin alımında azalmayla sonuçlanır (92). İlave olarak, MC4R gen mutasyonlarının besin alımı ve enerji dengesini olumsuz yönde etkilediğine dair sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, insanlarda morbid obez vakalarının % 5'den daha fazlasının MC4R geninin mutasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (93).

4.1.3.4. Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript

Besin alımının kontrolünde CART veya fragmanlarının etkisi baskılayıcı niteliktedir. Bu nöronlar başta LHA ve PVN olmak üzere hipofiz ve striatum gibi beyin bölgelerinde bulunurken periferde de ise pankreas adacıkları, ince bağırsağın myenterik pleksusları ve adrenal medulla gibi yapılarda yaygın bir dağılım göstermektedir (94). Özellikle hipotalamik ARN bölgesindeki POMC nöronlarının yaklaşık %90'ının CART ile aynı alanda yerleştiği bilinmektedir. CART nöron aktivitesinin leptin (95), ghrelin ve kolesistokinin gibi çok sayıda periferik sinyalle düzenlendiği rapor edilmiştir (96). İlave olarak, CART nöronlarının anoreksijenik etkinliğinin leptin ve NPY ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir. Leptin CART nöronlarını pozitif bir şekilde uyarır ve besin alımı baskılanır. Deneysel leptin eksikliği (ob/ob) ve leptin direnci (fa/fa) oluşturulan farelerde CART ekspresyonunun azaldığı, aynı çalışmada santral CART uygulamalarının doz bağımlı olarak besin alımını baskıladığı rapor edilmiştir (97). Sıçanlarda yapılan farklı bir çalışmada ise hipotalamik CART nöron aktivitesinin

baskılanmasının şiddetli hiperfajiye neden olduğu ve beraberinde vücut ağırlığının arttığı gösterilmiştir (98).

4.1.3.5. Oreksinler

Endojen oreksin (hipokretin) sistemi 1998 yılında sıçan hipotalamusunun lateral kısmında sentezlenen iki farklı (Oreksin-A ve Oreksin-B) peptid grubu olarak keşfedilmiştir (99). İmmunoreaktif sonlanmalarının beyinde geniş ölçüde dağılım gösterdiği bilinen oreksinlerin G-protein bağlı OX_1 ve OX_2 olmak üzere iki ayrı reseptörü tanımlanmıştır. Oreksin-A, her iki reseptöre aynı ölçüde affinite gösterirken, Oreksin-B OX_2 reseptörüne yaklaşık 10 kat daha yüksek affinite gösterir (100). Oreksinlerin ARN'de yer alan NPY ve POMC nöronları ile etkileşim halinde olduğu ve özellikle Oreksin-A'nın besin alımını uyarıcı etkisine NPY nöronlarının aracılık ettiği gösterilmiştir (101). Akut santral oreksin uygulamalarının kemirgenlerde güçlü bir hiperfajik yanıt oluşturduğu ve tokluk hissinin başlangıcını geciktirdiği rapor edilmiştir (102). Diğer yandan oreksinlerin homeostatik mekanizmalar aracılığıyla besin alımını uyardığı öne sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda uzun süreli açlık (48-72 saat) koşulları ve hipogliseminin hipotalamusta oreksin mRNA sentezini güçlü bir şekilde uyardığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada besin alımını takiben salınan tokluk sinyallerinin oreksin düzeyini azalttığı rapor edilmiştir (100). Farklı bir çalışmada ise sıçanlara tek doz i.c.v oreksin uygulamasının ışık periyodu boyunca besin alımını uyardığı ancak karanlık fazda değiştirmedeği gösterilmiştir (103).

4.2. Gıda Alımının Periferik Kontrolü

4.2.1. Gastrointestinal Hormonlarının Gıda Alımı Üzerine Etkileri

4.2.1.1 Ghrelin

Ghrelin, 1999 yılında Kojima ve ark (104) tarafından büyüme hormonu salgılatıcı (GHS) tip 1a reseptörünün endojen ligandı olarak tanımlanmıştır. Başlıca midenin oksintik mukozasında yer alan endokrin özelliğe sahip hücreler tarafından sentezlenmekle birlikte sindirim sistemi dışında beyinde DMN, VMN, PVN ve ARN gibi hipotalamik çekirdek ve hipofiz ile adrenal korteks, pankreas, plasenta, akciğer,

testis ve ovaryum gibi çok sayıda periferik yapıdan da köken aldığı bildirilmiştir (105). Deneysel olarak farelerin cerrahi müdahale ile midelerinin çıkarılması, plazma ghrelin seviyesinde yaklaşık % 80 oranında bir azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir (106). Bu sonuç vücuttaki total ghrelin düzeyinin ana kaynağının mide mukozası olduğunu göstermektedir. İnsanlarda plazma ghrelin seviyesi yaklaşık 200-600 ng/L olup plazma yarılanma ömrü 60 dakikadan daha kısadır (107). Plazma esterazı tarafından kolayca yıkılır ve des-octanoyl-ghrelin'e dönüşür ki bu molekül inaktiftir.

Ghrelin, hipofiz bezinden GH salınımını uyarmasının yanında metabolizma ve enerji dengesinin düzenlenmesinde güçlü oreksijenik etkinliği sahip olan bir hormondur (105). İnsanlarda açlık sinyallerinin oluşumundan sorumlu olan ghrelinin besin alımından önce plazma düzeyleri hızlı bir şekilde artarken besin alımını takiben bazal seviyesine gerilediği gösterilmiştir (108). Ghrelin sinyalizasyonundaki artış santral düzeyde ARN'de bulunan oreksijenik nöron devrelerini uyarır. Bu alanda yer alan NPY ve AgRP nöronlarının aktivasyonu besin alımına yönelik endokrin cevabı oluşturur (109). Oluşan cevabın gıda alımı üzerine etkisinin hızlı ve geçici olduğu bildirilmiştir (110). Deneysel olarak, i.c.v NPY ve AgRP reseptör antagonistlerinin uygulanmasının ghrelin aracılı uyarılan besin alımını baskıladığı gösterilmiştir (111). İlave olarak, açlığa bağlı artan plazma ghrelin seviyesi ile deneysel ghrelin enjeksiyonlarının ARN'ye ulaşan sinyal yoğunluğunu arttırdığı ve buradan köken alan sinyallerin diğer hipotalamik çekirdeklerdeki oreksijenik devreleri uyardığı bilinmektedir (112). Ghrelin bir yandan besin alımını uyarırken diğer yandan lipogenezi aktive ederek vücut yağ doku hacminde artış neden olduğu ifade edilmiştir (113). İlave olarak, ghrelin ARN'nin perikarya bölümünde yer alan anoreksijenik POMC nöronları üzerine efferent inhibitör sinyaller gönderir (112). Özellikle leptinin besin alımını sınırlayıcı etkisi POMC nöronları üzerinden gerçekleştiği düşünüldüğünde ghrelinin stimülatör etkisinin leptin tarafından baskılanabileceği görülmektedir. Bu sonuç leptinin ghrelin üzerinde doğal bir antagonistik etki oluşturabileceği şeklinde değerlendirilmiştir (113). Korbonits ve ark (114) ghrelinin iştahı uyarıcı etkisinin 3 farklı yolla meydana gelebileceğini ifade etmişlerdir. İlk olarak, ghrelin mideden salınarak dolaşıma geçer ve bu yolla beyine ulaşarak kan beyin bariyerini geçer ve hipotalamustaki spesifik reseptörlerine bağlanır. Diğer bir yolak olarak, vagal sinir ve NTS aracılığıyla beyin alanlarına uzanır. Son olarak ise, ghrelin hipotalamus içerisinde sentezlenir ve doğrudan hipotalamik

çekirdekler üzerine etki gösterir. Bunun yanında ghrelinin oreksijenik etkisine NPY dışında aracılık edebilecek diğer bir santral peptid ise oreksin'dir. Oreksin, ghrelinin besin alımını artırmasında gerekli olan santral uyarının tetiklenmesini sağladığı bildirilmiştir (115). Diğer bir yolak ise, hipotalamik AMP- Aktive Protein Kinaz (AMPK) aktivasyonudur. Deneysel olarak, sıçanlara santral (116) ve periferel (117) ghrelin enjeksiyonlarının AMPK aktivasyonunu uyardığı ve bunun sonucunda besin alımı ve vücut ağırlığının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

4.2.1.2 Peptid YY

Besin alımına yanıt olarak bağırsakların ileum ve kolon kısmında yer alan L hücreleri tarafından salınan PYY, NPY peptid ailesine ait 36 a.a'lık bir moleküldür (118). Anoreksijenik etkinlik gösteren PYY küçük miktarlarda özefagus, mide, duodenum ve jejunumda da tespit edilmiştir (119). PYY₍₁₋₃₆₎ ve PYY₍₃₋₃₆₎ olmak üzere iki farklı endojen forma sahiptir ve etkisine NPY Y2 reseptörü aracılık eder. PYY₍₃₋₃₆₎'nın reseptör affinitesi diğer molekül tipine göre daha yüksektir (120). PYY düzeyinin artışı özellikle yağ ve karbonhidrat kökenli gıdaların bağırsak mukozasına temas etmesi ile uyarılır (121). Periferel dokulardan salınan PYY₍₃₋₃₆₎ hipotalamusun ARN bölgesinde yer alan Y2 reseptörleri aracılığı ile gıda alımı üzerine baskılayıcı etki gösterir. PYY₍₃₋₃₆₎'nın oluşturduğu anoreksijenik etkiye özellikle POMC nöronlarının uyarılması aracılık eder (122). ARN içerisine direkt PYY₍₃₋₃₆₎ uygulaması POMC sentezini arttırarak gıda alımını azalttığı bildirilmiştir (120). Bununla birlikte, PYY₍₃₋₃₆₎, NPY nöronları üzerine baskılayıcı sinyaller göndererek iştahı ve besin alımını azalttığı rapor edilmiştir (123). Ayrıca PYY₍₃₋₃₆₎'nın vagal afferent yolaklar aracılığıyla da hipotalamusu uyardığı tahmin edilmektedir. Bu hipotezi destekleyici nitelikte ortaya çıkan bir çalışmada, vagatomize ve beyin sapı-hipotalamus yolu lezyonlu sıçanlarda PYY₍₃₋₃₆₎'nın ARN nöronları üzerinden gerçekleştirdiği besin alımını baskılayıcı etkisinin ortaya çıkmadığı rapor edilmiştir (124).

Açlık durumunda PYY düzeyi düşük iken gıda alımını takiben hızla artar ve 1-2 saat içinde doruk noktaya ulaşır (125). Sıçanlara periton içi (i.p) yolla PYY₍₃₋₃₆₎ uygulamasının doza bağımlı olarak gıda alımını azalttığı gösterilmiştir (120). Sıçanlara PYY₍₃₋₃₆₎'nın periferel uygulanması midenin boşalma hızını yavaşlatırken mide asidi

oluşumunu ve pankreastan sindirim enzimlerinin sekresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (126). Batterham ve ark (127) obez ve zayıf olan gönüllü bireylerde yaptıkları çalışmalarda periferik PYY₍₃₋₃₆₎ uygulanmasının kalori alımını değiştirdiği özellikle obez bireylerde anorektik etkinin daha belirgin olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, iştah açıcı bir hormon olan ghrelin düzeyinin de her iki grupta düşük olduğu saptanmıştır. PYY'nin diğer bir formu olan PYY₍₁₋₃₆₎ ile yapılan insan çalışmalarında bu formun gıda alımı üzerine herhangi bir baskılayıcı etkisinin olmadığı görülmüştür (128). Bu sonuçlardan farklı olarak, sıçanlara i.c.v PYY₍₃₋₃₆₎ uygulamasının besin alımı artışı ile sonuçlandığı gösterilmiştir (129). Ortaya çıkan bu farklı sonuçların hipotalamik ARN'de yer alan Y1 ve Y5 reseptör aktivasyonunun bir sonucu olduğu bildirilmiştir (130).

4.2.1.3 Kolesistokinin

Kolesistokinin, duodenum, jejunum ve proksimal ileum mukozası içerisindeki enteroendokrin hücreler tarafından üretilen peptid yapılı bir hormundur. Gastrointestinal sistemde CCK; gastrik boşalma ve distansiyon, safra kesesi kontraksiyonu, pankreatik sekresyon ve intestinal motiliteyle ilişkilidir. İlave olarak, sindirim kanalı dışında hipotalamus, amigdala ve hipokampus gibi beyin bölgelerinde de varlığı gösterilmiştir (131). CCK, 115 a.a'lık prepro-CCK polipeptidi olarak sentezlenir ve CCK-8, CCK-22, CCK-33 ve CCK-58 olmak üzere 4 farklı biyoaktif forma dönüşür. CCK, besin alımını baskılayan ve tokluk hissi oluşturan bir peptid olup plazma düzeyi özellikle yağ ve protein içeriği zengin olan besinlerin duodenuma geçişini takiben yükselir. Kanda CCK düzeyini artması iki farklı mekanizmayı tetikleyerek besinlerin sindirimini hızlandırır. İlk olarak, içeriğin duodenuma geçişinin pankreasın enzim aktivitesini uyardığı ve enzimlerin duodenuma geçişini hızlandığı daha sonra ise safra kesesinin kasılmasını sağlayarak safra salgısının duodenuma geçişini arttırmak şeklinde olduğu bildirilmiştir. İlave olarak CCK, mide üzerine negatif feed-back sinyaller göndererek mide boşalma hızını yavaşlatır (132). Bu etkilerin yanı sıra CCK santral düzeyde, oreksijenik etkinliği olan ghrelin ve oreksin gibi hormonların etkilerini baskıladığı bildirilmiştir (133).

4.2.2. Yağ Doku Hormonlarının Gıda Alımı Üzerine Etkileri

4.2.2.1. Adiponektin ve Resistin

Adiponektin, yağ doku tarafından sentezlenen, 30 kDa büyüklüğünde kollajen benzeri bir protein olup özellikle beyaz yağ dokusu tarafından sentezlendiği bilinmektedir (134). Adiponektinin etkileri adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) ve adiponektin reseptör 2 (AdipoR2) olarak adlandırılan iki farklı reseptör üzerinden gerçekleşmektedir. Moleküler çalışmalarda adiponektinin insülin direnci ve obezite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Periferik adiponektin uygulamalarının bir yandan enerji harcanmasına yönelik mekanizmaları diğer yandan ise besin alımının baskılanmasını uyardığı bilinmektedir. Bununla birlikte, obezite ve tip 2 diyabetes mellitus'ta serum adiponektin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (135). Obez farelerde Serum adiponektin düzeylerindeki düşüşün, plazma yağ asidi düzeyleri ve trigliserid içeriğinde meydana gelen bir azalma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak, yağ doku artışının adiponektin düzeyinde azalma meydana getirmesine karşın diyetle ilgili yağ hacmi azalmasının adiponektin düzeylerini arttırmadığı görülmüştür. Bu durum adiponektin düzeylerinin sadece yağ doku hacmi ile değil aynı zamanda glukokortikoidler, katekolaminler, insülin ve interleukin-6 ile düzenlenebildiğini gösteren çalışmaları desteklemektedir (136).

Resistin, başta yağ doku olmak üzere hipofiz, hipotalamus ve pankreas adacıklarından sentezlenen 114 aa'lık bir peptid hormon olarak keşfedilmiştir. Resistin dişi farelerde gonadal organlarda yüksek oranda bulunurken erkek farelerde ise epididimal beyaz yağ dokudaki varlığı daha belirgindir. Resistin salınımı insülin ve glukagon'un da dahil olduğu bazı faktörler tarafından düzenlenebilir. Resistinin in vivo ve in vitro uygulanmasının insülin direnci oluşturduğu bilinmektedir. Deneysel olarak, resistinin i.p enjeksiyonları farelerde hedef hücrelerin glukoz toleransını azalttığı ve insüline karşı doku hassasiyetini bozduğu bildirilmiştir (137). Obezitenin derecesi ile yağ hücresi resistin mRNA miktarı arasında korrelasyonun varlığına işaret eden çalışmalarda, resistinin obezite ve tip 2 diyabetin gelişiminde rol oynayabileceğine yönelik sonuçlar elde edilmiştir.

4.2.2.2 Leptin

Leptin, 1994 yılında, Zhang ve ark (138) tarafından, ob/ob mutant obez farelerde bir mutajenik gen ürünü olarak keşfedilmiştir. Adipoz dokunun beyaz yağ doku hücreleri tarafından sentezlenen leptin 16 kDa'lık 167 aminoasitten oluşan küçük bir proteindir. OB geni tarafından kodlanır. OB geni, sıçanlarda 6 no'lu kromozomda, insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda yer alır (139). Leptin, besin alımını ve enerji kullanımını ayarlayarak vücut ağırlığının kontrolünde etkili önemli bir dolaşım hormonudur. Başta yağ doku olmak üzere mide, iskelet kası, plasenta, hipofiz ve karaciğer gibi çok sayıda dokuda da sentezlenen leptin, santral düzeyde etkisini kan beyin bariyerini geçerek hipotalamustaki spesifik reseptörlerine bağlanarak gösterir (140). Leptin reseptörlerinin (LEPR ya da OBR) hipotalamus dışında, hipokampus, serebellum, talamus, beyin korteksi, koroid pleksus ve leptomeninkste de varlığı gösterilmiştir (141). Leptin sinyalleri, özellikle hipotalamusun medial preoptik alan, ARN ve DMN gibi nöron çekirdeklerine ulaşarak negatif feed-back sinyaller ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenler (142). Leptinin besin alımı ve vücut ağırlığını düzenleyici etkileri, başlıca ARN'de yer alan ve diğer hipotalamik çekirdeklere projeksiyonlar gönderen iki farklı peptit grubu aracılığıyla gerçekleşir.

Leptin, hipotalamusta JAK-STAT (Janus Kinase- Signal Transducer and Activators of Transcription) yolunu aktive ederek ARN'de NPY/AgRP nöronlarının sentez ve salınımını baskılar. NPY/AgRP sentezinin baskılanmasının besin alımı ve iştahı belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir (77). Besin alımının azalması özellikle LHA' da yer alan MCH ve oreksin nöronlarının baskılanmasının bir sonucudur. Ayrıca, leptin bir yandan NPY aracılı besin alımını baskılarken diğer yandan sempatik sinir sistemini aktive ederek enerji harcanmasına yönelik mekanizmaları da uyarır. Bu etkinin vücut ağırlığında azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir (143). Leptin salınımının NPY/AgRP nöronları üzerine güçlü inhibisyon oluşturmalarının hücresel mekanizması çok net olmamakla birlikte bazı araştırmacılar NPY/AgRP üretimi üzerine leptinin baskılayıcı etkisine, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) sinyallerinin aracılık edebileceğini öne sürmektedir (144, 145).

Leptinin iştah azaltıcı tokluk faktörü olarak ortaya çıkışına aracılık eden diğer bir yapı ise POMC/CART nöronlarıdır. Leptin, POMC nöronları üzerine uyarıcı sinyaller göndererek güçlü anoreksijenik etkinliğe sahip α -MSH salınımını artırır. Oluşan α -MSH sinyalleri PVN'ye ulaşır ve bu alandaki MC4R reseptörlerine bağlanır. MC4R aktivasyonu ise besin alımında azalmayla sonuçlanır (146). Sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, açlığa bağlı artan hipotalamik NPY ve AgRP mRNA düzeylerinin i.c.v leptin uygulamasını takiben azaldığı rapor edilmiştir (147). Benzer şekilde Wang ve ark (148) sıçanlara i.c.v leptin uygulamasının NPY sentezini baskıladığını bildirmiştir. Leptinin uyardığı CART nöron aktivitesi bir yandan metabolik hızı artırırken diğer yandan MCH ve oreksin nöronlarının sentezini baskılayarak besin alımını azalttığı gösterilmiştir (27). Obez farelerde yapılan bir çalışmada ise leptin eksikliği veya leptin sinyalizasyonunda meydana gelen bir defektin POMC/CART nöronlarının sentezinde azalmayla sonuçlandığı gösterilmiştir (149).

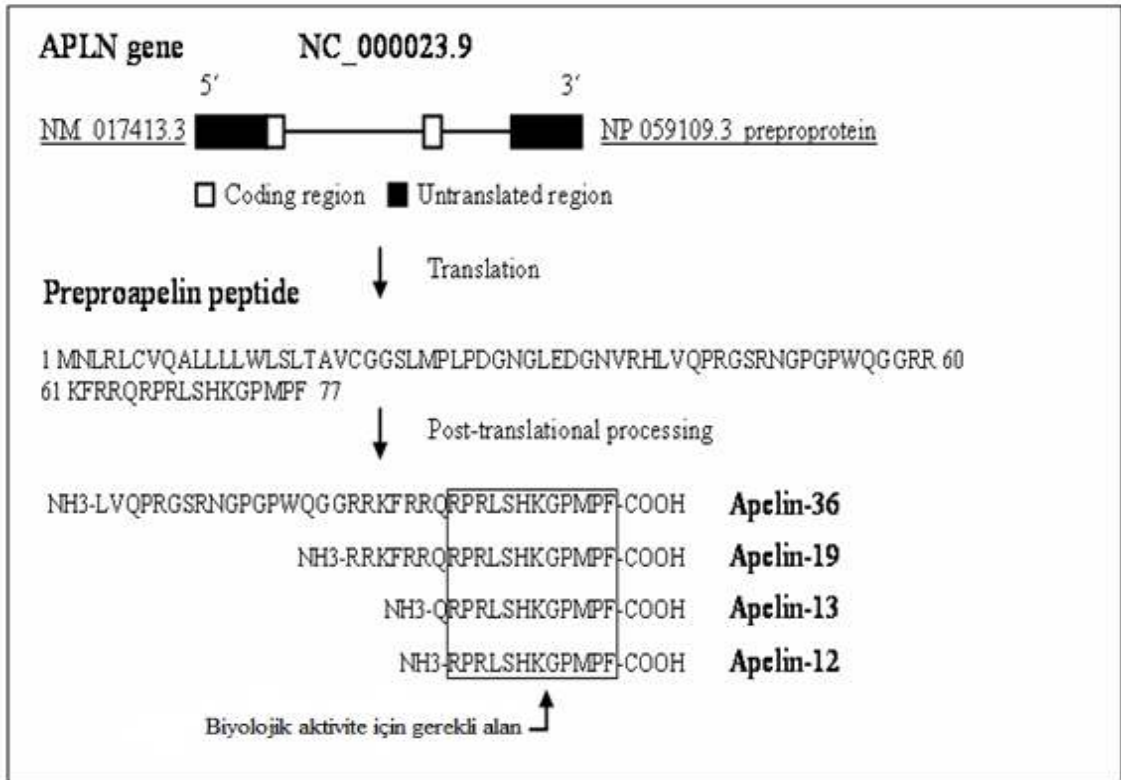
4.2.3. Apelin

4.2.3.1. Apelin Reseptörü

Apelinerjik reseptör (APJ), O'Dowd ve ark (150) tarafından 1993 yılında insan genomik DNA'sından G-protein bağlı bir reseptör olarak keşfedildi. Yapısal olarak anjiotensin II tip 1 reseptörüne benzeyen (yaklaşık % 54) APJ, 11. kromozom üzerinde q12 bandında yer alan bir moleküldür. Ancak, 360 a.a ile kodlanan bu reseptör anjiotensin II ile bağlanamamaktadır. Bu nedenle APJ, 1998 yılında apelinin keşfine kadar bir “*orfan*” (endojen ligandı bilinmeyen) reseptör olarak kalmıştır. Başlangıçta insanlarda keşfedilen APJ reseptörünün insan haricinde diğer birçok (sıçan, fare, rhesus maymunları, kurbağa, inek) canlı türünde de varlığı rapor edilmiştir (151, 152). Yapılan deneysel çalışmalarda sıçan APJ mRNA'sının dağılım gösterdiği merkezi ve periferel dokular tespit edilmiştir. Buna göre, APJ mRNA' sının sıçanlarda özellikle kalp ve akciğer dokuları başta olmak üzere hipofiz bezi, spinal kord, iskelet kası, uterus, ovaryum, tiroid bezi, yağ doku ve böbrek gibi diğer birçok dokuda dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1). İnsanlarda yapılan reseptör ekspresyon çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte ilave olarak, dalak, plasenta, korpus kollosum, hipokampus, bağırsak ve mide gibi dokularda da tespit edilmiştir (153).

4.2.3.2. Apelin Biosentezi

Apelin, APJ reseptörünün endojen ligandı olup sığır mide ekstratlarından 1998 yılında keşfedilmiştir. Apelin, 77 a.a'lık prekürsörü olan preproapelin'den (Şekil 2) enzimatik reaksiyonla ayrılarak, apelin-12, apelin-13, pyroglutamil apelin-13 [Pyr(1)-apelin-13], apelin-17 ve apelin-36 gibi çeşitli izoformlara dönüşür (151, 154). Ekstraselüler asidifikasyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda apelin-13'ün biyolojik aktivitesinin diğer izoformlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (151). Apelinin plazma yarılanma süresinin yaklaşık 8 dk olduğu ve insanlarda plazma apelin seviyesinin 208 ile 466 pg/mL aralığında değiştiği rapor edilmiştir (155).



Şekil 2. Apelin geninden biyolojik olarak aktif olan fragmanlarının üretimi şeması. (Tatemoto'dan, 8).

Apelin ilk kez mide dokusundan izole edilmesine karşın yakın zamanda insanlarda ve deney hayvanlarında yağ dokudan da sentezlendiği gösterilmiştir (9). Apelinin, MSS içerisinde spinal kord, korteks, serebellum, korpus kallosum, amigdala, substantia nigra, hipofiz, hipokampus ve hipotalamusun ARN, PVN, SON gibi nöron

çekirdeklerindeki varlığı rapor edilmiştir (153, 157, 158). MSS dışında kalp, akciğer, böbrek, adrenal bez ve plasenta gibi periferel dokuların ile enterokromafin-benzeri gastrik hücrelerde, pankreas adacıklarında, osteoblast ve T lenfositlerinde yaygın bir dağılım göstermektedir (153, 159). Apelinerjik sistemin çok sayıda santral ve periferel yapıda gösterilmesine karşın (Tablo 1) özellikle beslenmenin enzimatik ve hormonal düzenlenmesinde görevli gastrointestinal kanaldaki dağılımı dikkat çekicidir. Susaki E ve ark (160) sıçan mide dokusunun mukozal epitelyumunda, paryetal ve esas hücrelerinde yüksek oranda apelin-pozitif hücreler tespit etmişlerdir. İlave olarak, insan ve kemirgenlerde yapılan çalışmalarda duodenum, ileum ve kolon'da da apelin sentezlendiği bildirilmiştir (161).

Tablo 1. Sıçan, fare ve insanlarda APJ ve apelin mRNA'sının doku dağılımı

	APJ			APELİN		
	Sıçan	Fare	İnsan	Sıçan	Fare	İnsan
Beyin	++	+	+++	+	+++	++
Serebellum	+		+	+		+
Hipofiz	+		+	+		++
Spinal kord	+++	++	+	++		++
Adrenal bez	+			+		
Tiroid	++					
Dalak	-	+	+++	-	+	
Timus		+	+	-	+	
Kalp	++	+++	+	++	++	+
Endotel hücreler	++					
Akciğer	+++	++	++	+++	++	+
Mide	+		+	+		-
İnce bağırsak	+		++	+		-
Kalın bağırsak	+		++	+		
Karaciğer	+	+		-	-	-
Pankreas	-		+	-		+

Tablo 1'in Devamı

Testis	+	+	+	+	++	+
Böbrek	+	+	+	+	+	+
Prostat			+			+
Ovaryum	+	+	+	+	+	
Uterus	+	+	+	+	-	-
Plasenta	++		++			+++
Meme bezi	+			++		
İskelet kası	++	++	+	+	+	-
Adipoz doku	++			+		
Kıkırdak	++					

(Kleinz'den,162)

4.2.3.3. Apelinin Gıda Alımı Üzerine Etkisi

Sıçan hipotalamusunda sirkadyen ritim, sıvı metabolizması ve beslenme davranışının kontrolünü sağlayan PVN, ARN, SON ve anterior hipofiz gibi beyin bölgelerinde apelin immunreaktif hücre gövdeleri ve sinir lifleri tespit edilmiştir (19). Yağ doku başta olmak üzere, mide mukozasında, insülin ve glukoz metabolizmasının düzenlendiği pankreatik dokularda ve kalın bağırsağın kolon kısmında apelinergic sistemin varlığı gösterilmiştir. Bu anatomik lokalizasyon dikkate alındığında apelinin beslenmenin kontrolündeki kompleks ağda etkin rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ancak, bu alanda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Sunter ve ark (14) hem aç bırakılan hem de ad-libitum beslenme uygulanan sıçanlara i.c.v apelin-13 enjeksiyonunun besin alımını baskıladığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde karanlık faza geçişte i.c.v apelin-12 enjekte edilen sıçanlarda besin alımı azalırken ışık fazında yapılan uygulamaların gıda alımı üzerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediği gözlenmiştir (163). Bu sonuçlardan farklı olarak, kronik i.c.v apelin-13 enjekte edilen sıçanlarda vücut ağırlığı ve gıda alımının belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (15). Ayrıca, akut i.c.v apelin enjekte edilen sıçanların besin alımları uygulamayı takiben 2-4. saatlerde artarken, 24 saatlik zaman diliminde değerlendirildiğinde besin alımında herhangi bir farklılık ortaya çıkmadığı rapor

edilmiştir (13). Diğer bir çalışmada apelinin lokomotor aktivite ve vücut ısını yükselterek enerji harcanmasını arttırdığı ve beraberinde besin alımının uyarıldığı yönünde sonuçlar elde edilmiştir (164).

İlave çalışmalarda apelinin sıçan gastrointestinal sisteminin enteroendokrin hücre dizilerinde CCK salınımını uyardığı gösterilmiştir. Bu sonuç, apelinin gastrointestinal kanaldaki fizyolojik rolünü işaret etmektedir. Ancak, buna rağmen CCK salınımı ile apelin arasındaki ilişkinin boyutu henüz açık değildir (161).

Gıda alımı ve sıvı metabolizmasının bozulduğu metabolik ve beslenme hastalıklarında apelinin muhtemel etkinliğini sorgulayan çalışmalar yapılmıştır. Apelinin yağ doku kökenli bir adipokin olduğu göz önüne alındığında yağ doku azalması yada artışına bağlı gelişen hastalıklardaki rolü önem kazanmaktadır. Yapılan klinik bazı çalışmalarda, obez insanlardaki plazma apelin seviyesinin normal kilolu bireylere oranla önemli oranda yüksek olduğu tespit edilmiştir (9, 165). Bununla birlikte, yüksek yağ diyeti ile deneysel obezite oluşturulan sıçanlara apelin enjeksiyonunun besin alımını ve vücut ağırlığını azalttığı rapor edilmiştir (166). Yapılan farklı bir çalışmada, 14-18 yaş aralığındaki Obez, AN'li ve sağlıklı genç kızlarda plazma apelin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, obez bayanlardaki plazma apelin düzeyi sağlıklı bireylere oranla yüksek bulunurken AN'li hastaların apelin düzeyleri sağlıklı bireylere göre çok daha düşük düzeyde tespit edilmiştir (167). Benzer şekilde, diyet uygulamasıyla kilo kaybı gerçekleşen obez kadınlarda ve bariatrik cerrahi uygulanan morbid obez kişilerde, yağ doku hacminin azalmasına bağlı plazma apelin seviyesinde düşüş olduğu rapor edilmiştir (168, 169). Özellikle insanlarda yapılan çalışmalar dikkate alındığında vücut kitle indeksi ile apelin arasında pozitif bir korrelasyon varlığından söz edilebilir. Ancak deney hayvanlarından elde edilen çelişkili sonuçlar apelinin gıda alımı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesine yönelik ilave çalışmalar yapılması gerektiği sonucunu ortaya koymaktadır.

4.2.3.4. Apelinin Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi

Vücut su dengesinin nöroendokrin kontrolünde anahtar rol oynayan başlıca beyin alanları SON ve PVN'dir. Hipotalamik SON ve PVN içerisinde bulunan magnoselüler nöronlarda oksitosin ve vasopressin sentezleyen hücrelerin akson ve dentritleri ile

apelin immunreaktif sinir hücre gövdelerinin etkileşim halinde olduğu rapor edilmiştir (170, 171). Önceki çalışmaların aksine apelinin hipotalamustaki anatomik lokalizasyonunun oksitosin nöronlarından çok vasopressin nöronları ile yakın olduğu gösterilmiştir (172). Vasopressin'in böbreklerin distal tubul ve toplayıcı kanallarından suyun geri emilimini sağlayarak vücut su dengesinin fizyolojik kontrolünde etkin rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda apelinin akut ve kronik uygulamalarının vasopressin salınımı üzerine etkileri konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Laktasyondaki sıçanlara i.c.v apelin-17 enjeksiyonu vasopressin'in elektriksel aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (10). Benzer şekilde, sıçan ve farelere i.c.v apelin-13 ya da apelin-17 enjeksiyonunun hem bazal hemde dehidrasyon indüklü sıvı alımı ve vasopressin salınımını azalttığı bildirilmiştir (12). Bu sonuçlar apelinin diüzezi uyaran bir peptid olabileceğini göstermekle birlikte farklı bir çalışmada Taheri ve ark (13) in vitro sıçan hipotalamik dokusunda i.c.v apelin-13 uygulamasının AVP salınımını arttırdığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada sıçanlardaki sıvı alımının doz bağımlı olarak 6 kat arttığı rapor edilmiştir. Diğer metabolik sonuçlar incelendiğinde, apelinin sıvı alımını arttırdığını ve değiştirmedikçe gösteren çalışmalar mevcuttur. Lee ve ark (157) sıçanlara akut i.p apelin-13 enjeksiyonun, uygulamayı takiben ilk 30 dk. sürede sıvı alımını belirgin şekilde arttırdığı ancak bu etkinin yaklaşık bir saat sonra bazal seviyesine gerilediğini rapor etmişlerdir. Sıçanlara apelin-12'nin farklı dozlarının (1, 3, 10 nmol) günlük su tüketim değerlerinde istatistiksel bir farklılık oluşturmadığı gözlenmiştir (162). Bu sonuçlar dikkate alındığında apelinin vücut sıvı dengesinin korunmasındaki rolünün henüz netlik kazanmadığı görülmektedir.

4.2.3.5. Apelinin Diğer Sistemler Üzerine Etkileri

Apelinerjik sisteminin kardiovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir faktör olabileceği hem hücre kültürü modellerinde hem de deneysel hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (173, 174). Kardiovasküler dokulardaki kardiomyositlerde, endotelial hücrelerde ve vasküler düz kas hücre yüzeylerinde APJ reseptör mRNA'sı tespit edilmekle birlikte apelin miyokardiyal dokular üzerine doğrudan bir etkiye sahip olabileceği ifade edilmiştir. Apelin, kalp dokusunda pozitif inotropik etkinliğe sahiptir ve doz bağımlı olarak izole sıçan kalbinde kardiyak kontraktileti arttırdığı rapor edilmiştir (173). Bununla birlikte apelinin, kalp

hızında herhangi bir değişiklik oluşturmaksızın kan damarlarının tonusunu azaltarak vazodilatatif bir etkiyle kan basıncını düşürdüğü de bildirilmiştir (8). Yapılan çalışmalar, apelinin arteriyal dokularda nitrik oksit (NO) aracılı güçlü bir vazodilatasyon etkisinin varlığını ortaya çıkarmıştır (175, 176). Apelinin endotelial hücrelerden NO salınımını güçlü bir şekilde uyarmasında hem serin/treonin kinazın fosforilasyonu hem de hücre içi kalsiyum düzeyindeki artışın etkili olduğu rapor edilmiştir. Apelin, her iki koşulda da, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) yolunu aktive ederek NO salınımını uyarır (177). Farelerde yapılan bir çalışmada, apelin ile indüklenen NO aracılı hipotansif etkinin NOS inhibitörleri tarafından ortadan kaldırıldığı rapor edilmiştir (178).

Son dönemde yapılan deneysel ağrı modeli çalışmalarında apelinin antinosiseptif etkinliğinin varlığı gösterilmiştir. Visceral ağrı modeli oluşturulan farelere supraspinal yolla apelin-13 uygulaması, bir yandan APJ ve μ -opioid reseptörler aracılığıyla antinosiseptif etki oluştururken diğer yandan morfinin antinosiseptif etkinliğini de arttırmıştır (179). Farklı bir deneysel ağrı modelinde de sonuçlar benzer olup, apelin-13'ün doz ve zamana bağlı antinosiseptif etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (180).

Apelinin olgunlaşmamış kemik hücresi olan osteoblastlarda eksprese edildiği ve bu hücre modellerinde yapılan in vitro çalışmalarda apoptozisi baskılayıp hücre üretimini tetiklediği ifade edilmiştir (181).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel aşaması Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Araştırmalar Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışma, KTÜ, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun **2010/42** protokol no'lu onayıyla kabul edildi. Proje kapsamında sıçanlar KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırmalar Merkezinden temin edildi. Tez çalışması süresince kullanılan deney hayvanları, kimyasal malzemeler, araç ve gereçler KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (KTÜ/BAP) tarafından **2010.114.001.5** kod numarası ile desteklenmiştir.

5.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmaya dâhil edilen sıçanlar, deneylere başlamadan 5 gün önce adaptasyon amacıyla metabolik kafeslere (Tecniplast Company, İtalya) yerleştirildi. Metabolik kafesler, deney hayvanlarının metabolik parametrelerinin (yem tüketimi, su alımı, vücut ağırlığı, idrar hacmi, gaita miktarı) ölçümü için tasarlanmış kafes modelleridir (Şekil 3). Sirkadiyen ritmin devamı için sıçanlar, ışığı (12/12 saat aydınlık ve karanlık), sıcaklığı ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$) ve nemi ($\% 55 \pm 5$) yapay olarak kontrol edilen bölüme alındı. Çalışmada zaman saati uygulaması yapıldı ve ortamın aydınlatılmasında günışığına yakın değer olan 5152 Lüks ışık kaynağı kullanıldı. Sabah 07.00' da başlatılan ışık periyodu 12 saat aydınlık fazının ardından 19.00' da sonlandırılarak karanlık faza geçiş yapıldı.



Şekil 3. Sıçanların bakım ve beslenmesinde kullanılan metabolik kafesler

Metabolik kafeslere yerleştirilen sıçanların günlük yem tüketimi, su alımı ve vücut ağırlıkları 2 ölçüm olacak şekilde gerçekleştirildi. Yemliklere konulan yemin miktarı günlük yapılan her iki ölçümde de her bir kafes için net 50 gr olacak şekilde ayarlandı. Sıçanların beslenmesinde günlük öğütülmüş standart sıçan yemi (Tablo 2, Bayramoğlu Yem Fab./ Erzurum 2011) kullanıldı. Benzer şekilde su ihtiyacı içinde ölçeklendirilmiş metabolik kafes sulukları kullanıldı. Sıçanlara taze çeşme suyu verilerek ad-libitum beslenme sağlandı.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan sıçan yeminin bileşimi

İçerik	Bileşimin oranı
Ham Protein	En az % 24.0
Ham Selüloz	En çok % 7.0
Ham Kül	En çok % 8.0
Yağ	En az % 5-7.0
Kalsiyum	En az - En çok % 1.0 - % 2.8
Fosfor	En az % 0.9
Sodyum	En az, En çok % 0.5-% 0.7
NaCl	En çok % 1
Lysine	En az % 1
Methionin	En az % 0.6
Metabolik enerji	En az 2650 Kcal/kg
HCl'de çözünmeyen kül	En çok % 2.0

5.2. Çalışma Protokolü

Çalışmada ağırlıkları ortalama 200 gr olan 32 adet Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler adaptasyon aşamasına alınmadan önce rastlantısal olarak 4 gruba ayrıldı (Tablo 3). Sıçanlar metabolik kafeslere alınmadan önce, her gruptan vücut ağırlıkları birbirine yakın olan 2 adet olacak şekilde ayarlandı. Bu işlem deney tamamlanıncaya kadar 4 kez tekrarlandı. Bu uygulamanın amacı çevresel faktörlerden kaynaklanabilecek değişkenliklerin her gruba aynı oranda yansımaları sağlamaktır. Çalışmada istatistiksel değerlendirme yapılabilmesi için gruplar, her grupta 8 adet (n=8) sıçan olacak şekilde ayarlandı. Uygulamalar, 10 gün süresince karanlık faza geçişten 15 dakika önce gerçekleştirildi. Sıçanlara periton içi (i.p) yolla kontrol grubuna % 0,9 'luk Serum Fizyolojik (SF) ve diğer çalışma gruplarına belirtildiği şekliyle farklı dozlarda Apelin-13 uygulandı.

5.3. Metabolik Ölçümler ve Apelin-13/ SF Uygulamaları

Gıda alımı, sıvı tüketimi ve vücut ağırlığında meydana gelen değişimler sabah 07.00 ve akşam 19.00 saatlerinde günlük 2 ölçüm olacak şekilde gerçekleştirildi. Gıda alımı ve vücut ağırlığı değişiminin ölçümlerinde hassas terazi kullanıldı. Sıvı ölçümlerinde ise ölçeklendirilmiş standart metabolik kafes sulukları kullanıldı.

Çalışmada Apelin izoformları içerisinde biyolojik aktivitesi ve reseptör affinitesi yüksek olan (15) Apelin-13 [(H-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe-OH, Bachem, İsviçre)] kullanıldı. Apelin-13, çalışma protokolünde yer alan farklı dozlar dikkate alınarak % 0.9 Serum Fizyolojik (SF) içerisinde günlük olarak hazırlandı. Uygulamalar, metabolik ölçümleri takiben her gün 18.45- 19.00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar

Gruplar	Uygulanan maddeler	Kullanım dozları
I	% 0.9'luk SF	0.5 ml
II	Apelin-13	0.5 ml'de 30 µg/ kg
III	Apelin-13	0.5 ml'de 100 µg/ kg
IV	Apelin-13	0.5 ml'de 300 µg/ kg

5.4. Numunelerin Toplanması

Çalışmada 4 farklı grup olarak ayrılan sıçanların 10 gün boyunca metabolik kayıtları tutuldu. Dekapitasyon gerçekleştirilip deney sonlandırılmadan önce sıçanların vücut ağırlığı, yem tüketimi ve sıvı alımı ölçümleri yapıldı. Apelinin plazma yarılanma ömrü dikkate alınarak (yaklaşık 8 dk.) sırasıyla her bir sıçan için enjeksiyon yapıldıktan 10 dakika sonra dekapitasyon gerçekleştirildi. 10 ml'lik biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri içerisine kan hacminin 1/10'u oranında aprotinin ilave edildi. Proteaz

inhibitörü olan aprotinin plazmada peptid yıkımını önleyen doğal bir polipeptittir. Daha sonra tüpler yavaş hareketlerle 6-7 kez çevrildikten sonra 3000 devirde 10 dk boyunca santrifüje edildi. Elde edilen serum örnekleri daha sonra çalışılmak üzere 0.5 ml'lik plastik ependorf tüpler içerisine alındı ve -80 °C saklandı.

5.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analizler için alınan tüm örnekler KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki -80 C⁰'deki soğutucularda muhafaza edildi. Tüm parametrelerin ölçümü için yine aynı Anabilim Dalı'nda yer alan laboratuarlardaki cihazlar (Tablo 4) kullanıldı.

5.5.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, laboratuvar alet ve malzemeleri üreticileri ile birlikte aşağıda listelenmiştir.

Tablo 4. Tez çalışmasında kullanılan cihazların ve laboratuvar malzemelerinin özellikleri

Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler	Marka / Model
Dondurucu	Bosch
ELISA yıkayıcısı	Diagnostics Pasteur LP 35
ELISA okuyucusu	VERSA
Çalkalayıcı	Nüve, SL 350
Hassas analitik terazi	Oertling NA 164
Manyetik karıştırıcı	Ikamag RH
Otomatik pipet, 0.5-10, 50-200 µL	Biohit, Proline
Otomatik pipet, 10-100 µL	Socorex
Otomatik pipet, 100-1000 µL	Transferpette
Otomatik pipet, 1-5 mL	Exelpette
Soğutmalı santrifüj	Eppendorf centrifuge 5810
Vorteks karıştırıcı	Nüve, NM 110
Kuru buz cihazı	Harward Apparatus

5.5.2. Serum Peptid YY Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum PYY seviyeleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Phoenix Pharmaceuticals, Catalog No. EK-059-03, ABD) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, ABD) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi. Minimum ölçebileceği konsantrasyon 0.11 ng/mL' dir.

5.5.3. Serum Nöropeptid Y Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum NPY seviyeleri ELISA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Catalog No. EK-049-03, ABD) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, ABD) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi. Minimum ölçebileceği konsantrasyon 0.17 ng/mL' dir.

5.5.4. Serum Leptin Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum Leptin seviyeleri ELISA kit (BioVendor, Catalog No. RD291001200R, Czech Republic) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, ABD) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar pg/mL cinsinden verildi. Minimum ölçebileceği konsantrasyon 30 pg/mL' dir.

5.5.5. Serum Ghrelin Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum Ghrelin seviyeleri ELISA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Catalog No. EK-031-31, ABD) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, ABD) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi. Minimum ölçebileceği konsantrasyon 0.1 ng/mL' dir.

5.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada, deneklere uygulanan apelin-13'ün çeşitli dozlarda canlı ağırlık, 100 g başına yem tüketimi ve sıvı alımı gibi metabolik kafeste ölçülen değerlere etkisi ile biyokimyasal ölçümlerin istatistiksel analizi gerçekleştirildi. Öncelikli olarak varyansların normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov Smirnov (K-S) testi ile değerlendirildi, verilerin normal dağılıma uygun olduğu görüldü ($p>0.05$). Varyansların homojen dağılıma uyup uymadıkları Levene istatistiğine (L.S.) göre belirlendi. Metabolik değerler önemlilik testlerinden varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Apelin-13 uygulanan grupların kontrol grubuna göre karşılaştırılmasında post-hoc Dunnett testi kullanıldı. Apelin çözücü ve apelin-13 gruplarına uygulanan istatistiksel değerlendirmenin güvenilirliği, istatistiksel güç testi ile değerlendirildi ve tüm değerlendirmelerde Power değerinin 1'e yakın bulunması uygulanan istatistiksel analizin güvenilir olduğunu gösterdi. Biyokimyasal ölçümlerin değerlendirilmesinde ise Mann Whitney-U testi ile gerçekleştirildi. Yapılan istatistiksel analizlerde anlamlılık değeri $p<0.05$ olarak kabul edildi. Tüm testlerde veriler ortalama $\pm$ SEM (Standart Error of Mean) olarak ifade edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak gerçekleştirildi.

6. BULGULAR

6.1. Metabolik Bulgular

Metabolik ölçümler, grupların 10 gün süresince gözlenmesi ve metabolik kafeslerde çeşitli parametrelerin ölçümleri ile elde edildi. Metabolik ölçümlerde canlı ağırlık artışı günlük başlangıç ağırlıkların yüzde (%) değişimleri dikkate alınarak hesaplandı. Sıçanların 100 g vücut ağırlığı başına denk gelen yem tüketim değerleri, aydınlık ve karanlık faz ile bir günlük periyot ortalamaları dikkate alınarak hesaplandı. Sıçanların su tüketim verileri de gıda alımı ile benzer şekilde değerlendirildi.

İstatistiksel olarak, grupların canlı ağırlık artışları değerlendirilirken varyansların homojen olup olmadığı test edildi. Levene testine göre varyanslar homojen bulundu (L.S. = 1.98). Canlı ağırlık artışı yüzde oranları arasında ortalamaların önemlilik testleri yapıldı ve ANOVA karşılaştırılması sonucu gruplar arasında fark olduğu tespit edildi ($F= 3.153$, $p= 0.025$).

Bağımsız örnekleme grup içi karşılaştırmalar sonucunda apelin 30, 100 ve 300 $\mu\text{g/kg}$ gruplarına ait deneklerin canlı ağırlık artış oranlarının, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). Şekil 4'te görüldüğü gibi günlere göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farkın belirgin olarak, çalışmanın 4. gününden itibaren ortaya çıktığı gözlemlendi (ok ile gösterilmiştir).

6.1.1. Grupların Canlı Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Sıçanların 10 gün süresince günlük vücut ağırlığı değişimleri takip edildi. Elde edilen verilere göre kontrol, apelin 30, apelin 100 ve apelin 300 µg/kg gruplarının günlük vücut ağırlık ortalamaları Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Grupların günlük canlı ağırlık ortalamaları

Canlı ağırlık (g)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	201.80±5.12	200.09±5.10	200.40±2.95	201.91±1.44
2	203.08±4.96	204.64±5.07	205.50±3.72	208.16±3.08
3	209.44±5.84	211.09±5.74	210.99±3.99	213.09±3.20
4	209.05±6.07	212.05±5.02	213.96±3.80	216.05±3.18
5	213.11±7.20	217.46±5.08	219.05±3.48	221.48±3.78
6	217.50±7.25	221.91±6.02	223.85±4.84	226.60±3.70
7	221.63±7.68	225.70±4.58	229.13±5.04	228.70±3.12
8	224.78±7.29	231.30±5.11	232.74±4.84	234.60±3.20
9	229.29±8.32	234.39±4.97	236.20±5.36	239.84±2.96
10	233.33±7.66	237.76±5.04	238.34±4.76	242.40±3.11

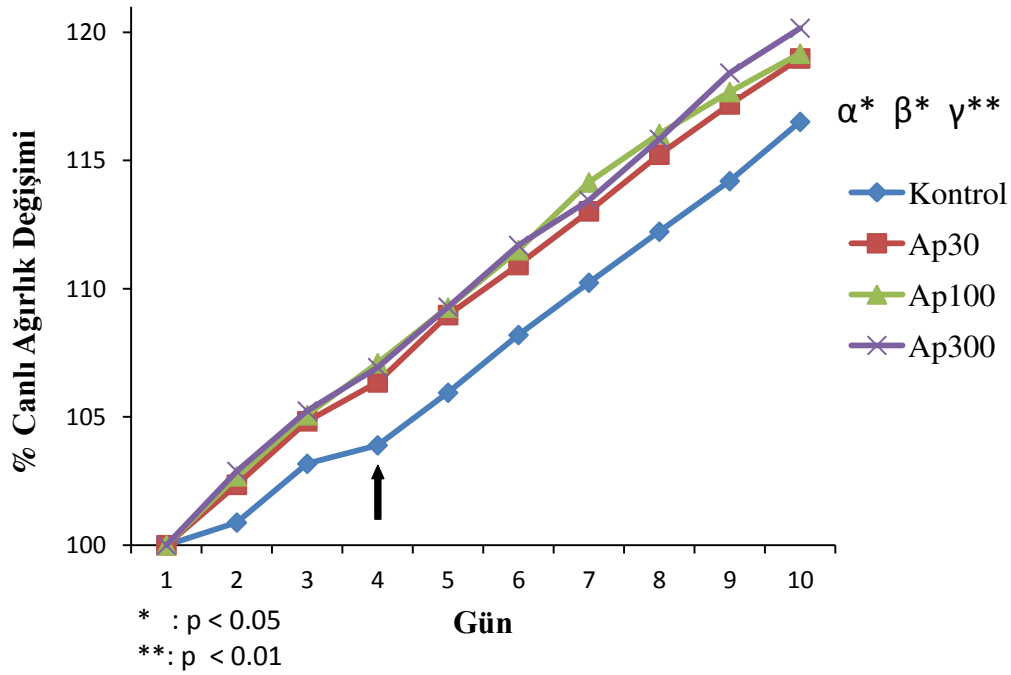
* µg/kg

Tablo 5’deki veriler dikkate alındığında sıçanların günlük vücut ağırlıklarının orantısal değişimi Tablo 6’da gösterilmiştir. Hesaplama yapılırken, deneklerin çalışma başlangıcındaki canlı ağırlık değerleri % 100 olarak kabul edilmiş ve sonuçlar çalışma günlerindeki % canlı ağırlık değişimleri şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 6. Grupların % canlı ağırlık değişim tablosu

% Canlı Ağırlık Değişimi				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	100	100	100	100
2	100.72±1.39	102.34±1.20	102.55±1.23	103.09±1.25
3	103.87±1.95	105.51±1.05	105.28±1.29	105.31±1.35
4	103.66±2.00	106.05±1.02	106.77±1.20	107.01±1.43
5	105.64±2.52	108.78±1.20	109.35±1.42	109.69±1.73
6	107.85±2.74	110.95±1.38	111.71±1.91	112.24±1.72
7	109.89±2.92	112.94±1.18	114.36±2.05	113.27±1.35
8	111.50±2.96	115.71±1.20	116.17±1.98	116.18±1.27
9	113.75±3.56	117.26±1.13	117.91±2.40	118.79±1.29
10	115.82±3.53	118.97±1.40	118.99±2.15	120.05±1.28

* µg/kg



Şekil 4. Grupların % canlı ağırlık değişimi grafiği

Ap30= Apelin 30 µg/kg, Ap100 = Apelin 100 µg/kg, Ap300 = Apelin 300 µg/kg.

(α*): kontrol-Ap30, p = 0.037, (β*): kontrol-Ap100, p = 0.020, (γ**): kontrol-Ap300, p = 0.009

6.1.2. Grupların Yem Tüketimlerinin Değerlendirilmesi

Gruplara ait yem tüketimlerini karşılaştırmadan önce değerler standardize edildi ve deneklerin aynı etki altında yem tüketim değerleri karşılaştırıldı. Standardizasyon yapılırken deneklerin 100 g vücut ağırlıklarına karşın tükettikleri yem miktarları karanlık faz, aydınlık faz ve günlük değerler olarak hesaplandı. Bulgular tablolar halinde ayrıntılı olarak sunulurken, devamında 10. günün sonunda deneklerden elde edilen tüm değerlerin ortalamaları grafik şeklinde gösterildi.

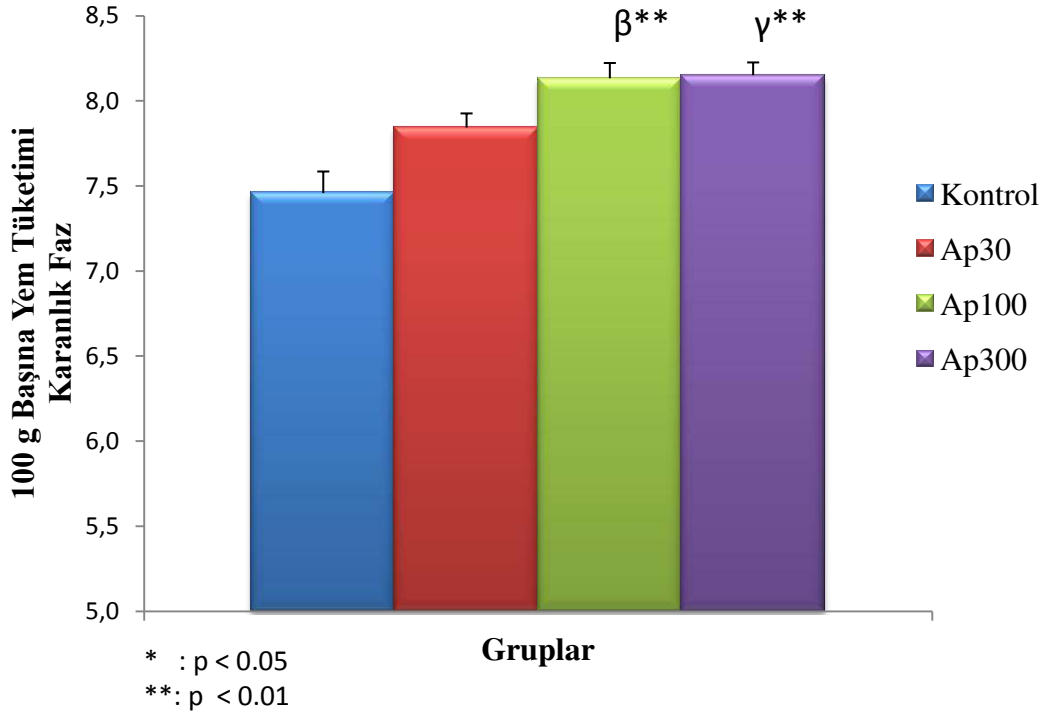
6.1.2.1. Grupların Karanlık Faz Yem Tüketim Değerleri

Deneklerin karanlık fazda (19:⁰⁰-07:⁰⁰) 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri yem miktarları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark olduğu tespit edildi (F:11.46, p<0.001). Yapılan değerlendirme sonucunda gruplar arası karşılaştırmada 100 ve 300 µg/kg apelin gruplarının yem tüketimlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (p<0.001).

Tablo 7. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri

100 g vücut ağırlığı başına yem tüketimi (Karanlık faz)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	8.43±0.27	8.32±0.26	8.52±0.28	8.75±0.34
2	7.96±0.25	8.65±0.24	8.30±0.31	8.30±0.24
3	7.75±0.36	8.22±0.30	8.40±0.36	8.37±0.24
4	7.53±0.31	8.10±0.18	8.19±0.37	8.20±0.13
5	7.37±0.50	7.85±0.22	8.11±0.21	8.29±0.21
6	6.92±0.49	7.46±0.20	7.76±0.23	8.00±0.24
7	7.20±0.40	7.66±0.20	8.12±0.23	8.07±0.22
8	7.05±0.39	7.47±0.23	8.13±0.32	7.77±0.16
9	7.18±0.55	7.40±0.23	7.98±0.29	8.12±0.23
10	7.18±0.28	7.31±0.21	7.82±0.23	7.64±0.18

* µg/kg



Şekil 5. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 $\mu\text{g/kg}$, Ap100:Apelin 100 $\mu\text{g/kg}$, Ap300: Apelin 300 $\mu\text{g/kg}$, ort f: ortalama fark.

Kontrol-Ap30, $p = 0.072$,

(β^{**}): kontrol-Ap100, $p < 0.001$, ort f: -0.68,

(γ^{**}): kontrol-Ap300, $p < 0.001$, ort f: -0.69.

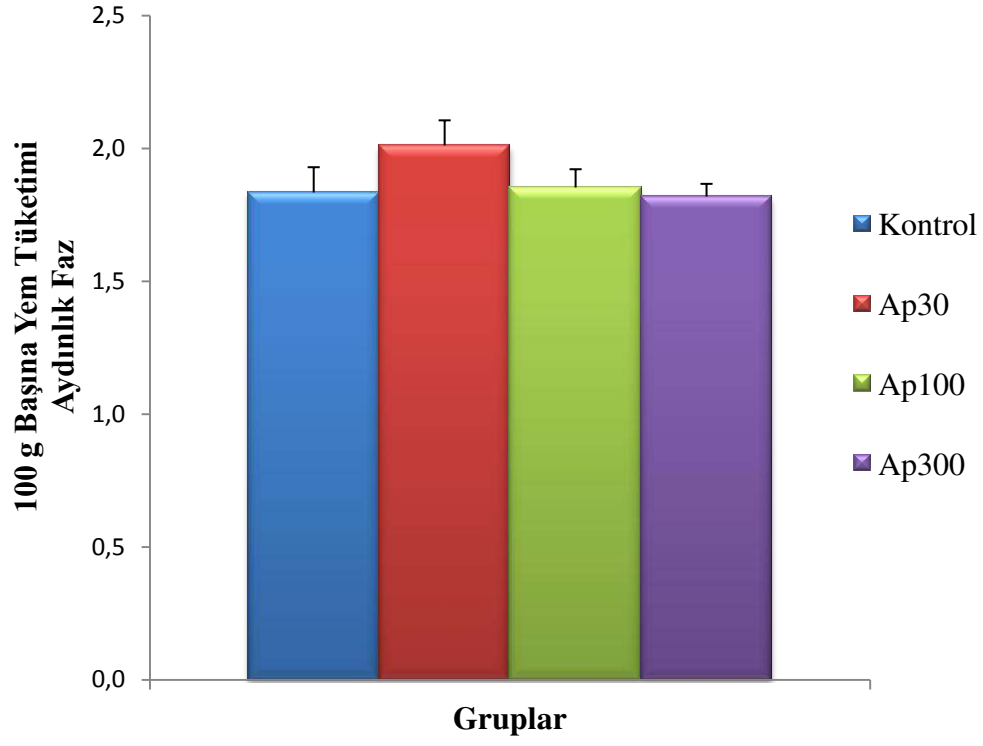
6.1.2.2. Grupların Aydınlik Faz Yem Tüketim Değerleri

Deneklerin aydınlık fazda (07:⁰⁰-19:⁰⁰) 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri yem miktarları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

Tablo 8. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri

100 g vücut ağırlığı başına yem tüketimi (Aydınlik faz)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	2,41±0.40	2,10±0.42	2,12±0.32	2,03±0.10
2	2,06±0.47	2,36±0.36	2,21±0.20	1,94±0.21
3	1,58±0.15	2,19±0.28	1,86±0.21	1,86±0.08
4	1,59±0.20	2,43±0.31	2,04±0.23	1,87±0.17
5	1,78±0.45	1,93±0.39	1,73±0.22	1,65±0.19
6	2,00±0.28	1,98±0.25	1,67±0.24	1,76±0.12
7	1,55±0.20	1,90±0.19	1,74±0.20	1,79±0.10
8	1,99±0.24	1,86±0.29	1,87±0.19	1,91±0.17
9	1,66±0.20	1,62±0.16	1,67±0.13	1,66±0.13
10	1,70±0.25	1,74±0.26	1,61±0.20	1,72±0.21

* µg/kg



Şekil 6. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100:Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg, (F: 1.27, p=0.28).

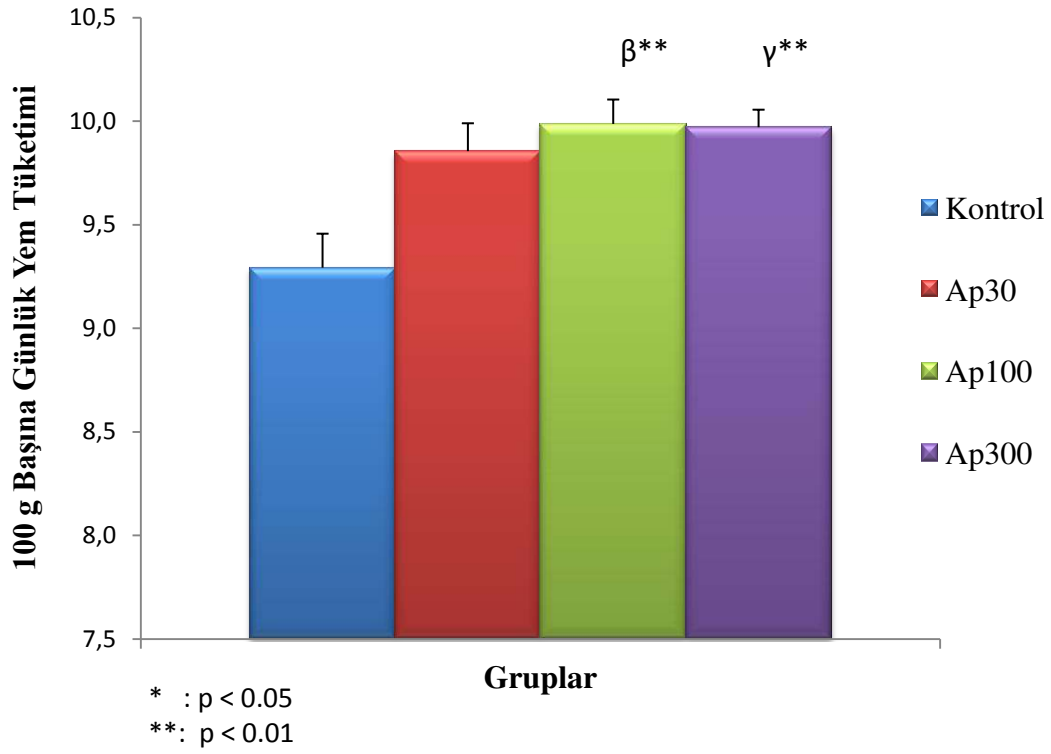
6.1.2.3. Grupların Günlük Yem Tüketim Değerleri

Deneklerin günlük (19:⁰⁰-19:⁰⁰) 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri yem miktarları karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olduğu tespit edildi (F:6.50, p<0.001). Yapılan detaylı analizlerde 100 ve 300 µg/kg apelin gruplarının yem tüketimlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (p<0.05).

Tablo 9. Grupların günlük 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketim değerleri

100 g vücut ağırlığı başına yem tüketimi (Günlük)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	10.84±0.54	10.42±0.56	10.65±0.53	10.78±0.31
2	10.02±0.48	11.01±0.39	10.51±0.29	10.25±0.34
3	9.34±0.41	10.41±0.44	10.26±0.32	10.23±0.25
4	9.13±0.42	10.53±0.42	10.23±0.32	10.06±0.24
5	9.15±0.62	9.78±0.29	9.84±0.34	9.94±0.17
6	8.93±0.64	9.44±0.27	9.44±0.30	9.76±0.22
7	8.75±0.43	9.56±0.25	9.86±0.27	9.86±0.25
8	9.03±0.41	9.34±0.40	10.00±0.47	9.68±0.23
9	8.85±0.60	9.03±0.29	9.65±0.31	9.78±0.24
10	8.88±0.33	9.05±0.36	9.44±0.40	9.36±0.19

* µg/kg



Şekil 7. Grupların günlük periyotta 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük yem tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 $\mu\text{g/kg}$, Ap100: Apelin 100 $\mu\text{g/kg}$, Ap300: Apelin 300 $\mu\text{g/kg}$. Ort f: Ortalama fark,

Kontrol-Ap30, $p = 0.052$,

(β^{**}): kontrol-Ap100, $p < 0.001$, ort f: -0.69,

(γ^{**}): kontrol-Ap300, $p < 0.001$, ort f : -0.68.

6.1.3. Grupların Su Tüketimlerinin Değerlendirilmesi

Gruplara ait su tüketim değerleri yem tüketimi hesaplamalarında olduğu gibi standardize edildi ve deneklerin 100 g vücut ağırlığı değerlerine karşın tükettikleri su miktarları aydınlık faz, karanlık faz ve günlük değerler olarak hesaplandı.

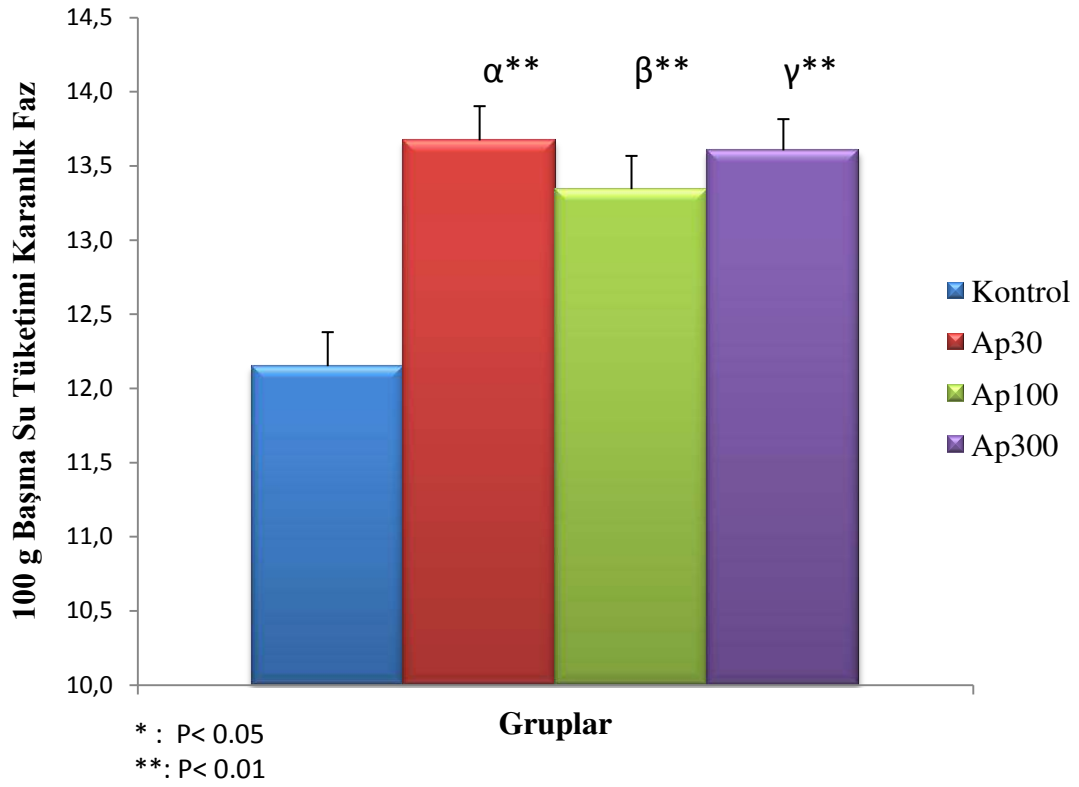
6.1.3.1. Grupların Karanlık Faz Su Tüketim Değerleri

Deneklerin karanlık fazda (19:⁰⁰-07:⁰⁰) 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri su miktarı karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olduğu görüldü (F:10.05, p<0.001). Bu farkın hangi gruplar tarafından oluşturulduğunu tespit etmek amacıyla yapılan testlerde 30, 100 ve 300 µg/kg apelin gruplarının su tüketimlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi (p<0.001).

Tablo 10. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri

Gün	100 g vücut ağırlığı başına su tüketimi (ml)			
	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	13.49±0.56	13.13±0.70	13.39±0.41	13.44±0.56
2	12.49±0.69	14.13±0.76	13.17±0.62	13.90±0.60
3	12.76±0.70	13.40±0.81	13.21±0.56	13.83±0.53
4	12.17±0.77	13.93±0.66	13.38±0.84	14.07±0.73
5	12.41±0.97	13.48±0.90	12.82±0.63	13.83±0.83
6	11.51±0.93	13.14±0.60	13.38±0.52	13.44±0.71
7	12.45±0.69	14.35±0.49	14.15±0.71	13.91±0.59
8	11.46±0.72	13.88±0.65	13.11±0.66	13.35±0.61
9	11.32±0.57	13.30±0.97	13.27±1.04	12.69±0.80
10	11.43±0.54	12.78±0.84	13.55±1.12	12.60±0.71

* µg/kg



Şekil 8. Grupların karanlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 $\mu\text{g/kg}$, Ap100: Apelin 100 $\mu\text{g/kg}$, Ap300: Apelin 300 $\mu\text{g/kg}$. Ort f: Ortalama fark

(α^{**}): kontrol-Ap30, $p < 0.001$, ort f; -1.52,

(β^{**}): kontrol-Ap100, $p = 0.001$, ort f: -1.19,

(γ^{**}): kontrol-Ap300, $p < 0.001$, ort f : -1.45.

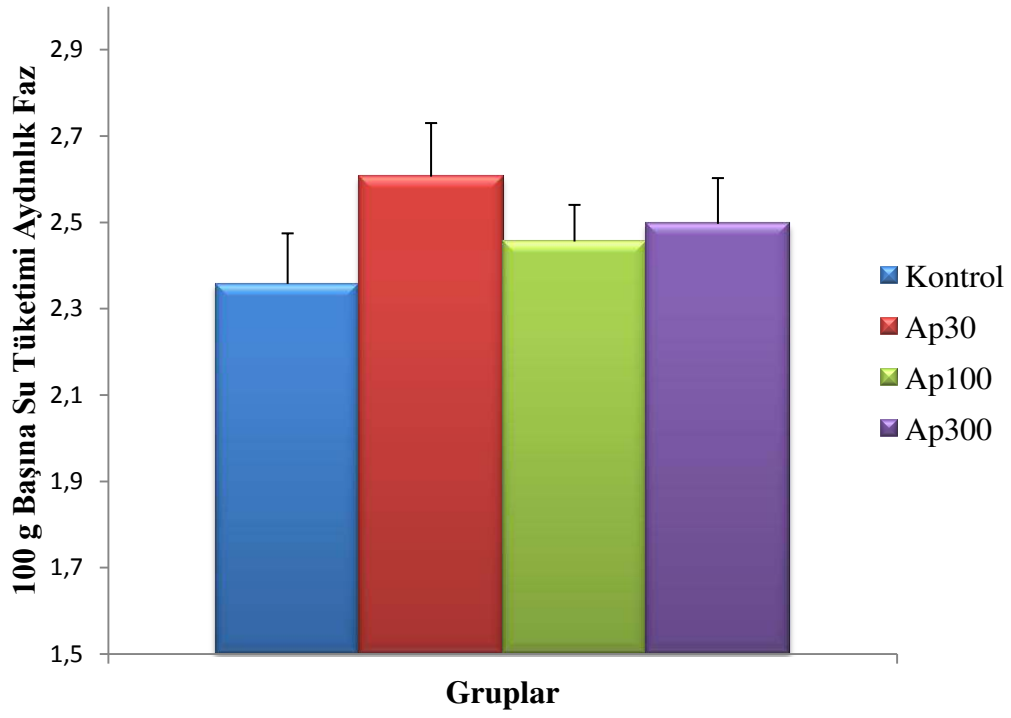
6.1.3.2. Grupların Aydınlik Faz Su Tüketim Değerleri

Deneklerin aydınlık fazda (07:⁰⁰-19:⁰⁰) 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri su miktarı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 11. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri

100 g vücut ağırlığı başına su tüketimi (ml)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	2.77±0.49	2.59±0.60	2.60±0.32	3.39±0.55
2	2.25±0.39	2.74±0.47	2.67±0.18	2.40±0.32
3	1.72±0.21	2.63±0.34	2.54±0.24	2.62±0.21
4	2.53±0.25	3.58±0.36	3.29±0.30	2.89±0.41
5	2.51±0.44	2.76±0.39	2.11±0.30	2.37±0.31
6	2.43±0.30	2.68±0.41	2.28±0.22	2.17±0.28
7	2.42±0.36	2.57±0.22	2.49±0.22	2.75±0.21
8	2.59±0.48	2.34±0.34	2.39±0.26	2.05±0.25
9	1.87±0.36	1.96±0.23	1.93±0.23	2.17±0.27
10	2.49±0.37	2.22±0.38	2.24±0.22	2.16±0.27

* µg/kg



Şekil 9. Grupların aydınlık fazda 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100: Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg (F: 0.89, p=0.5).

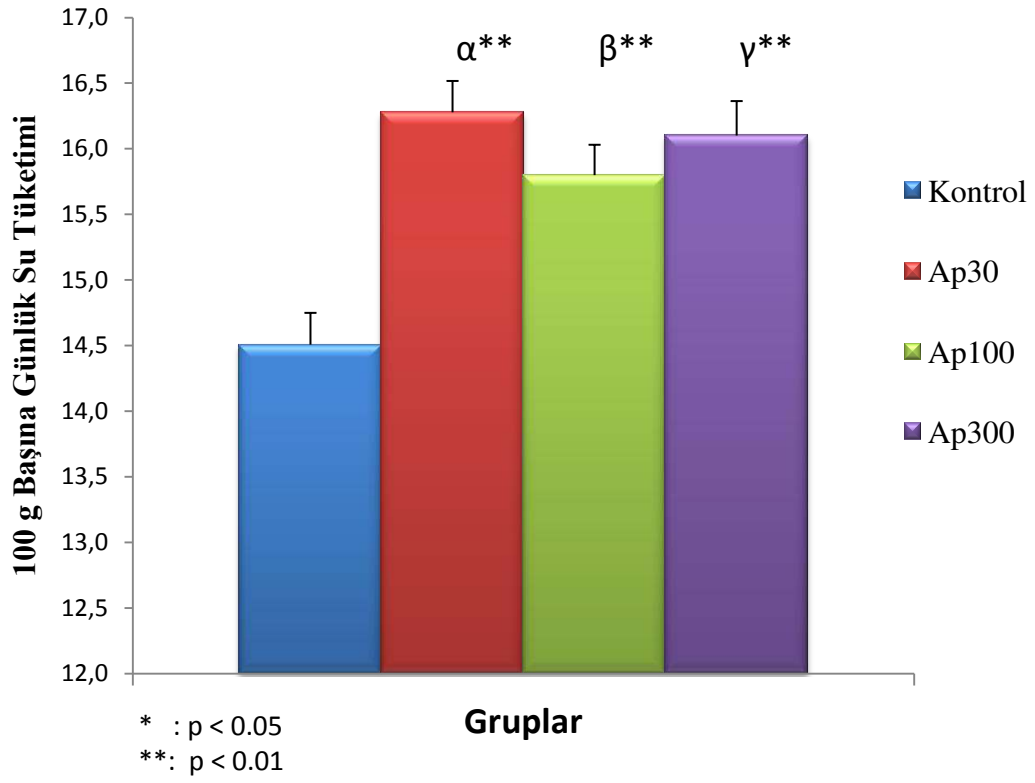
6.1.3.3. Grupların Günlük Su Tüketim Değerleri

Deneklerin 100 g vücut ağırlığı başına tükettikleri su miktarları arasında fark olduğu tespit edildi (F:10.78, $p<0.001$). Yapılan karşılaştırmalar sonucunda apelinin 30, 100 ve 300 µg/kg gruplarının su tüketimleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$).

Tablo 12. Grupların günlük 100 g vücut ağırlığı başına su tüketim değerleri

100 g vücut ağırlığı başına su tüketimi (ml)				
Gün	Kontrol	Apelin 30*	Apelin 100*	Apelin 300*
1	16.26±0.31	16.93±0.64	15.99±0.47	17.83±0.44
2	14.74±0.78	16.86±0.70	15.83±0.56	16.29±0.72
3	14.47±0.76	16.03±0.85	15.75±0.60	16.45±0.68
4	14.69±0.91	17.50±0.79	16.68±0.66	16.95±0.96
5	14.92±0.95	16.24±0.69	15.93±0.58	16.20±0.78
6	13.94±1.06	15.83±0.47	15.67±0.43	15.62±0.97
7	14.88±0.69	16.92±0.62	16.64±0.74	16.65±0.75
8	14.05±0.77	16.22±0.68	15.50±0.65	15.40±0.82
9	13.19±0.54	15.26±1.01	15.20±1.09	14.85±0.99
10	13.92±0.49	15.00±0.90	15.79±1.28	14.76±0.85

*µg/kg



Şekil 10. Grupların günlük periyotta 100 g vücut ağırlığı başına 10 günlük su tüketim ortalamaları

Ap30: Apelin 30 $\mu\text{g/kg}$, Ap100: Apelin 100 $\mu\text{g/kg}$, Ap300: Apelin 300 $\mu\text{g/kg}$. Ort f: Ortalama fark.

(α^{**}): kontrol-Ap30, $p < 0.001$, ort f; -1.77,

(β^{**}): kontrol-Ap100, $p = 0.001$, ort f: -1.29,

(γ^{**}): kontrol-Ap300, $p < 0.001$, ort f : -1.59.

6.2. Biyokimyasal Sonuçlar

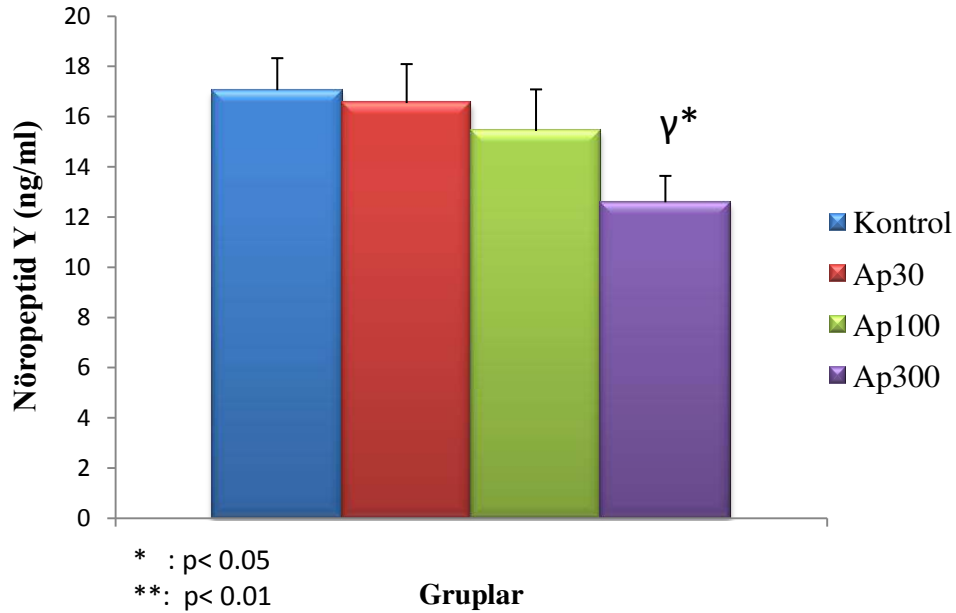
6.2.1. Serum Nöropeptid Y Değerleri

Nöropeptid Y düzeyleri incelendiğinde apelin 300 µg/kg grubunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Fakat aynı istatistiksel farkın apelin 30 ve 100 µg/kg gruplarında meydana gelmediği görüldü ($p>0.05$).

Tablo 13. Grupların serum NPY düzeyleri

Gruplar	Nöropeptid Y (ng/ml)
Kontrol	17.05±1.28
Apelin 30*	16.54±1.55
Apelin100*	15.43±0.67
Apelin 300*	12.59±1.05

*µg/kg



Şekil 11. Grupların serum NPY düzeylerini gösteren grafik

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100: Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg. Kontrol- Ap30: $p=0.34$, kontrol- Ap100: $p=0.21$, (γ^*): kontrol-Ap300, $Z=-2.11$, $p=0.035$

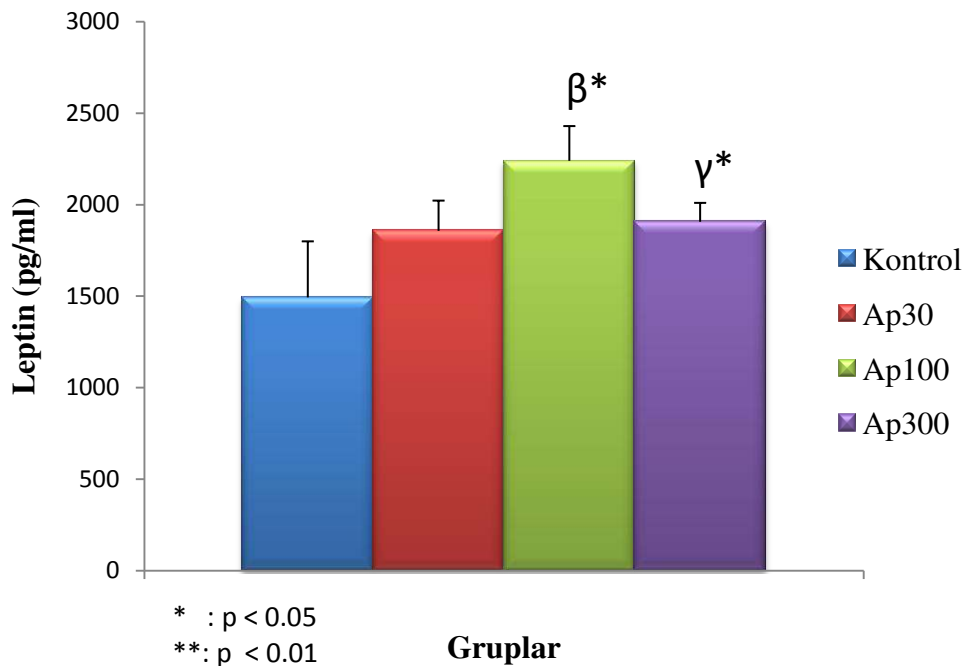
6.2.2. Serum Leptin Değerleri

Leptin düzeyleri değerlendirildiğinde 30 µg/kg apelin-13 dozunun kontrol grubuna göre leptin düzeyini arttırdığı ancak bu değerin istatistiksel anlamlılık düzeyinde olmadığı görüldü. Bununla birlikte, 100 ve 300 µg/kg apelin-13 uygulanan grupların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum leptin seviyelerini arttırdığı ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$).

Tablo 14. Grupların serum leptin düzeyleri

Gruplar	Leptin (pg/ml)
Kontrol	1493.18± 303.33
Apelin 30*	1856.72± 165.33
Apelin100*	2239.54± 190.03
Apelin 300*	1906.48± 103.24

* µg/kg



Şekil 12. Grupların serum leptin düzeylerini gösteren grafik

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100: Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg. (β*): kontrol- Ap100, $Z = -2.52$, $p = 0.012$, (γ*): kontrol-Ap300, $Z = -2.31$, $p = 0.021$

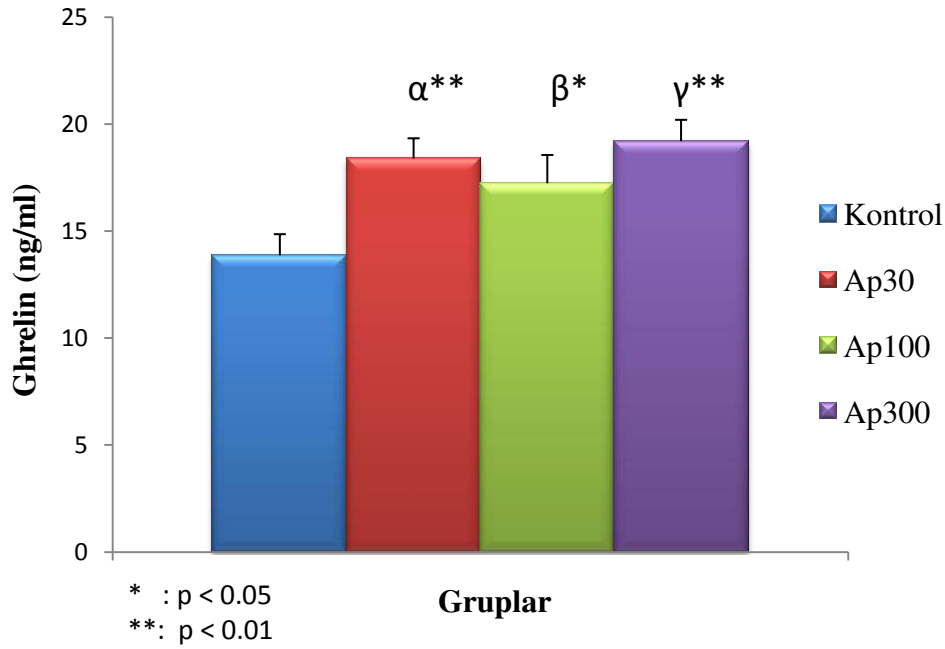
6.2.3. Serum Ghrelin Değerleri

Grupların ghrelin düzeyleri incelendiğinde; apelin 30, 100 ve 300 µg/kg grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak gruplar arasında fark olduğu görüldü. Apelin uygulanan gruptaki ghrelin düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Tablo 15. Grupların serum ghrelin düzeyleri

Gruplar	Ghrelin (ng/ml)
Kontrol	13.86 ± 0.99
Apelin 30*	18.38 ± 0.95
Apelin100*	17.23 ± 1.32
Apelin 300*	19.20 ± 1.00

* µg/kg



Şekil 13. Grupların serum ghrelin düzeylerini gösteren grafik

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100: Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg. (α^{**}): kontrol- Ap30, $Z = -2.63$, $p = 0.009$, (β^{*}): kontrol- Ap100 , $Z = -2.00$, $p=0.046$, (γ^{**}): kontrol- Ap30, $Z = -2.73$, $p=0.005$

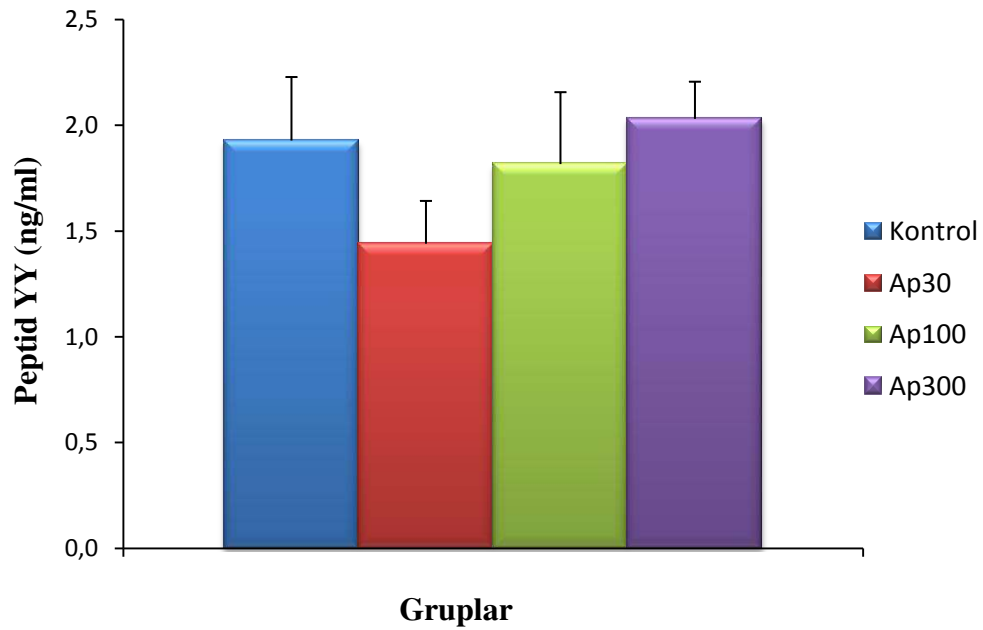
6.2.4. Serum Peptid YY Değerleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apelin-13 uygulanan grupların serum PYY düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

Tablo 16. Grupların serum peptid YY düzeyleri

Gruplar	Peptid YY (ng/ml)
Kontrol	1.93±0.30
Apelin 30*	1.60±0.17
Apelin100*	1.82±0.34
Apelin 300*	2.03±0.18

* µg/kg



Şekil 14. Grupların serum PYY düzeylerini gösteren grafik

Ap30: Apelin 30 µg/kg, Ap100: Apelin 100 µg/kg, Ap300: Apelin 300 µg/kg. kontrol- Ap30: $p=0.46$, kontrol- Ap100, $p=0.60$, kontrol- Ap300, $p=0.53$

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada apelin-13'ün sıçanlarda beslenme davranışının düzenlenmesindeki rolünün NPY, leptin, ghrelin ve PYY gibi santral ve periferik peptidlerle gerçekleşip gerçekleşmediği test edildi. Çalışma bulgularında; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum NPY düzeylerinin her 3 grupta da azaldığı ancak sadece 300 µg/kg grubunda anlamlı olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, sonuçlarımız, apelin-13'ün serum leptin düzeylerini 100 ve 300 µg/kg gruplarında, ghrelin düzeylerini ise tüm gruplarda belirgin şekilde arttırdığını gösterdi. PYY düzeylerinde ise anlamlılık tespit edilemedi. Elde edilen metabolik bulgulara ise apelin-13'ün vücut ağırlığı, yem tüketimi ve su alımını arttırdığı gösterilirken bu etkinin belirgin olarak karanlık fazda ortaya çıktığı tespit edildi. Bu etkinin olasılıkla ghrelin düzeyindeki artışın bir sonucu olduğu şeklinde değerlendirildi. Her ne kadar bu çalışmanın metabolik sonuçları daha önce rapor edilen bazı çalışmalarla uyumlu olsada tam aksine sonuçlar da bildirilmiştir. Ancak, bu çalışmada metabolik bulgular dışında deneysel olarak apelin uygulamasının bazı peptitlerle (ghrelin, PYY) etkileşimi ilk kez gösterildi.

Boucher ve ark (9) apelinin yağ dokudan sentezlenen yeni bir adipokin olduğu ve beslenmenin kontrolünde etkin rol oynayabileceğini göstermişlerdir. Apelin iştah ve vücut ağırlığının düzenlendiği beyin bölgeleri ile başta yağ doku ve gastrointestinal kanal olmak üzere çok sayıda periferik yapıda tespit edilmiştir. Son dönemde yapılan çalışmalar, apelinin beslenme davranışının kontrolündeki rolünün anlaşılmasına ışık tutsada bu konuda bilinenler sınırlıdır. Yapılan çalışmalar, serum apelin düzeyleri ile vücut yağ doku hacmi arasında ilişkinin varlığını güçlendirmektedir. Öyleki, obezite benzeri yağ doku birikimi ile karakterize hastalıklarda apelin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (9, 167, 182). Bu bulgular obezitenin fizyopatolojisinde apelinin rolünün önemli olabileceğini düşündürmüştür. Diğer yandan, in vitro bir çalışmada apelinin mide lumeni ve okzintik mukozası ile ince bağırsakların ileum kısmında hücre proliferasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada apelinin hücre içi kalsiyum seviyesini değiştirmeksizin Mitojen-aktiflik protein kinaz aracılığı CCK salınımını uyardığı da gösterilmiştir (161). Bu sonuçlar sindirim kanalından salınan ve santral düzeyde besin alımını düzenleyen CCK dışındaki diğer bazı peptidlerle apelin arasındaki ilişkinin boyutunun önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda, apelinin santral ve periferel uygulamalarının besin alımını arttırdığı (15), değıştirmedığı (163) ve azalttığı (14) yönünde sonuçlar gösterilmiştir. Bu çalışmalarda ortaya çıkan çelişkili sonuçlar yazarlar tarafından, deneylerde kullanılan apelinin molekül tipi, deney hayvanı türü, uygulama zamanı, uygulama şekli ve dozundan kaynaklı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Araştırmacılar tarafından öne sürülen pek çok sebep bu farklı ve çelişkili sonuçların ortaya çıkışına zemin hazırlayabileceğini göstermektedir. Ancak, literatür örnekleri incelendiğinde özellikle akut yada kronik uygulamalar ile santral veya periferel uygulamaların birbirinden farklı sonuçlar ortaya koyduğu görülebilir (14, 15, 163). Besin alımının kısa süreli düzenlenmesinde başta sindirim sistemi olmak üzere MSS, adreanaller ve pankreas gibi yapılar görev alırken, uzun dönem besin alımının kontrolünde ise leptin, adiponektin ve rezistin gibi endokrin ve parakrin mediyatörler salgılayan yağ dokusu rol oynar (183). Apelinin yağ doku kaynaklı bir peptid olduğu düşünüldüğünde etkisinin uzun dönemde ortaya çıkabileceği olası bir durum olarak görülmektedir.

Çalışmamızda kronik apelin-13 uygulanan sıçanlarda yem tüketimi ve vücut ağırlığının arttığı gözlemlendi. Vücut ağırlığındaki artışın 4. günden başlayarak belirgin şekilde ortaya çıkmasının, vücut yağ doku hacmindeki artışın bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Özellikle araştırmamızın biyokimyasal analizlerinden elde edilen sonuçlarda, 100 ve 300 µg/kg apelin-13'ün sıçanların serum leptin düzeylerini arttırdığı tespit edildi. Bu sonuç, çalışmanın aydınlık faz dışındaki metabolik verileri ile uyumludur. Son dönemde yapılan bazı çalışmalar bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Öyleki, Clarke ve ark (166) diyet indüklü deneysel obezite oluşturulan sıçanlarda plazma leptin ($p<0.01$) ve apelin ($p<0.05$) düzeylerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlara göre vücut yağ kitlesi ile plazma apelin ve leptin düzeyleri arasında pozitif bir korrelasyonun varlığından söz edilebilir. Yağ dokunun yanı sıra % 25 oranında mideden de sentezlendiği bilinen leptinin, apelin uygulanmasına bağlı artan serum leptin düzeylerine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. İlave olarak, farklı bir çalışmada leptin reseptör defekti (db/db fare) oluşturulan farelerde hipotalamik apelin düzeylerinin hem ARN hem de PVN'de arttığı bildirilmiştir. Bu sonuçların ortaya çıkışında leptin sinyalizasyonunda meydana gelen bozulmanın rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (156).

Literatür incelendiğinde, Sunter ve ark (14) Hem aç bırakılan hem de ad-libitum beslenme uygulanan sıçanlara akut i.v veya i.c.v apelin-13 enjeksiyonunun besin alımını baskıladığını rapor etmişlerdir. Besin alımındaki azalmanın uygulamadan 4 saat sonra başladığı ancak bu etkinin anlamlılık düzeyinde 24 saat sonra ortaya çıktığı gösterildi. Benzer şekilde yüksek yağ diyeti ile obezite oluşturulan sıçanlarda santral apelin-13 enjeksiyonlarının besin alımını azalttığı bildirilmiştir (166). Apelinin aydınlık ve karanlık periyottaki yeme davranışı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada karanlık faza geçişte i.c.v apelin-12 enjekte edilen sıçanlarda besin alımı azalırken ışık fazında yapılan uygulamaların gıda alımı üzerinde değişiklik meydana getirmediği gözlenmiştir (163). Bu sonuçların aksine bizim bulgularımızda apelin-13'ün karanlık faz ve bir günlük dönem ortalamalarında besin alımını uyardığı ancak 12 saatlik ışık fazında istatistiksel bir anlam oluşturmadığı gözlemlendi. Apelin-13'ün farklı zaman dilimlerinde oluşturduğu besin alımı sonuçlarının açıklanabilmesi için yeterince bulgu yoktur. Ancak, metabolik sonuçlarımız dikkate alındığında sıçanların sirkadiyen ritim içerisinde ağırlıklı olarak gece beslendikleri görüldü. Bu sonuç sıçanlara karanlık faza geçmeden 15 dk önce enjekte edilen apelin-13'ün etkinliğinin bu zaman diliminde ortaya çıkışını açıklayabilir.

Apelinin besin alımını baskıladığını gösteren sonuçların aksine, kronik i.c.v [Pyr (1)] apelin-13 enjekte edilen farelerde vücut ağırlığı ve gıda alımının belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (15). Aynı çalışmada özellikle 4-7. günler arasında artan besin alımının ağırlıklı olarak karanlık fazda gerçekleştiği ve bu etkinin bir sonucu olarak vücut ısı ve lokomotor aktivitenin arttığı gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bazı sonuçlarla tutarlı olan bu bulgular araştırıcı tarafından artan metabolik aktivitenin ve harcanan kaloringin bir sonucu olduğu şeklinde vurgulanmıştır. Benzer bir çalışmada apelinin lokomotor aktivite ve vücut ısını yükselterek enerji harcanmasını arttırdığı ve beraberinde besin alımının uyarıldığı yönünde sonuçlar elde edilmiştir (164). Apelinin besin alımını uyarıcı etkisini rapor eden farklı bir çalışmada akut i.c.v apelin enjekte edilen sıçanların uygulamayı takiben 2-4. saatlerde besin alımı artarken, 24 saatlik zaman diliminde değerlendirildiğinde besin alımında herhangi bir farklılık ortaya çıkmadığı tespit edilmiştir (13). Farklı bir çalışmada ise, 14 gün boyunca farelere 0,1 µmol/kg/gün i.p apelin enjeksiyonunun gıda alımı üzerinde istatistiksel anlamlılık düzeyinde bir etki meydana getirmediği, bunun yanında adipoz doku, serum insülin ve

trigliserit düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir (184). Her ne kadar bizim sonuçlarımızda besin alımı arttıysada bu etkinin metabolik aktivite artışının bir sonucu olup olmadığı tespit edilememiştir. Ancak bu yönlü literatürler dikkate alındığında apelinin vücut ağırlığı ve besin alımını düzenleyici etkisinin, enerji harcanmasına yönelik mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşebileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada, ghrelin ile apelin arasındaki etkileşime yönelik sonuçlar elde edildi. Bulgularımızdaki oreksijenik etkinliğin en önemli sebebinin serum ghrelin düzeylerindeki artış olduğu düşünülmektedir. Literatürler incelendiğinde deneysel olarak apelin uygulamalarının ghrelin sentez ve salınımı üzerine etkilerini araştıran herhangi bir rapora rastlanmamıştır. Ancak, klinik bir çalışmada obez ve metabolik sendromlu hastaların plazma apelin ve ghrelin seviyelerinin değerlendirildiği bir rapor gösterilmiştir. Buna göre morbid obez bireylerde plazma apelin düzeyinin sağlıklı bireylere oranla yüksek, metabolik sendromlu hastalarda ise bu oranın değişmediği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada obezlerde ghrelin düzeyinin düşük olduğu ancak diyetle bağlı kilo kaybına yanıt olarak ghrelin düzeyinin arttığı gözlenmiştir. Diyetle birlikte obez hastalarda ghrelin düzeyinde belirgin bir artış meydana gelirken apelin düzeylerinde kısmende olsa düşüş meydana gelmiştir (182). Wren ve ark (185) sıçanlara hem santral hem de periferik ghrelin uygulamalarının gıda alımını arttırdığını rapor etmişlerdir. Sıçanlarda ghrelinin besin alımını uyarıcı etkisine aracılık eden mekanizmalardan birisinin ARN'de yer alan NPY ve AgRP nöronları olduğu daha önce bildirilmiştir (186). Çalışmamızda en çarpıcı bulgular arasında yer alan serum ghrelin düzeylerindeki artış, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç grupta da anlamlı iken serum NPY düzeylerinin aynı ölçüde artmadığı tespit edildi. Ghrelin artışının NPY'yi uyarması muhtemel bir sonuç olarak düşünülürken 300 µg/kg apelin-13 uygulanan grupta NPY düzeylerinin azaldığı tespit edildi. Bu sonuç beklenilenin aksine bir bulgudur. Ancak, Taheri ve ark (13) tarafından yapılan bir çalışmada farklı dozlarda in vitro apelin-13 uygulanan sıçan hipotalamik dokularında NPY salınımının değişmediği rapor edilmiştir. Bu bulgular sonuçlarımızla uyumludur. Diğer taraftan, önceki çalışmalar leptin düzeyindeki artışın hipotalamik düzeyde NPY sentez ve salınımını baskıladığını göstermiştir (147). Bu durumda bu çalışmada artan leptin seviyesinin NPY'yi baskılaması olası bir sonuç olarak görülebilir.

Apelin-13 aracılı artan ghrelin seviyesinin oreksijenik etkinliği, NPY'den bağımsız mekanizmalarla ortaya çıkabilir. Çünkü, Tschöp ve ark (110) NPY gen yoksunu farelerde i.c.v ghrelin uygulamasının iştah üzerine uyarıcı etkilerinin tamamen ortadan kalkmadığını göstermişlerdir. İlave olarak, Santral düzeyde yapılan APJ mRNA reseptör tayini çalışmalarında özellikle ARN'de yer alan NPY sentezleyen nöronal alanların sadece %5'inde APJ mRNA'sı tespit edilebilmiştir (187). Bu nedenle apelin-13 uygulamasına bağlı ortaya çıkan oreksijenik etkinin mekanizmasına aracılık edebilecek NPY harici diğer sinyal yollarının varlığı önem kazanmaktadır. Ghrelin, özellikle NTS ve beyin sapının postrema alanında yer alan nöron devrelerini uyararak da besin alımını arttırdığı rapor edilmiştir (34). Bununla birlikte, kannabinoidlerin ghrelin aracılı besin alımını uyardığı bu etkiye hipotalamik düzeyde kannabinoid reseptör-1 aracılığıyla AMPK'nın uyarılmasının neden olduğu gösterilmiştir (116). İlave olarak, ghrelinin salınımına cevap olarak VMN'da yer alan yağ asidi metabolizmasının da beslemeyi kontrol eden fizyolojik mekanizmalarda etkin rol oynayabileceği vurgulanmıştır (188). Bunlara ek olarak, beynin beslenme ile ilgili ödül merkezleri arasında yer alan ventral tegmental alan (VTA) ve mezolimbik sistem içerisindeki dopaminerjik nöron aktivitesinin de ghrelin aracılı besin alımını uyardığı gösterilmiştir (189). NPY dışında izah edilen yolların apelin-ghrelin ilişkili oreksijenik mekanizmalarda görev alabileceği düşünülmektedir.

Besin alımını baskılayan bir diğer periferik peptid ise PYY'dir. PYY'nin gastrointestinal kanalın özellikle ileum ve kolon kısmında yer alan hücreler tarafından salınan ve santral düzeyde besin alımını baskılayan bir hormon olduğu bilinmektedir (119). Bununla birlikte, bu çalışmada apelin-13'ün sıçanlarda serum PYY düzeylerine etkisi incelendi. Literatürde apelin-PYY ilişkisine yönelik herhangi bir rapor gösterilmemiştir. Bu araştırmada elde edilen bulgular bu alandaki ilk somut verilerdir. Çalışmanın sonuçlarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 30 ve 100 µg/kg apelin-13 gruplarında serum PYY düzeyinde kısmende olsa azalma meydana geldiği görüldü. Ancak, bu sonuçlarda istatistiksel düzeyde anlamlılık tespit edilemedi ($p>0,05$). Yapılan deneysel çalışmalarda sıçanlara akut periferik PYY uygulamasının besin alımını azalttığı gösterilmiştir (190). Benzer şekilde, obez ve zayıf insanlara PYY enjeksiyonlarının iştah ve besin alımını azalttığı tespit edilmiştir (120). Bu çalışmalarda dolaşımdaki PYY düzeyleri arttığında besin alımının baskılandığı görülmektedir. Bizim

sonuçlarımız PYY seviyelerinin 10 günlük kronik apelin-13 uygulamasını takiben azaldığını göstermiştir ki bu durum gıda alımındaki artışla çelişmez. Çünkü daha önce gıda alımının en önemli stimülatör peptidi olan ghrelin ile PYY düzeyi arasında antagonist bir ilişkinin varlığından söz edilmiştir. Prepubertal çocuklarda protein kaynaklı besinlerin alımını takiben ghrelin düzeyleri yaklaşık 1 saat sonra azalırken serum PYY düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (191). Bu antagonistik etki dikkate alındığında çalışmamızda artan ghrelin düzeylerinin PYY seviyesinde meydana gelen küçük çaptaki azalmadan sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, apelin ile PYY arasındaki ilişkinin boyutunun açıklanabilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Apelinerjik sistemin sıvı metabolizmasının düzenlendiği ön hipofiz, hipotalamik PVN ve SON gibi spesifik beyin bölgelerinde dağılım gösterdiği bilinmektedir (170, 171). Apelinin sıvı homeostazisinin düzenlenmesinde rol oynayabileceğine yönelik kanıtlar var olmakla birlikte bu konuda bilinenler sınırlıdır. Deneysel olarak, farmakolojik dozlarda santral ve periferel apelin uygulamalarının sıvı alımını arttırdığı (13), değiştirmedığı (162, 192) ve azalttığına (171) yönelik raporlar ortaya konulmuştur. Bu farklı sonuçların açıklanabilmesi için yapılan çalışmalarda, sıçanlarda deneysel olarak sıvı yoksunluğu oluşturulması veya tuz yüklemesine cevap olarak mediyal PVN ve SON’ da APJ mRNA düzeyinin arttığı bildirilmiştir (193). İlave olarak, APJ gen yoksunu farelerde sıvı metabolizmasının bozulduğu ve buna bağlı ozmotik strese yanıtın azaldığı bildirilmiştir (170). Taheri ve ark (13) sıçan 3. ventrikülüne uygulanan [pGlu]-apelin-13’ün yüksek dozlarının sıvı alımını kontrol grubuna oranla 6 kat arttırdığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada apelin-13’ün (100 nM) hipotalamik dokularda AVP ve CRF salınımını uyardığı tespit edilmiştir. Sıçanlara i.p apelin uygulanan farklı bir çalışmada da enjeksiyondan 1 saat sonra sıvı alımının arttığı bildirilmiştir (157). Sıçanlara farklı dozlarda apelin-13 uygulanan çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sıvı alımının arttığı gözlemlendi. Mevcut literatür örnekleri dikkate alındığında bu artışın nörohipofiziyal aks içerisinde özellikle AVP nöron aktivitesi ve AVP salınımını uyarak meydana gelebileceği şeklinde yorumlanabilir. Çünkü farklı bir çalışmada eksojen apelin uygulamasının sıçanlarda dolaşımdaki AVP düzeyini azalttığı ve aynı zamanda diürezi arttırdığı rapor edilmiştir (10). İlave olarak, Wistar-Kyoto sıçanlara santral yolla uygulanan [pGlu]-apelin-13’ün 24 saat sıvı

yoksunluğuna maruz bırakılan sıçanlarda su tüketimini yaklaşık % 30 oranında azalttığı ancak sıvı kısıtlaması yapılmayan sıçanlarda herhangi bir değişiklik oluşturmadığı bildirilmiştir (12). Apelinin AVP salınımı üzerinde farklı etkiler ortaya koyması bu etkinin ortaya çıkışında AVP yolağının haricinde sıvı metabolizmasını düzenleyen diğer mekanizmaların da etkinliğinin sorgulanması gerektiği sonucunu düşündürmüştür.

8. SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonuçları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

A) Apelin-13'ün metabolik etkileri:

1. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların (30, 100 ve 300 µg/kg) vücut ağırlıklarında artış meydana geldi ($p < 0.05$). Bu artışın belirgin olarak deneyin 4. gününden başlamak üzere ortaya çıktığı tespit edildi.
2. Sıçanların yem ve su tüketim değerleri, karanlık faz ve bir günlük periyot ortalamaları olarak değerlendirildiğinde 100 ve 300 µg/kg uygulanan gruplarda tüketim değerleri yükselirken aydınlık faz değerlerinin önemli oranda değişmediği tespit edildi.

B) Apelin-13'ün biyokimyasal parametreler üzerine etkileri:

1. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum NPY düzeyleri azalırken bu değer sadece 300 µg/kg uygulanan grupta anlamlılık gösterdi ($p=0.035$).
2. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum leptin düzeylerinin 100 ve 300 µg/kg uygulanan gruplarda anlamlı derecede arttığı gözlemlendi.
3. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum ghrelin düzeylerinin tüm gruplarda arttığı tespit edildi.
4. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum PYY düzeylerinde istatistiksel bir anlamlılık tespit edilemedi.

Öneriler;

1. Bu çalışmanın sonuçları, serum NPY düzeylerinin apelinin oreksijenik etkinliğini desteklemediğini göstermiştir. Literatürde bu alanda yalnızca tek bir çalışma vardır ve ilave çalışmalarla bu etkileşimin araştırılması gerekmektedir.
2. Apelin uygulanması sonucu elde edilen hormon sonuçlarının hipotalamik çekirdeklerdeki reseptör düzeyine etkilerinin incelenmesi apelinin beslenme davranışının düzenlenmesindeki muhtemel rolünün anlaşılmasına ışık tutabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada güncel bir adipokin olan apelinin sıçanlara kronik periferel uygulamasına karşı oluşacak metabolik ve biyokimyasal yanıtın niteliği araştırılmıştır. Bulgularımız, apelin-13'n oreksijenik etkili bir peptid olduğunu ve bu etkinin oluşumuna başlıca ghrelin hormonunun aracılık edebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada deneysel olarak apelin-13 enjeksiyonunun serum ghrelin ve PYY düzeyleri ile ilişkisi ilk kez gösterilmiştir.

9. KAYNAKLAR

1. Diamanti A, Basso MS, Castro M, Bianco G, Ciacco E, Calce A, Caramadre AM, Noto C, Gambarara M (2008). Clinical efficacy and safety of parenteral nutrition in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Adolesc Health* 42: 111-118.
2. Hay PJ, Claudino AM (2012). Clinical psychopharmacology of eating disorders: a research update. *Int J Neuropsychoph* 15: 209-222.
3. Dallman MF (2010). Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends Endocrin Met* 21: 159–165.
4. World Health Organization (2012). Media centre, Obesity and overweight. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. [Erişim tarihi: 2 Eylül 2012]
5. Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH (1999). The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* 282: 1523-1529.
6. Kulie T, Slattengren A, Redmer J, Counts H, Eglash A, Schrager S (2011). Obesity and women's health: an evidence-based review. *J Am Board Fam Med* 24: 75-85.
7. Bouret SG, Simerly RB (2004). Leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinology* 145: 2621-2626.
8. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept* 99: 87-92.
9. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpené C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 146: 1764-1771.
10. Mota DN, Lenkei Z, Llorens CC (2000). Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology* 72: 400-407.

11. O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ (2000). Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta* 1492: 72–80.
12. Reaux A, Mota DN, Skultetyova I, Lenkei Z, Messari ES, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens CC (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem* 77: 1085-1096.
13. Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillo W, Dakin C, Sajedi A, Ghatei M, Bloom S (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 291:1208-1212.
14. Sunter D, Hewson AK, Dickson SL. (2003). Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett* 353: 1-4.
15. Valle A, Hoggard N, Adams AC, Roca P, and Speakman JR (2008) Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *J Neuroendocrinol* 20: 79–84.
16. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F (2007). Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18: 158-68.
17. Streefland C, Jansen K (1999). Intramedullary projections of the rostral nucleus of the solitary tract in the rat: Gustatory Influences on Autonomic Output. *Chem Senses* 24: 655-664.
18. Arora S (2006). Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity. *Neuropeptides* 40: 375-401.
19. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG (2000). Central nervous system control and food intake. *Nature* 404: 661-671.

20. Kageyama H, Takenoya F, Hirako S, Wada N, Kintaka Y, Inoue S, Ota E, Ogawa T, Shioda S (2012). Neuronal circuits involving neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus-mediated feeding regulation. *Neuropeptides* 46: 285-289.
21. Hetherington AW, Ranson SW (1940). Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat Rec* 78: 149–172.
22. Anand BK, Brobeck JR (1951). Localization of a “feeding center” in the hypothalamus of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 77: 323–324.
23. Katie Wynne, Sarah Stanley, Barbara McGowan, Steve Bloom (2005). Appetite control. *J Endocrinol* 184: 291-318.
24. Kastin AJ, Akerstrom W, Pan W (2002). Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol Neurosci* 18: 7-14.
25. Nonaka N, Shioda S, Niehoff ML, Banks WA (2003). Characterization of blood-brain barrier permeability to PYY3-36 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 306: 948-953.
26. Woods SC, Seeley RJ, Baskin DG, Schwartz MW (2003). Insulin and the blood-brain barrier. *Curr Pharm* 9: 795–800.
27. Elias, CF, Saper CB, Maratos FE, Tritos NA, Lee C, Kelly J, Tatro JB, Hoffman GE, Ollmann MM, Barsh GS, Yanagisawa SM, Elmquist JK (1998). Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *J Comp Neurol* 402: 442-459.
28. Rebecca ME, Melissa JS, William C (2011). The role of NPY in hypothalamic mediated food intake. *Front Neuroendocrin* 4: 398-415.
29. Elmquist JK, Elias CF, Saper C (1999). From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron* 22: 221-232.

30. Wang J, Ling S, Usami T, Murata T, Narita K, Higuchi T (2007). Effects of ghrelin, corticotrophin-releasing hormone, and melanotan-II on food intake in rats with paraventricular nucleus lesions. *Exp Clin Endocr Diab* 115: 669-673.
31. Blevins JE, Eakin TJ, Murphy JA, Schwartz MW, Baskin DG (2003). Oxytocin innervation of caudal brainstem nuclei activated by cholecystokinin. *Brain Res* 993: 30-41.
32. Lambert PD, Phillips PJ, Wilding JP, Bloom SR, Herbert J (1995). c-fos expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus following intracerebroventricular infusions of neuropeptide Y. *Brain Res* 670: 59-65.
33. Van Dijk G, Thiele TE, Donahey JC, Campfield LA, Smith FJ, Burn P, Bernstein IL, Woods SC, Seeley RJ (1996). Central infusions of leptin and GLP-1-(7-36) amide differentially stimulate c-Fos in the rat brain. *Am J Physiol* 271: 1096-1100.
34. Lawrence CB, Snape AC, Baudoin FM, Luckman SM (2002). Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology* 143: 155–162.
35. Durak MS, Akbıyık F, Demirpençe E (2007). Obezite patogezi. *Hacettepe Tıp Dergisi* 38: 167-172
36. Broberger C, Lecea DL, Sutcliffe JG, Hokfelt T (1998). Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems. *J Comp Neurol* 402: 460–474.
37. Meguid MM, Fetissov SO, Varma M, Sato T, Zhang L, Laviano A, Fanelli RF (2000). Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition* 16: 843-857.

38. Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pelleymounter MA, Cullen MJ, Mathes WF, Przypek R, Kanarek R, Flier ME (1996). A role for melanin concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature* 380: 243-247.
39. MacNeil DJ, Howard AD, Guan X, Fong TM, Nargund RP, Bednarek MA, Goulet MT, Weinberg DH, Strack AM, Marsh DJ, Chen HY, Shen CP, Chen AS, Rosenblum CI, MacNeil T, Tota M, MacIntyre ED, Van der Ploeg LH (2002). The role of melanocortins in body weight regulation: opportunities for the treatment of obesity. *Eur J Pharmacol* 440: 141-157.
40. Horvath TL, Diano S, van den Pol AN (1999). Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 19: 1072–1087.
41. Campbell RE, Smith MS, Allen SE, Grayson BE, Ffrench-Mullen JM, Grove KL (2003). Orexin neurons express a functional pancreatic polypeptide Y4 receptor. *J Neurosci* 23: 1487–1497.
42. Bray GA, Inoue S, Nishizawa Y (1981). Hypothalamic obesity: the autonomic hypothesis and the lateral hypothalamus. *Diabetologia* 20: 366–377.
43. Matsuda M, Liu Y, Mahankali S, Pu Y, Mahankali A, Wang J (1999). Altered hypothalamic function in response to glucose ingestion in obese humans. *Diabetes* 48: 1801-1806.
44. Simpson KA, Martin NM, Bloom SR (2009). Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol* 53: 120-128.
45. Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA (1997). Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 138: 4489–4492.
46. Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS, Saper CB (1997). Leptin activates neuron in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology* 38: 839–842.

47. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI (1997). Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest* 100: 270–278.
48. Draper S, Kirigiti M, Glavas M, Grayson B, Chong CN, Jiang B, Smith MS, Zeltser LM, Grove KL (2010). Differential gene expression between neuropeptide Y expressing neurons of the dorsomedial nucleus of the hypothalamus and the arcuate nucleus: microarray analysis study. *Brain Res* 1350: 139-150.
49. Bernardis LL, Bellinger LL (1986). The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited. *Brain Res* 434:321–381.
50. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS (1999). Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 20: 68–100.
51. Li C, Chen P, Smith MS (1998). The acute suckling stimulus induces expression of neuropeptide Y (NPY) in cells in the dorsomedial hypothalamus and increases NPY expression in the arcuate nucleus. *Endocrinology* 139: 1645-1652.
52. Guan XM, Yu H, Trumbauer M, Frazier E, Van der Ploeg LH, Chen H (1998). Induction of neuropeptide Y expression in dorsomedial hypothalamus of diet-induced obese mice. *Neuroreport* 15: 3415–3419
53. Elias CF, Lee CE, Kelly JF, Ahima RS, Kuhar M, Saper CB, Elmquist JK (2001). Characterization of CART neurons in the rat and human hypothalamus. *J Comp Neurol* 432: 1-19.
54. Sağlam E, Yariş E, Bilge SS (2003). Serotonin ve gastrointestinal sistem. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi* 20: 217–223.
55. Wirtshafter D (2001). The control of ingestive behavior by the median raphe nucleus. *Appetite* 36: 99-105.

56. Leibowitz SF, Weiss GF, Suh JS (1990). Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 37: 735-742.
57. Garfield AS, Heisler LK (2009). Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. *J Physiol* 587: 49-60.
58. Cui H, Sohn JW, Gautron L, Funahashi H, Williams KW, Elmquist JK, Lutter M (2012). Neuroanatomy of melanocortin-4 receptor pathway in the lateral hypothalamic area. *J Comp Neurol* 520: 4168-4183.
59. Hommel JD, Trinko R, Sears RM, Georgescu D, Liu ZW, Gao XB, Thurmon JJ, Marinelli M, DiLeone RJ (2006). Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron* 51: 801-810.
60. Wellman PJ (2005). Modulation of eating by central catecholamine systems. *Curr Drug Targets* 6: 191-199.
61. Fetissov SO, Meguid MM, Sato T, Zhang LH (2002). Expression of dopaminergic receptors in the hypothalamus of lean and obese Zucker rats and food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: 905-910.
62. Kuo DY (2002). Co-administration of dopamine D1 and D2 agonists additively decreases daily food intake, body weight and hypothalamic neuropeptide Y level in rats. *J Biomed Sci* 9: 126-132.
63. Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, Netusil N, Fowler JS (2001). Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357: 354-357.
64. Canpolat S (2003). Kemirgenlerde (sıçan, fare) melatonin ve leptin hormonları arasındaki ilişki üzerine deneysel çalışmalar. Doktora tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
65. Wellman PJ (2000). Norepinephrine and the control of food intake. *Nutrition* 16: 837-842.

66. Mantzoros CS, Qu D, Frederich RC, Susulic VS, Lowell BB, Maratos-Flier E, Flier JS (1996). Activation of B3-adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice. *Diabetes* 45: 909-914.
67. Gehlert DR (2004). Introduction to the reviews on neuropeptide Y. *Neuropeptides* 38: 135-40.
68. Jacques D, Abdel-Samad D (2007). Neuropeptide Y (NPY) and NPY receptors in the cardiovascular system: implication in the regulation of intracellular calcium. *Can J Physiol Pharmacol* 85: 43-53.
69. Giesbrecht CJ, Mackay JP, Silveira HB, Urban JH, Colmers WF (2010). Countervailing modulation of Ih by neuropeptide Y and corticotrophin-releasing factor in basolateral amygdala as a possible mechanism for their effects on stress-related behaviors. *J Neurosci* 30: 16970-16982.
70. Flood JF, Morley JE (1989). Dissociation of the effects of neuropeptide Y on feeding and memory: evidence for pre- and postsynaptic mediation. *Peptides* 10: 963-966.
71. Ramos EJ, Meguid MM, Campos AC, Coelho JC (2005). Neuropeptide Y, alpha-melanocyte-stimulating hormone, and monoamines in food intake regulation. *Nutrition* 21: 269-279.
72. Cavadas C, Silva AP, Mosimann F, Cotrim MD, Ribeiro CA, Brunner HR, Grouzmann E (2001). NPY regulates catecholamine secretion from human adrenal chromaffin cells. *J Clin Endocr Metab* 86: 5956-5963.
73. Lecklin A, Lundell I, Paananen, Wikberg JES, Maennisto PT, Larhammar D (2002). Receptor subtypes Y1 and Y5 mediate neuropeptide Y induced feeding in the guinea-pig. *Brit J Pharmacol* 135: 2029 -2037.

74. Mullins D, Kirby D, Hwa J, Guzzi M, Rivier J, Parker E (2001). Identification of potent and selective neuropeptide Y Y1 receptor agonists with orexigenic activity in vivo. *Mol Pharmacol* 60: 534-540.
75. Wieland HA, Engel W, Eberlein W, Rudolf K, Doods HN (1998). Subtype selectivity of the novel nonpeptide neuropeptide Y Y1 receptor antagonist BIBO 3304 and its effect on feeding in rodents. *Br J Pharmacol* 125: 549-555.
76. Cabrele C, Langer M, Bader R, Wieland HA, Doods HN, Zerbe O, Beck-Sickingher AG (2000). The first selective agonist for the neuropeptide Y Y5 receptor increases food intake in rats. *J Biol Chem* 275: 36043-36048.
77. Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF (1986). Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 7: 1189–1192.
78. Mercer RE, Chee MJ, Colmers WF (2011). The role of NPY in hypothalamic mediated food intake. *Front Neuroendocrin* 32: 398-415.
79. Campos MG, Aguilera CM, Ete RC, Gil A (2006). Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Brit J Nutr* 96: 201–226.
80. Shan T, Wang Y, Guo J, Chu X, Liu J, Xu Z (2008). The Body Weight-related Differences of Leptin and Neuropeptide Y (NPY) Gene Expression in Pigs. *Asian-Aust. J Anim Sci* 2: 161 –166.
81. Näslund E, Hellström PM (2007). Appetite signaling: From gut peptides and enteric nerves to brain. *Physiol Behav* 92: 256–260.
82. Williams G, Bing C, Cai XJ, Harrold JA, King PJ, Liu XH (2001). The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol Behav* 74: 683-701.

83. 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 (2007). Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 6: 55–68.
84. Jorgensen EA, Knigge U, Watanabe T, Warberg J, Kjaer A (2005). Histaminergic neurons are involved in the orexigenic effect of orexin-A. *Neuroendocrinology* 2: 70-77.
85. Davidowa H, Ziska T, Plagemann A (2004). Arcuate neurons of overweight rats differ in their responses to amylin from controls. *Neuroreport* 18: 2801-2805.
86. Hagan MM, Rushing PA, Pritchard LM, Schwartz MW, Strack AM, Van Der Ploeg LH, Woods SC, Seeley RJ (2000). Long-term orexigenic effects of AgRP- (83-132) involve mechanisms other than melanocortin receptor blockade. *Am J Physiol- Reg I* 279: 47–52
87. Konner AC, Janoschek R, Plum L, Jordan SD, Rother E, Ma X, Xu C, Enriori P, Hampel B, Barsh GS, Kahn CR, Cowley MA, Ashcroft FM, Bruning JC (2007). Insulin action in AgRP-expressing neurons is required for suppression of hepatic glucose production. *Cell Metab* 5: 438–449.
88. Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS (1997). Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 5335: 135-138.
89. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Tanaka T, Furuta M, Araki-Sasaki R, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y (2001). Plasma levels of agouti-related protein are increased in obese men. *J Clin Endocr Metab* 5: 1921-1924.
90. Argyropoulos G, Rankinen T, Neufeld DR, Rice T, Province MA, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C (2002). A polymorphism in the human agouti-related protein is associated with late-onset obesity. *J Clin Endocr Metab* 87: 4198-4202.

91. Gamber KM, Huo L, Ha S, Hairston JE, Greeley S, Bjorbaek C (2012). Over Expression of Leptin Receptors in Hypothalamic POMC Neurons Increases Susceptibility to Diet-Induced Obesity. *PLoS ONE* 1: e30485.
92. Langroudi MG, Srisai D, Cone RD (2011). Multinodal regulation of the arcuate/paraventricular nucleus circuit by leptin. *Proc Natl Acad Sci* 108: 355-360.
93. Farooqi IS, Yeo GS, O'Rahilly S (2003). Binge eating as a phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med* 349: 606-609.
94. Dominguez G (2006). The CART gene: Structure and regulation. *Peptides* 8: 1913-1918.
95. Murphy KG (2005). Dissecting the role of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) in the control of appetite. *Brief Funct Genomic Proteomic* 2: 95-111.
96. Lartigue DG, Dimaline R, Varro A, Dockray GJ (2007). Cocaine- and amphetamine-regulated transcript: stimulation of expression in rat vagal afferent neurons by cholecystokinin and suppression by ghrelin. *J Neurosci* 27: 2876-2882.
97. Vettor R, Fabris R, Pagano C, Federspil G (2002). Neuroendocrine regulation of eating behavior. *J Endocrinol Invest* 10: 836-854.
98. Nakhate KT, Kokare DM, Singru PS, Subhedar NK (2011). Central regulation of feeding behavior during social isolation of rat: evidence for the role of endogenous CART system. *Int J Obes* 6: 773-784.
99. De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X-B, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik VT, Bartlett FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG (1998) The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci* 95: 322–327.

100. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92: 473-485.
101. Sahu A (2002). Interactions of neuropeptide Y, hypocretin-I (orexin A) and melanin-concentrating hormone on feeding in rats. *Brain Res* 944: 232-238.
102. Rodgers RJ, Ishii Y, Halford JC, Blundell JE (2002). Orexins and appetite regulation. *Neuropeptides* 36: 303-325.
103. Rodgers RJ, Halford JCG, Nunes de Souza RL, Canto de Souza AL, Piper DC, Arch JRS, Blundell JE (2000). Dose-response effects of orexin-A on food intake and the behavioural satiety sequence in rats. *Regul Pept* 96: 71-84.
104. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 397: 656-660.
105. Kojima M, Kangawa K (2005). Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 85: 495-522.
106. Dornonville DC, Lindqvist A, Egecioglu E, Tung C, Surve V, Ohlsson C, Jansson JO, Albertsson EC, Dickson SL, Hakanson R (2005). Ghrelin treatment reverses the reduction in weight gain and body fat in gastrectomised mice. *Gut* 7: 907-913.
107. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K (2001). Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocr Metab* 10: 4753-4758.

108. Cummings DE (2006). Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. *Physiol Behav* 89: 71-84.
109. Morton GJ, Schwartz MW (2001). The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25: 56-62.
110. Tschöp M, Statnick MA, Suter TM, Heiman ML (2002). GH-releasing peptide-2 increases fat mass in mice lacking NPY: indication for a crucial mediating role of hypothalamic agouti-related protein. *Endocrinology* 143: 558-568.
111. Hagan MM, Benoit SC, Rushing PA, Pritchard LM, Woods SC, Seeley RJ (2001). Immediate and prolonged patterns of Agouti-related peptide-(83--132)-induced c-Fos activation in hypothalamic and extrahypothalamic sites. *Endocrinology* 3: 1050-1056.
112. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37: 649-661.
113. Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, Westwood M, Clayton PE (2003). Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol* 5: 649-654.
114. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB (2004). Ghrelin--a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrin* 25: 27-68.
115. Olszewski PK, Schioth HB, Levine AS (2008). Ghrelin in the CNS: from hunger to a rewarding and memorable meal ?. *Brain Res Rev* 58: 160-170.
116. Kola B, Hubina E, Tucci SA, Kirkham TC, Garcia EA, Mitchell SE, Williams LM, Hawley SA, Hardie DG, Grossman AB, Korbonits M (2005). Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 280: 25196-25201.

117. Kola B, Farkas I, Christ-Crain M, Wittmann G, Lolli F, Amin F, Harvey-White J, Liposits Z, Kunos G, Grossman AB, Fekete C, Korbonits M (2008). The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *PLoS ONE* 3:e1797.
118. Ekblad E, Sundler F (2002). Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. *Peptides* 2: 251-261.
119. Taylor IL (1985). Distribution and release of peptide YY in dog measured by specific radioimmunoassay. *Gastroenterology* 3: 731-737.
120. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR (2002). Gut hormone PYY (3–36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 418: 650–654.
121. Greeley GH, Hashimoto T, Izukura M, Gomez G, Jeng J, Hill FL, Lluís F, Thompson JC (1989). A comparison of intraduodenally and intracolonicly administered nutrients on the release of peptide-YY in the dog. *Endocrinology* 4: 1761-1765.
122. Woods SC (2004). Gastrointestinal satiety signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. *Am J Physiol* 286: 7-13.
123. Acuna GC, Vanden AN (2005). Peptide YY(3-36) inhibits both anorexigenic proopiomelanocortin and orexigenic neuropeptide Y neurons: implications for hypothalamic regulation of energy homeostasis. *J Neurosci* 45: 10510-10519.
124. Koda S, Date Y, Murakami N, Shimbara T, Hanada T, Toshinai K, Niiijima A, Furuya M, Inomata N, Osuye K, Nakazato M (2005). The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology* 5: 2369-2375.
125. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR (1985). Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 5: 1070-1077.

126. Putnam WS, Liddle RA, Williams JA (1989). Inhibitory regulation of rat exocrine pancreas by peptide YY and pancreatic polypeptide. *Am J Physiol* 4: 698-703.
127. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR (2003). Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med* 349: 941-948.
128. Sloth B, Davidsen L, Holst JJ, Flint A, Astrup A (2007). Effect of subcutaneous injections of PYY1-36 and PYY3-36 on appetite, ad libitum energy intake, and plasma free fatty acid concentration in obese males. *Am J Physiol Endocrin Metab* 2: 604-609.
129. Corp ES, McQuade J, Krasnicki S, Conze DB (2001). Feeding after fourth ventricular administration of neuropeptide Y receptor agonists in rats. *Peptides* 3: 493-499.
130. Kanatani A, Mashiko S, Murai N, Sugimoto N, Ito J, Fukuroda T, Fukami T, Morin N, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Saga Y, Nishimura S, Ihara M (2000). Role of the Y1 receptor in the regulation of neuropeptide Y-mediated feeding: comparison of wild-type, Y1 receptor-deficient, and Y5 receptor-deficient mice. *Endocrinology* 3: 1011-1016.
131. Rehfeld JF. Clinical endocrinology and metabolism. Cholecystokinin. *Best Pract Res Clin Endoc Metab* 4: 569-586.
132. Clerc P, Coll Constans MG, Lulka H, Broussaud S, Guigné C, Leung-Theung-Long S, Perrin C, Knauf C, Carpené C, Pénicaud L, Seva C, Burcelin R, Valet P, Fourmy D, Dufresne M (2006). Involvement of cholecystokinin 2 receptor in food intake regulation: hyperphagia and increased fat deposition in cholecystokinin 2 receptor-deficient mice. *Endocrinology* 3: 1039-1049.
133. Kobelt P, Tebbe JJ, Tjandra I, Stengel A, Bae HG, Andresen V, van der Voort IR, Veh RW, Werner CR, Klapp BF, Wiedenmann B, Wang L, Tache Y, Mönnikes H (2005). CCK inhibits the orexigenic effect of peripheral ghrelin. *Am J Physiol- Reg I* 2883: 751-758.

134. Kadowaki T, Yamauchi T (2005). Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 26: 439-451.
135. Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R (2003). Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med* 228: 1111-1117.
136. Blüher M (2012). Clinical relevance of adipokines. *Diabetes Metab J* 36: 317-327.
137. Ergün A (2003). Yağ hücrelerinden salgılanan maddeler, rezistin ve insülin direnci. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 56: 25-30.
138. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.
139. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P (1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269: 546-549.
140. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 1407-1433.
141. Friedman JM, Halaas JL (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395: 763-770.
142. Del Bianco-Borges B, Cabral FJ, Franci CR (2010). Co-expression of leptin and oestrogen receptors in the preoptic-hypothalamic area. *J Neuroendocrinol* 22: 996-1003.
143. Tilg H, Moschen AR (2006). Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 10: 772-783.
144. Korner J, Chua SC Jr, Williams JA, Leibel RL, Wardlaw SL (1999). Regulation of hypothalamic proopiomelanocortin by leptin in lean and obese rats. *Neuroendocrinology* 6: 377-383.

145. Bi S, Robinson BM, Moran TH (2003). Acute food deprivation and chronic food restriction differentially affect hypothalamic NPY mRNA expression. *Am J Physiol- Reg I* 5: 1030-1036.
146. Schwartz MW (1997). Regulation of appetite and body weight. *Hosp Pract* 32: 109-119.
147. Mizuno TM, Mobbs CV (1999). Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting. *Endocrinology* 140: 814-817.
148. Wang Q, Bing C, Al-Barazanji K, Mossakowaska DE, Wang XM, McBay DL, Neville WA, Taddayon M, Pickavance L, Dryden S, Thomas ME, McHale MT, Gloyer IS, Wilson S, Buckingham R, Arch JR, Trayhurn P, Williams G (1997). Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat. *Diabetes* 46: 335-341.
149. Daniel P, Denis G, Baskin D, Michael WS (2002). Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev* 60: 20–29.
150. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HHQ, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T (1993) A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 136: 355–360.
151. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Co* 251: 471-476.
152. Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP (2010). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacol Rev* 62: 331-342.

153. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, Lawrie KW, Hervieu G, Riley G, Bolaky JE, Herrity NC, Murdock P, Darker JG (2003). Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem* 84: 1162-1172.
154. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, Kitada C, Honda S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M (2000). Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem* 275: 21061–21067.
155. Mesmin C, Dubois M, Becher F, Fenaille F, Ezan E (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the absolute quantification of the expected circulating apelin peptides in human plasma. *Rapid Commun Mass Sp* 19: 2875-2884.
156. Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Kunduzova O, Valet P (2012). Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment?. *Trends Endocrin Met* 23: 234-241.
157. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, Osmond DH, George SR, O'Dowd BF (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem* 74: 34–41.
158. Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortes C (2002). Distribution of apelin synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience* 113: 653–662.
159. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, De Luca B, Laforgia V, Groeger AM, De Luca A (2002). Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo* 16: 333-336.
160. Susaki E, Wang G, Cao G, Wang HQ, Englander EW, Greeley GH (2005). Apelin cells in the rat stomach. *Regul Pept* 129: 37–41.
161. Wang G, Anini Y, Wei W, Qi X, O Carroll AM, Mochizuki T, Wang HQ, Hellmich MR, Englander EW, Greeley GH (2004). Apelin, a new

- enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 145: 1342-1348.
162. Klein MJ, Davenport AP (2005). Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther* 107: 198-211.
 163. O'Shea M, Hansen MJ, Tatemoto K, Morris MJ (2003). Inhibitory effect of apelin-12 on nocturnal food intake in the rat. *Nutr Neurosci* 6: 163–167.
 164. Jaszberenyi M, Bujdoso E, Telegdy G (2004). Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. *Neuroscience* 129: 811–816.
 165. Daviaud D, Boucher J, Gesta S, Dray C, Guigne C, Quilliot D, Ayav A, Ziegler O, Carpenne C, Saulnier-Blache JS, Valet P, Castan-Laurell (2006). TNF α up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *FASEB J* 20: 1528-1530.
 166. Clarke KJ, Whitaker KW, Reyes TM (2009). Diminished metabolic responses to centrally-administered apelin-13 in diet-induced obese rats fed a high-fat diet. *J Neuroendocrinol* 21: 83-89.
 167. Ziora K, Oświecimska J, Swietochowska E, Ziora D, Ostrowska Z, Stojewska M, Klimacka-Nawrot E, Dyduch A, Błońska-Fajfrowska B (2010). Assessment of serum apelin levels in girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocr Metab* 95: 2935-294.
 168. Castan-Laurell I, Vítková M, Daviaud D, Dray C, Kovacikova M, Kovacova Z, Hejnova J, Stich V, Valet P (2008). Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *Eur J Endocrinol* 158: 905–910.
 169. Soriguer F, Garrido-Sanchez L, Garcia-Serrano S, Garcia-Almeida JM, Garcia-Arnes J, Tinahones FJ, Garcia-Fuentes E (2009). Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg* 11: 1574-1580.

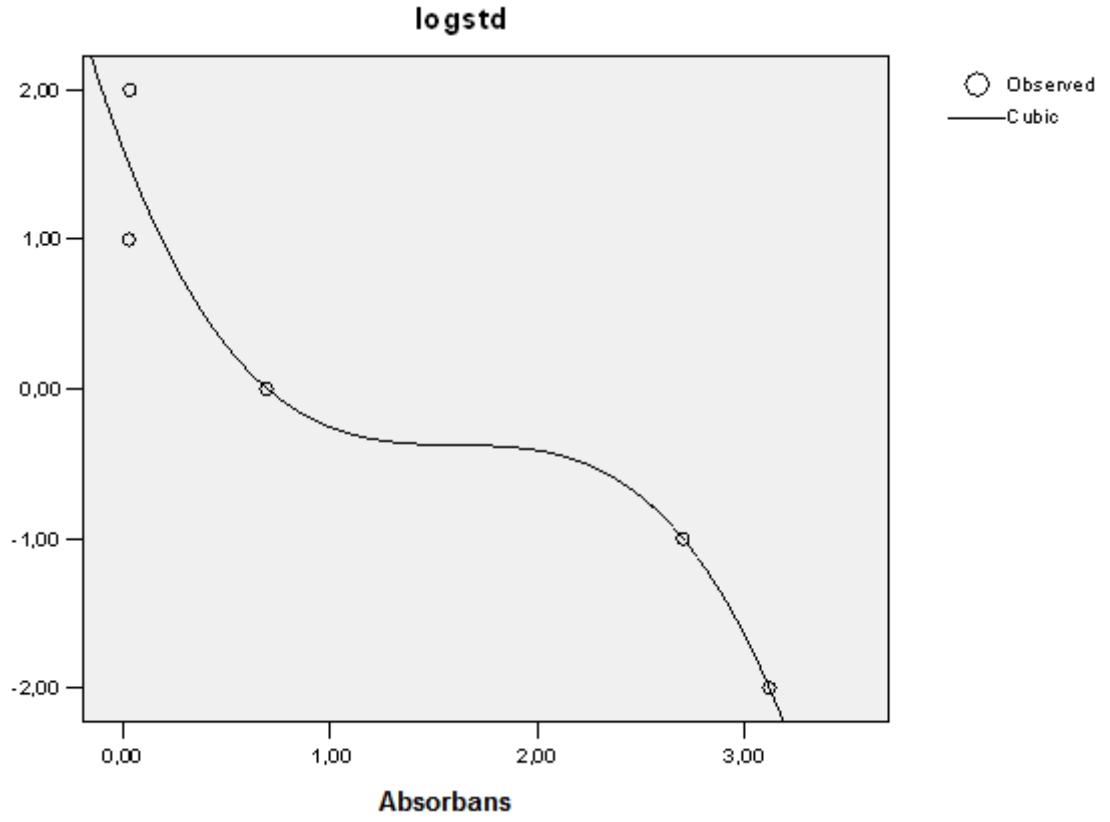
170. Roberts EM, Newson MJ, Pope GR, Landgraf R, Lolait SJ, O'Carroll AM (2009). Abnormal fluid homeostasis in apelin receptor knockout mice. *J Endocrinol* 202: 453-462.
171. Brailoiu GC, Dun S, Yang J, Ohsawa M, Chang JK, Dun NJ (2002). Apelin immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neurosci Lett* 327: 193-197.
172. Reaux A, Morinville A, Burlet A, Llorens-Cortes C, Beaudet A (2004). Dehydration-induced cross-regulation of apelin and vasopressin immunoreactivity levels in magnocellular hypothalamic neurons. *Endocrinology* 145: 4392-4400.
173. Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen MS, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuhola J, Rysä J, Tóth M, Ruskoaho H (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 91: 434-440.
174. Klein MJ, Skepper JN, Davenport AP (2005). Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regul Pept* 126: 233-240.
175. Salcedo A, Garijo J, Monge L, Fernandez N, Luis García-Villalon A, Sanchez Turrión V, Cuervas-Mons V, Dieguez G (2007). Apelin effects in human splanchnic arteries. Role of nitric oxide and prostanoids. *Regul Pept* 144: 50-55.
176. Japp AG, Cruden NL, Amer DA, Li VK, Goudie EB, Johnston NR, Sharma S, Neilson I, Webb DJ, Megson IL (2008). Vascular effects of apelin in vivo in man. *J Am Coll Cardiol* 52: 908-913.
177. Jia YX, Lu ZF, Zhang J, Pan CS, Yang JH, Zhao J, Yu F, Duan XH, Tang CS, Qi YF (2007). Apelin activates L-arginine/nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in rat aortas. *Peptides* 10: 2023-2029.
178. Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, Sugaya T, Matsuzaki H, Yamamoto R, Shiota N (2004). Regulatory roles for APJ, a seven-

- transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem* 279: 26274–26279.
179. Xu N, Wang H, Fan L, Chen Q (2009). Supraspinal administration of apelin-13 induces antinociception via the opioid receptor in mice. *Peptides* 30: 1153-1157.
 180. Lv SY, Qin YJ, Wang NB, Yang YJ, Chen Q (2012). Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. *Peptides* 37: 165-170.
 181. Tang SY, Xie H, Yuan LQ, Luo XH, Huang J, Cui RR, Zhou HD, Wu XP, Liao EY (2007). Apelin stimulates proliferation and suppresses apoptosis of mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 via JNK and PI3-K/Akt signaling pathways. *Peptides* 28: 708-718.
 182. Heinonen MV, Laaksonen DE, Karhu T, Karhunen L, Laitinen T, Kainulainen S, Rissanen A, Niskanen L, Herzig KH (2009). Effect of diet-induced weight loss on plasma apelin and cytokine levels in individuals with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 9: 626-33
 183. Temizel İNS (2008). İştahsız çocuk. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 51: 176-181.
 184. Higuchi K, Masaki T, Gotoh K, Chiba S, Katsuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 148: 2690-2697.
 185. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillo WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR (2001). Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 50: 2540-2547.
 186. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK (2006). Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol* 494: 528-548.

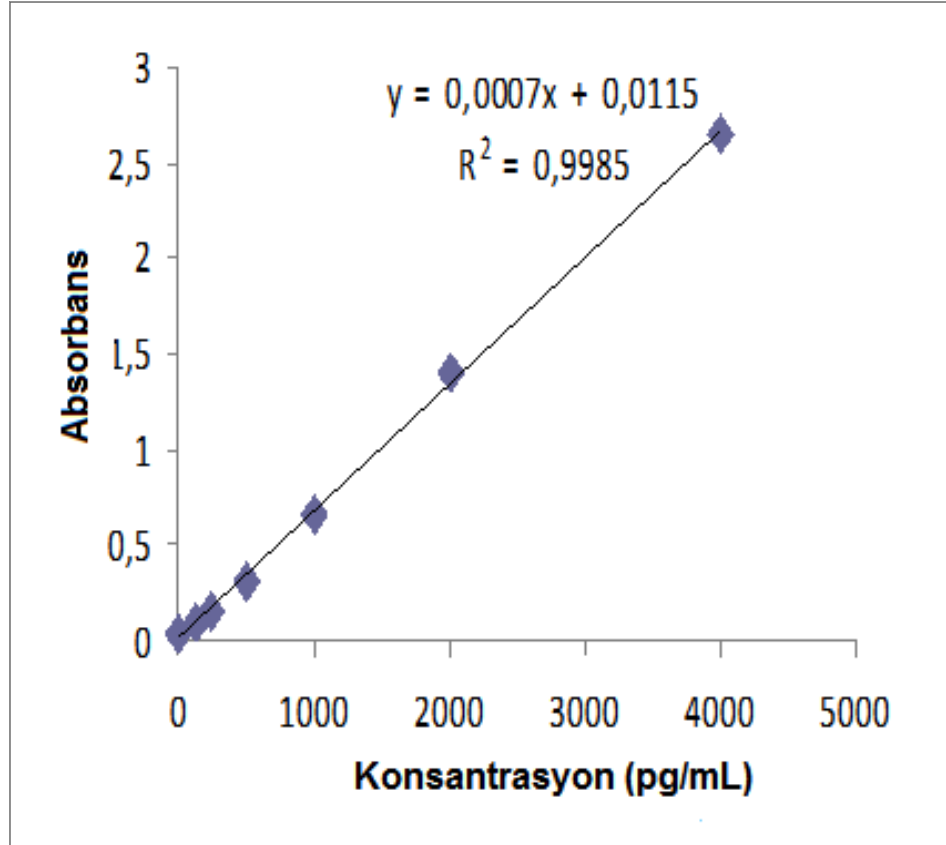
187. Reaux-Le Goazigo A, Bodineau L, De Mota N, Jeandel L, Chartrel N, Knauf C, Raad C, Valet P, Llorens-Cortes C (2011). Apelin and the proopiomelanocortin system: a new regulatory pathway of hypothalamic α -MSH release. *Am J Physiol-Endoc M* 301: 955-966.
188. Lopez M, Lage R, Saha AK, Pérez-Telve D, Vázquez MJ, Varela L, Sangiao AS, Tovar S, Raghay K, Cuencam RS, Deoliveira RM, Castañeda T, Datta R, Dong JZ, Culler M, Sleeman MW, Alvarez CV, Gallego R, Lelliott CJ, Carling D, Tschöp MH, Diéguez C, Vidal-Puig A (2008). Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab* 5: 389-399.
189. Diz-Chaves Y (2011). Ghrelin, appetite regulation, and food reward: interaction with chronic stress. *Int J Pept* 10: 1155-116.
190. Pittner RA, Moore CX, Bhavsar SP, Gedulin BR, Smith PA, Jodka CM, Parkes DG, Paterniti JR, Srivastava VP, Young AA (2004). Effects of PYY[3–36] in rodent models of diabetes and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28: 963–971.
191. Lomenick JP, Melguizo MS, Mitchell SL, Summar ML, Anderson JW (2009). Effects of meals high in carbohydrate, protein, and fat on ghrelin and peptide YY secretion in prepubertal children. *J Clin Endocr M* 94: 4463-4471.
192. Mitra A, Katovich MJ, Mecca A, Rowland NE (2006). Effects of central and peripheral injections of apelin on fluid intake and cardiovascular parameters in rats. *Physiol Behav* 89: 221-225.
193. O'Carroll AM, Lolait SJ (2003). Regulation of rat APJ receptor messenger ribonucleic acid expression in magnocellular neurones of the paraventricular and supraoptic nuclei by osmotic stimuli. *J Neuroendocrinol* 15: 661-666.

EKLER

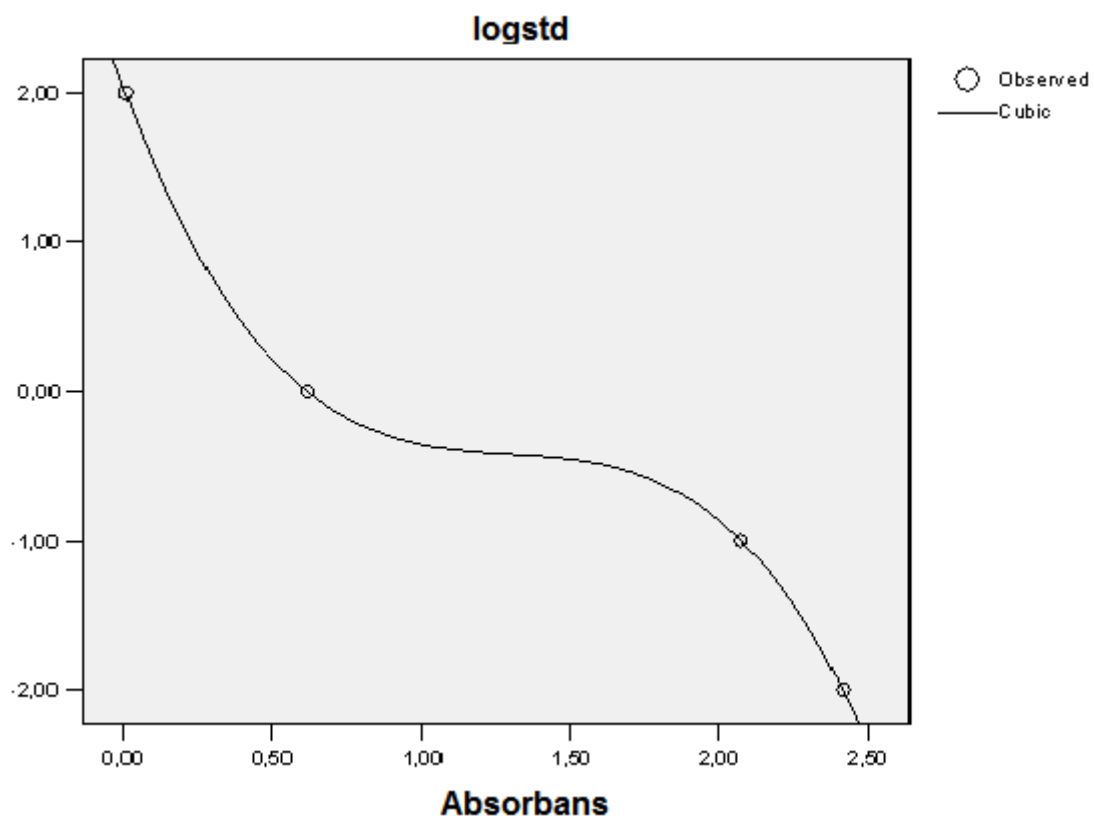
Ek 1. Nöropeptid Y Standart Grafiği



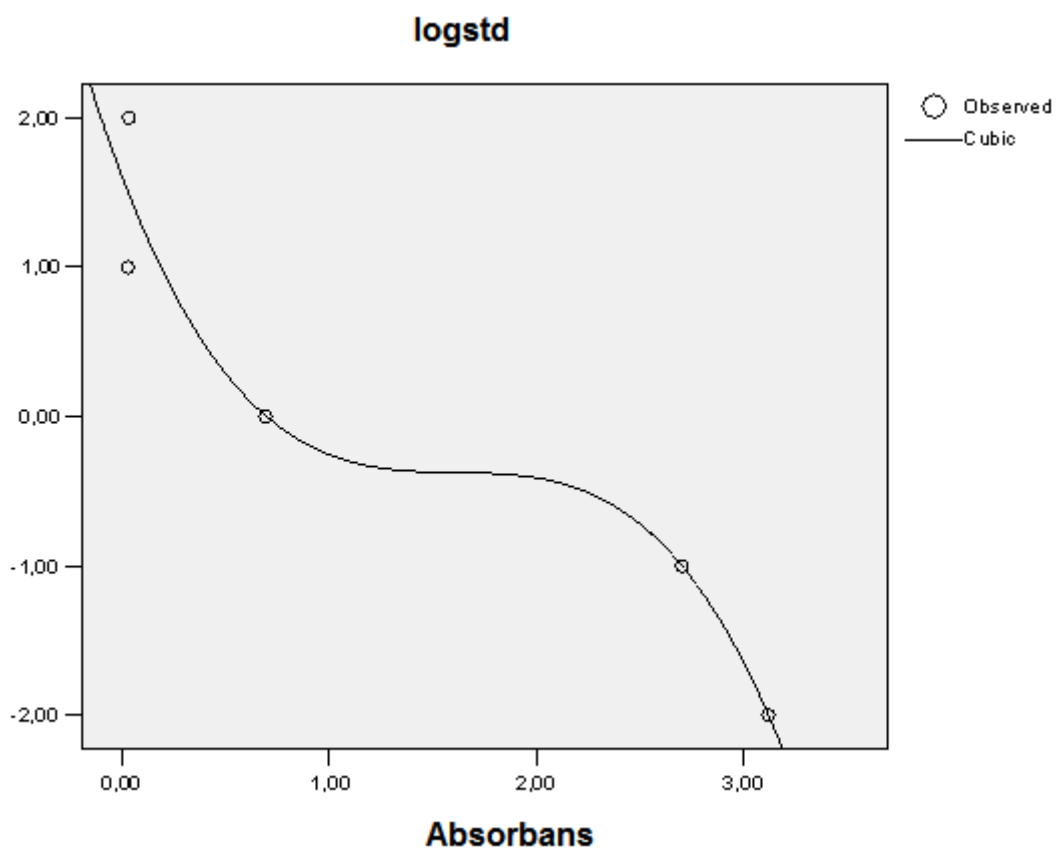
Ek 2. Leptin Standart Grafiği



Ek 3. Ghrelin Standart Grafiği



Ek 4. Peptid YY Standart Grafiği



**T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI**



**KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ**

Çalışmasının Adı : “Apelinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi”
Çalışmacılar : Doç.Dr.Sinan CANPÖLAT, Doktora Öğr.Sinan SARAL
Anabilim Dalı : Fiziyojji ABD.

Etik Kurul Dosya No 2010/42	Etik Kurul Toplantı Tarihi 04.01.2011	Etik Kurul Toplantı No 2011/01	Etik Kurul Karar No 1
--	--	---	--------------------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu’nda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN’ın başkanlığında “Apelinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi” başlığını taşıyan tez çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi’nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (04.01.2011)

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport No :

Soyadı, Adı : SARAL, Sinan

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : Of, 16.09.1978

Medeni hali : Evli

Telefon : 04662121301

Faks :

E-Posta : sinansaral61@msn.com

Yazışma adresi : Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Fizyoloji Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık Anabilim Dalı	K.T.Ü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji	2008-
Yüksek Lisans	Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı/ Fizyoloji Anabilim Dalı	2005
Lisans	Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	2003
Lise	Trabzon Lisesi	1996

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Öğretim Görevlisi	Artvin Çoruh Üniversitesi	2009-

YABANCI DİL

İngilizce, ÜDS: 71,250

UZMANLIK ALANI

Nöroendokrinoloji

PROJELER

- Oreksin/Hipokretinlerin Ağrı Üzerine Etkilerinin Sıçan Duyusal sinir Hücre Kültürü modeli Kullanılarak elektrofizyolojik ve Moleküler İncelenmesi. Araştırmacı/Uzman/ TUBİTAK (2005-2009).
- Beden Sıvılarında Kortizol Ölçümü Amacıyla Kortizol Enzim İmmunoassay Testinin Kurulması. Yardımcı araştırmacı TUBİTAK (2006-2008).
- 5 Yaş Altı Çocuk Ölümünün Tespit Edilmesi, Değerlendirilmesi ve Ölüm Zamanlarına Yönelik Müdahale Programlarının Geliştirilmesi. Artvin İl Koordinatörlüğü. Sağlık Bakanlığı Projesi, (2011).
- Apelinin beslenme davranışı üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Araştırmacı/Uzman. KTÜ/BAP (2010- 2012)
- Doğum Sonrası Özürlülüğe Neden Olabilecek Durumlarla İlgili Üniversite Öğrencilerine Farkındalık Eğitimi. Proje Yürütücüsü. Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı, (ÖDES) (2012- 2013).

YAYINLAR/BİLDİRİLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

- Uzun, M., **Saral, S.**, Atakisi, O., Yapar, K., Uzlu, E., Citil, M., Tastekin, D., Erdogan, H. M., 2008. Correlation Between The Erythrocyte Sedimentation Rate and Blood Nitric Oxide Levels In Rabbits?. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 2008 Vol. 35 No. 1.

Ulusal ve Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

- **Saral S**, Ozcan M, Ayar A. İzole sıçan miyometriyumunda metabolik inhibisyon ve kasılabilme: hücre içi kalsiyum homeostazisinin rolü. XXXI. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 27-30 Eylül, P65, Gaziantep, (2005).

- Uzun M, **Saral S**, Atakişi O, Yapar K, Uzlu E, Çitil M, Taşdemir, M. ve Erdoğan, H. M. Nitrik oksit alyuvar sedimentasyon hızını etkiler mi?. 33. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 15-19 Ekim, Girne, KKTC (2007).
- Yıldız S, **Saral S**. Beden sıvılarında kortizol ölçümü amacıyla kortizol enzim immunoassay testinin kurulması. XXXIV. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 6-10 Ekim, P66, Erzurum, (2008).
- Beytut E, Aksakal M, Yüce R, Kamiloğlu N, Demirci N, Uslu H, **Saral S**, Koç E, Kurt Y, Yüksek dozda glikokortikoid uygulanan sıçanların eritrositlerindeki oksidan antioksidan denge üzerine E vitamini ve Selenyum uygulamasının etkileri, XXXIV. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 6-10 Ekim, P 129, Erzurum, (2008).
- Canpolat S, Alver A, Alkanat M, Menteşe A, **Saral S**, Kutlu S, Yılmaz B and Kelestimur H. Effects of kisspeptin on food intake, body weight and plasma leptin, apelin and ghrelin levels in young male rat. British Society for Neuroendocrinology Annual Meeting, 3-5 July, Cambridge Univ, P15, (2011).
- Canpolat S, Alver A, Mentese A, **Saral S**. Kisspeptin has differential effects on plasma neuropeptide Y and peptide YY concentrations in young male rats. Turkish Society of Physiological Sciences and FEPS to be held in Istanbul, Turkey, from September 3 to 7, PC 180, (2011).
- Canpolat S, **Saral S**, Alkanat M, Ayar A. Effects of chronic peripheral administration of Apelin-13 water intake, food intake and body weight in rats, The Physiological Society Congress, Edinburgh, UK, From July 2 to 5, Proc Physiol Soc 27, PC 327, (2012).
- **Saral S**, Canpolat S, Sümer AU, Alkanat M, Ayar A. Kronik periferik apelin-13 uygulanan sıçanlarda serum Leptin, Ghrelin, Nöropeptid Y ve Peptid YY düzeylerinin değerlendirilmesi, 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi 25-29 Eylül/ P84, TRABZON, (2012).

- İnce İ, Alver A, Canpolat S, **Saral S**, Kahraman C. Kronik Apelin Uygulamasının Karaciğer Antioksidan Enzimleri (Cat, Sod, Gsh-Px) Üzerine Etkisinin İncelenmesi, XXIV. Ulusal Biyokimya Kongresi 25-28 Eylül, P70, Konya (2012).
- Kahraman C, **Saral S**, İnce İ, Bodur A, Canpolat S, Alver A. Ratlarda Kronik Apelin Uygulamasının Serum Melatonin Seviyelerine Etkisi, XXIV. Ulusal Biyokimya Kongresi 25-28 Eylül, P74, Konya, (2012).

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

Tubitak Bilimsel Yayın Teşvik Ödülü- 2008

HOBİLER

Fotoğrafçılık.

