TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

# L-THEANİNİN DİYABETİK SIÇANLARDA HİPOKAMPUS DOKUSU VE SERUM BDNF VE ADİPOSİTOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Hamed HAJIZADEH TEKMEH

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Birgül KURAL

TRABZON-2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

# L-THEANİNİN DİYABETİK SIÇANLARDA HİPOKAMPUS DOKUSU VE SERUM BDNF VE ADİPOSİTOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Hamed HAJIZADEH TEKMEH

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Birgül KURAL

TRABZON-2021

**ONAY**

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Hamed HAJIZADEH TEKMEH'in hazırladığı "L-Theaninin Diyabetik Sıçanlarda Hipokampus Dokusu ve Serum BDNF ve Adipositokin Seviyelerine Etkisinin İncelenmesi" başlıklı çalışma Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/07/2021

---

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne ...../...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../20..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak 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 kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

*08/07/2021*
*Hamed HAJIZADEH TEKMEH*

## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitim hayatım boyunca yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Birgül KURAL'a

Lisansüstü eğitimimde büyük ve sayısız emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Eşref Edip KEHA, Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. S. Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE, Dr. Öğr. Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN ve Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN'a,

Bilimsel ve akademik anlamda imkanlarını, yardımlarını, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, Prof. Dr. Esin YULUĞ, Prof. Dr. İsmail ABİDİN ve Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ'a,

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki başta Arş. Gör. Sevil KÖR ve Elif ŞAHİN olmak üzere lisansüstü eğitim gören tüm arkadaşlarıma ve KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline,

Dokuların histopatolojik incelemelerine yardımcı olan Arş. Gör. Abdulkadir KUTLU'ya,

Her zaman beni destekleyen, her türlü fedakarlığı ve sabrı gösteren aileme ve eşime en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Hamed HAJIZADEH TEKMEH

Bu tez çalışması, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Numarası: TSA-2019-8470).

## İÇİNDEKİLER


| | Sayfa |
|---|---|
| **İÇ KAPAK SAYFASI** | |
| **ONAY** | |
| **BEYAN** | |
| **İTHAF** | |
| **TEŞEKKÜR** | |
| **İÇİNDEKİLER** | **vi** |
| **TABLOLAR DİZİNİ** | **viii** |
| **ŞEKİLLER DİZİNİ** | **ix** |
| **RESİMLER DİZİNİ** | **x** |
| **KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ** | **xi** |
| **ÖZET** | **xii** |
| **ABSTRACT** | **xiii** |
| **1. GİRİŞ ve AMAÇ** | **1** |
| **2. GENEL BİLGİLER** | **3** |
| 2.1. Diyabetes Mellitus | 3 |
| 2.2. Hipokampus | 5 |
| 2.2.1. Anatomik Özellikleri | 5 |
| 2.2.2. Fonksiyonları | 6 |
| 2.3. BDNF | 6 |
| 2.4. İnsülin, Diyabet ve Hipokampus | 9 |
| 2.5. Adipositokinler | 12 |
| 2.5.1. Tümör Nekroz Faktörü-α | 12 |
| 2.5.2. Leptin | 14 |
| 2.5.3. Adiponektin | 17 |
| 2.5.4. Rezistin | 21 |
| 2.6. L-Theanin | 23 |
| 2.6.1. Yapısı, Kimyasal Özellikleri ve Sentezi | 23 |
| 2.6.2. Emilimi ve Düzeyleri | 25 |
| 2.6.3. Sağlık Üzerine Etkisi | 25 |
| **3. GEREÇ ve YÖNTEM** | **29** |

3.1. Gereçler 29
3.2. Yöntem 30
3.2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması 31
3.2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması 32
3.2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Seviyelerinin Belirlenmesi 32
3.2.3.1. Serum Glukoz ve Lipid Parametrelerinin Tayini 32
3.2.3.2. Hipokampus Dokusu Homojenatlarının Hazırlanması 33
3.2.3.3. Doku Protein Düzeyinin Belirlenmesi 33
3.2.3.4. ELISA Yöntemiyle Yapılan Tayinler 35
3.2.4. Histopatolojik İncelemeler 39
3.2.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler 39
**4. BULGULAR** **40**
4.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları 40
4.2. Glukoz ve Lipid Parametrelerinin Seviyeleri 40
4.3. İnsülin Seviyeleri 42
4.4. Histopatolojik Bulgular 43
4.5. BDNF Seviyeleri 46
4.6. TNF-α Seviyeleri 47
4.7. Leptin Seviyeleri 48
4.8. Adiponektin Seviyeleri 49
4.9. Rezistin Seviyeleri 50
**5. TARTIŞMA ve SONUÇ** **51**
**6. KAYNAKLAR** **60**
**EKLER** **91**
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi 92
**ÖZGEÇMİŞ** **94**

## TABLOLAR DİZİNİ


| Tablo No | | Sayfa |
|---|---|---|
| **Tablo 1.** | DM tanı kriterleri ve sınıflandırılması | 4 |
| **Tablo 2.** | LTN'nin yapısı ve kimaysal özellikleri | 24 |
| **Tablo 3.** | Kullanılan cihazlar, laboratuvar aletler ve malzemeler | 29 |
| **Tablo 4.** | Kullanılan Kimyasal Maddeler | 30 |
| **Tablo 5.** | Çalışmada kullanılan kitler | 30 |
| **Tablo 6.** | Deney grupları ve yapılan uygulamalar | 31 |
| **Tablo 7.** | Protein tayini deneyi işlem basamakları | 34 |
| **Tablo 8.** | Deney gruplarının ağırlıkları (n=8) | 40 |
| **Tablo 9.** | Deney gruplarında glukoz ve lipid parametrelerinin seviyeleri (n=8) | 41 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ


| Şekil No | | Sayfa |
|---|---|---|
| **Şekil 1.** | Hipokampus anatomisi | 5 |
| **Şekil 2.** | Adipositokinlerin beyin fonksiyonları üzerindeki etkileri | 12 |
| **Şekil 3.** | Protein tayini standart grafiği | 34 |
| **Şekil 4.** | Ticari ELISA kitlerinin deney basamakları | 35 |
| **Şekil 5.** | İnsülin (A) ve BDNF (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler | 36 |
| **Şekil 6.** | TNF-α (A) ve leptin (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler | 37 |
| **Şekil 7.** | Adiponektin (A) ve rezistin (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler | 38 |
| **Şekil 8.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) insülin seviyeleri | 42 |
| **Şekil 9.** | Deney gruplarında hipokampus dokusu toplam hasar skorları | 43 |
| **Şekil 10.** | Deney gruplarında hipokampus bölgeleri (A: CA1; B: CA2; C: CA3) hasar skorları | 44 |
| **Şekil 11.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) BDNF seviyeleri | 46 |
| **Şekil 12.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) TNF-α seviyeleri | 47 |
| **Şekil 13.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) leptin seviyeleri | 48 |
| **Şekil 14.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) adiponektin seviyeleri | 49 |
| **Şekil 15.** | Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) rezistin seviyeleri | 50 |

## RESİMLER DİZİNİ


| Resim No | | Sayfa |
|---|---|---|
| **Resim 1.** | Deney grupları hipokampus dokusu kesitleri fitomikrograf görüntüleri | 45 |

## KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

### Kısaltmalar

| | |
|---|---|
| **ATP** | Adenozin trifosfat |
| **BAP** | Bilimsel Araştırma Projesi |
| **DM** | Diabetes Mellitus |
| **ELISA** | Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| **HRP** | Horseradish peroksidaz |
| **HDL** | Yüksek dansiteli lipoprotein |
| **HDL-K** | HDL kolesterol |
| **IDF** | Uluslararası Diyabet Federasyonu |
| **KTÜ** | Karadeniz Teknik Üniversitesi |
| **LDL** | Düşük Dansiteli Lipoprotein |
| **LDL-K** | LDL Kolesterol |
| **LTN** | L-Theanine |
| **NA** | Nikotinamid |
| **STZ** | Streptozotosin |
| **TG** | Trigliserid |
| **VLDL** | Çok düşük yoğunluklu lipoprotein |

### Simgeler

| | |
|---|---|
| **α** | Alfa |
| **β** | Beta |
| **Δ** | Delta |
| ° | Derece |
| **µ** | Mikro |
| **%** | Yüzde |

### Formüller

| | |
|---|---|
| **$C_2H_5OH$** | Etanol |
| **$C_3H_7OH$** | İzopropil alkol |
| **$C_7H_{14}N_2O_3$** | L-Theanin |
| **NaOH** | Sodyum hidroksit |
| **NaCl** | Sodyum klorür |

# ÖZET

## L-Theaninin Diyabetik Sıçanlarda Hipokampus Dokusu ve Serum BDNF ve Adipositokin Seviyelerine Etkisinin İncelenmesi

Diyabetes Mellitus (DM), artmış kan glukoz seviyesi, insülin yetersizliği veya etkisizliği ile karakterize metabolik bir hastalık olup beyinde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilmektedir. L-Theanin (LTN), *Camellia Sinensis* bitkisi çay türlerinde bulunan, rahatlatıcı, psikoaktif, antidepresan, antiinflamatuvar ve antinekrotik gibi özellikleri ile beyin ve beyinin hafıza ve öğrenme ile ilgili bölümü olan hipokampus fonksiyonlarını düzenleyici özelliğe sahip eşsiz bir amino asittir.

Çalışmamızda nikotinamid (NA)/streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda LTN'in hipokampus dokusunda ve serumda BDNF ve adipositokinlerin (TNF-α, leptin, adiponektin ve rezistin) seviyelerine etkisi, doku histopatolojisi ile birlikte değerlendirildi. Bu amaçla, 32 adet erkek Wistar sıçan (150-250 g) kontrol, LTN, DM ve DM+LTN olmak üzere dört gruba (n=8/grup) ayrıldı. 28 gün boyunca gastrik gavaj ile kontrol ve DM grubuna içme suyu, LTN ve DM+LTN grubuna ise 200 mg/kg/gün LTN verildi. Doku homojenatlarında ve serumlarda tayinler ticari ELISA kitleri ile yapıldı.

DM+LTN grubu DM grubu ile karşılaştırıldığında hipokampus dokusunda leptin ve adiponektin seviyeleri anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Diğer parametrelerde de değişiklikler olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0.05$). Histopatolojik analizlerde ise hasar hipokampusun tüm bölmelerinde azalmasına rağmen bu değişiklik CA3 bölgesinde anlamlı düzeyde idi ($p<0.05$).

LTN, DM'de hipokampus dokusunu dejenerasyondan koruyucu etkiler sergilemekle birlikte, BDNF ve adipositokinlerin seviyelerini de etkileyebilmektedir.



**Anahtar Kelimeler:** Adipositokin, diyabet, ELISA, hipokampus, L-Theanin

## ABSTRACT

### Investigation of The Effect of L-Theanine on The Hippocampus Tissue and Serum BDNF and Adipocytokine Levels in Diabetic Rats

Diabetes Mellitus (DM), a metabolic disease characterized by the increased blood glucose level, insulin deficiency or ineffectiveness, may cause structural and functional disorders in the brain. L-Theanine (LTN) is a unique amino acid found in Camellia sinensis plant tea species, with its relaxing, psychoactive, antidepressant, anti-inflammatory and antinecrotic properties, and regulating the functions of the brain and hippocampus which is the part of the brain related to memory and learning.

In our study, the effect of LTN on the levels of BDNF and adipocytokines (TNF-α, leptin, adiponectin and resistin) in the hippocampus tissue and serum of rats which got diabetes via nicotinamide (NA)/streptozotocin (STZ) as well as tissue histopathology was evaluated. For this purpose, 32 male Wistar rats (150-250 g) were divided into four groups (n=8/group) as control, LTN, DM and DM+LTN. Drinking water was given to the control and DM groups by gastric gavage for 28 days, and 200 mg/kg/day LTN to the LTN and DM+LTN groups. Determinations in tissue homogenates and sera were made with commercial ELISA kits.

The leptin and adiponectin levels in the hippocampus tissue were found to be significantly lower in the DM+LTN group compared to the DM group ($p<0.05$). Although there were changes in other parameters, no statistical difference was found ($p>0.05$). In histopathological analysis, although the damage was reduced in all sections of the hippocampus, this change was significant in the CA3 region ($p<0.05$).

Although LTN exhibits protective effects in DM from degeneration of the hippocampus tissue, it can also affect the levels of BDNF and adipocytokines.


**Keywords:** Adipocytokine, diabetes, ELISA, hippocampus, L-Theanine

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), pankreas beta hücreleri disfonksiyonu ve/veya insülin direncine bağlı olarak ortaya çıkan ve kronik olarak yüksek glukoz konsantrasyonları ile kendini gösteren karmaşık, ilerleyici bir metabolik hastalıktır (1). Genetik ve çevresel faktörler, obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi etkenler bu hastalığın patofizyolojisinde rol oynar (2). Morbidite ve mortalitesi yüksek olan bu hastalıkta birçok organ etkilenmekte olup bu organlardan biri de beyindir. Nörogenezde azalma ve dejenerasyon görülebilmektedir (3). DM'de depresif sendromlar, demans, unutkanlık, Alzheimer hastalığı gibi nörolojik sorunlar yaygındır (4, 5). Diyabetik komplikasyonlar eşliğinde kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin bozulmasına bağlı olarak beyinde hipokampus fonksiyonu (diğer beyin bölgeleriyle bağlantı, öğrenme ve hafıza) bozulmaktadır (6). Ayrıca, glukoz ve insülin düzeyindeki değişiklikler de hipokampus metabolizmasını da etkilemektedir (7).

BDNF, beyinde nöronal dokuyu koruyan ve merkezi sinir sisteminin işlevini geliştiren nörotrofinlerden biridir (8). Nöron morfoloji ve fizyolojisini etkilemektedir. Nöronal plastisiteyi ve sinaps stabilizasyonunu artırmakta, bilişsel işlevleri ve hafızayı iyileştirmekte ve demans riskini azaltmaktadır (8, 9). Beslenmeyi kontrol ederek ve glukoz metabolizmasını düzenleyerek enerji homeostazında rol oynar (10). İnsülin de BDNF fonksiyonlarını etkilemektedir. Diyabet ve komplikasyonlarına bağlı olarak BDNF seviyesi değişebilmektedir (8). Ayrıca, patolojik durumlara ilaveten kullanılan antidepresanlardan da BDNF düzeyi etkileyebilmektedir (9). BDNF sadece beyinde değil lökositler, trombositler, endotel hücreleri ve adipositlerde de eksprese olarak vücut fonksiyonlarına katkıda bulunur (11, 12).

Adipositokinlerin (TNF-α, leptin, adiponektin ve rezistin gibi) adipositlerden salgılandığı bilinse de beyinde de eksprese olduğuna dair literatürler mevcuttur (13-15). Bu proteinlerin enerji homeostazı, nörolojik fonksiyonları ve nöroplastisiteyi düzenleyici rolleri de dahil pek çok fonksiyonu bulunmaktadır. Bu fonksiyonlarda adipoz doku-beyin ekseni önemlidir. Adipositlerde salgılanan adipositlerin bir kısmı kan beyin bariyerini geçebilme veya reseptörleri ile etkilerini sergileyebilmektedir (15, 16).

LTN, *Camellia Sinensis* bitkisinden elde edilen yeşil ve siyah çay gibi içeceklerde bulunan özel bir amino asittir. Yapılan çalışmalarla sağlığa faydalı etkileri belirlenmiştir; antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör yolakları tetiklediği, stres bozukluklarını

hafiflettiği, ruh halini iyileştirdiği, antidepresan özellikleri olduğu, yani nöroprotektif etkiler sergilediği ifade edilmektedir (17-19). İnce bağırsakta aminoasitlerin emilimi ile ilgili ve glukoz taşınımı ile ilgili genlerin ekspresyonunu baskıladığı ve bu sayede glukoz ve insülin düzeylerini düşürebildiği raporlanmıştır (20). Ayrıca LTN'nin vücuttaki önemli metabolit ürünü olan etilamin düzeyi yüksek olanlarda DM riski düşük bulunmuştur (21).

BDNF'nin ve adipositokinlerin beyin metabolizmasını düzenlemede rolü olması, bu proteinleri, nörolojik ve strese bağımlı hastalıklarda terapötik hedef haline getirmektedir. LTN'nin BDNF'yi arttırarak beyin fonksiyonlarına olumlu etkileri tespit edilmiş olsa da (22) DM hastalarında BDNF'ye ve adipositokinlere etkilerine yönelik çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada LTN'nin NA/STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan sıçanların hipokampus dokusunda BDNF ve adipositokinlerin (TNF-α, leptin, adiponektin, rezistin) seviyelerine etkileri belirlenmiş ve hipokampus dokusu histopatolojik olarak incelenmiştir. Böylece LTN'nin nöroprotektif etkisi değerlendirilmiştir.

## 2. Genel Bilgiler

### 2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus insülin salınımı, eksikliği veya etkisizliği ya da bu faktörlerin birlikte olması ile ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize akut ve kronik komplikasyonların eşlik etmesiyle yaşamı olumsuz etkileyen, yaygın ve kronik bir hastalıktır (23). Kan glukoz seviyesinin sürekli yüksek olması (kronik hiperglisemi), başta sinir sistemi olmak üzere böbrekler, kalp, kan damarları ve göz gibi çeşitli organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu veya yetmezliği gibi olumsuz etkiler oluşturur (24, 25). Diyabet ve komplikasyonları, hem çevresel hem de genetik bileşenleri olan çok faktörlü ve karmaşık durumlardır (25). DM'nin 20-79 yaş aralığındaki insanlarda küresel tüm nedenlere bağlı ölümlerin %14.5'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir (26). DM yaygınlığı yaş ile birlikte artmaktadır (27).

Diyabet başlıca tip 1 diyabetes mellitus (T1DM), tip 2 diyabetes mellitus (T2DM), gestasyonel diyabet (GDM) ve ilaç kullanıma bağlı gelişen diyabet tipleri olarak sınıflandırılır (Tablo 1). T1DM vakalarının %10-15'ini, T2DM yaklaşık %85'ini, diğer tipler (gestasyonel DM, ilaca bağlı DM, farklı endokrinopatiler ve genetik bozukluklar) kalan %1-5'ini oluşturur (26). Teşhis edilmemiş diyabet büyük bir küresel sorundur, çünkü şeker hastalarının %50.1'i durumlarının farkında değildir. Erken teşhis, uygun bakıma yol açabilir ve böylece DM ve komplikasyonları sakatlığı ve ölümü önlemek için yönetilebilir (26).

T1DM'de hastalar, pankreas beta hücrelerinin geri dönüşümsüz hasabiyeti nedeniyle insülin eksikliğine mazruz kalırlar ve bu nedenle insüline bağımlıdırlar. T1DM'de insülin üretiminin bozulması bu tipin temel özelliktir (28). Otoimmün yanıt, toksinler veya gıdalar gibi çevresel faktörler tarafından tetiklenebilir, bu da β hücresi ve T hücresi aracılı immün yanıtın anormal uyarılmasına neden olur (29). Bu, adacık hücresi otoantikorları (ICA), insülin otoantikorları (IAA), glutamik asit dekarboksilaz (GADA) otoantikorları ve tirozin fosfatazlara otoantikorlar (IA-2a ve IA-2b) dahil olmak üzere otoantikorların üretimini başlatır, β'ya karşı hücre antijenleri ve insülini tetikler, ardından pankreas insülin üreten beta hücrelerinin tahrip olması mutlak insülin eksikliği yaratır (28).

T2DM'li hastalarda β hücreleri insülin üretme yeteneklerini korumuştur, ancak insülin direnci nedeniyle periferik hücreler insüline yanıt verememektedir. Bu nedenle ana özellik, periferik dokularda insülin etkisinin bozulmasıdır (30). Yine de, T2DM

hastalarında düşük β hücre kitlesi görünmektedir. Bu da, kalan β hücrelerinin artan iş yüküne sahip olduğu ve β hücrelerinin sayısının daha da düşmesine yol açtığı ve bunun sonucunda da insülin salgısının kaybolduğu anlamına gelir. T2DM'ye kötü yaşam tarzı, obezite ve genetik faktörler gibi etmenler etkilidir. T2DM'de insülin salgılanmasının ve faaliyetinin azalan etkileri, artan ektopik yağ depolama seviyeleri, artan adipokin salgısı ve dolaşımda yükselmiş esterleşmemiş yağ asitleri ile ilgilidir (31). T2DM, yetişkinlerde daha yaygındır (32). Bununla birlikte, T2DM başlangıç yaşı düşmüş ve çocuklarda insidansı artmıştır (33).

**Tablo 1.** DM tanı kriterleri ve sınıflandırılması (26, 34)

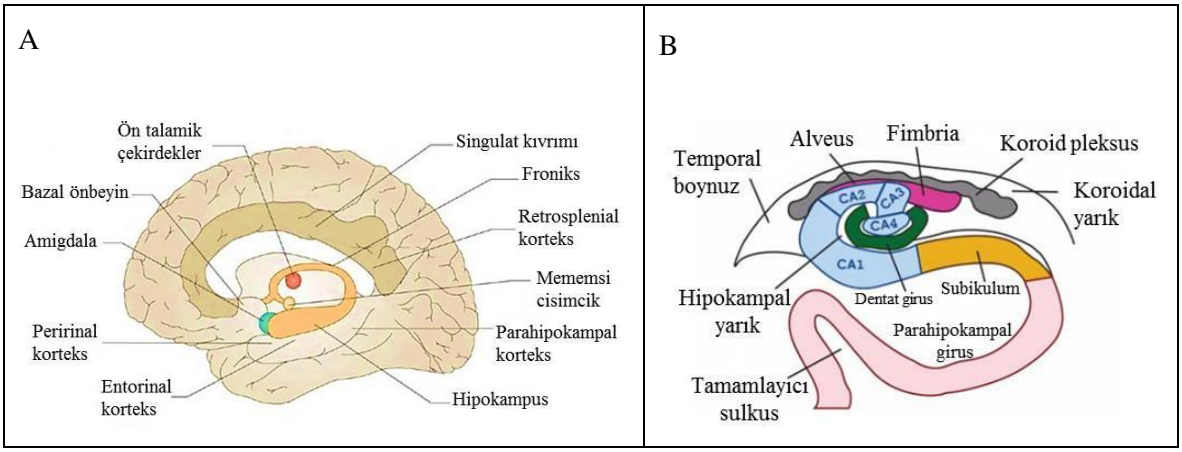
| | |
|---|---|
| DM tanı kriterleri | • HbA1c ≥ % 6.5 (≥48 mmol/mol)<br>• Random plazma glukozu ≥200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L)<br>• Açlık plazma glukozu ≥126 mg/dl (≥ 7.0 mmol/dL)<br>• OGTT'nde 2-saatlik venöz plazma glukozu ≥200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L) |
| T1DM | • Pankreas β-hücre yıkımı nedeni ile mutlak insülin eksikliği<br>• Genellikle bağışıklık mekanizmaları aracılık eder.<br>• LADA (latent autoimmune diabetes in adults: yetişkinlerde gizli otoimmün diyabet) |
| T2DM | • İnsülin sekresyonunun ve etkisinin giderek kötüleşmesi ile karakterizedir.<br>• İnsülin direnci ile kusurlu sekresyon.<br>• Sıklıkla metabolik sendrom denen diğer problemlerle ilişkilidir. |
| GDM | • Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde teşhis edilen ve gebelikten önce açıkça aşikar olmayan diyabet. |
| Diğer DM'ler | • Monojenik diyabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve gençlerde olgunluk başlangıçlı diyabet (MODY) gibi).<br>• Ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibroz ve pankreatit gibi).<br>• İlaç veya kimyasal kaynaklı diyabet (örneğin glukokortikoid kullanımı, HIV/AIDS tedavisinde veya organ nakli sonrası). |

## 2.2. Hipokampus

### 2.2.1. Anatomik Özellikleri

Hipotalamus, koronal beyin kesitlerinde C harfi şeklinde görülen bir fonksiyonel yapı olup, hipokampus morfolojik olarak deniz atına benzediği için (Yunanca: ιππος, hippos= at; καμπος, kampos= deniz) bu ismi almıştır (35). Anatomik olarak entorinal kortekse bitişiktir ve singulat girus, parahipokampal girus, amigdala, septal alan ve hipotalamus ile birlikte duyguları, davranışları ve hafızayı kontrol etmekten sorumlu olan limbik sistemi oluşturur (36). Limbik lobın arka kısmında yer almaktadır. Yetişkin insanlarda, 320-420 $cm^3$ hacmi olan neokorteks ile karşılaştırıldığında beynin her iki tarafındaki hipokampus hacmi yaklaşık 3-3.5 $cm^3$'tür (37). Serebral kortekse göre neredeyse 100 kat daha küçük hacme sahiptir.

Hipokampus, bir piramit şeklinde iki hücre katmanından oluşur. Dış katman büyük piramidal hücrelerden oluşurken, iç katman orta büyüklükte piramidal hücrelerden oluşur. Hipokampus, temelde dört bölgeden oluşan daha büyük bir yapının yani hipokampal oluşumun bir parçasıdır. Bunlar: (I) Dentat Girus (DG); (II) tam Hipokampus veya Cornu Ammonis (CA) alt alanları (CA1, CA2, CA3 ve CA4); (III) Subikül Kompleks (Subiculum, Presubiculum ve Parasubiculum); ve (IV) Entorinal Korteks'ten (EC) ibarettir (38). DG'nin küçük granül hücrelerinden farklı olarak, CA3, CA2 ve CA1'in piramidal nöronları büyüktür ve Stratum Pramidale'yi oluşturan bu bölgenin ana hücrelerini temsil eder (36, 39).




**Şekil 1.** Hipokampus anatomisi (A: Bird'dan, 40; B: Alahmari'den, 41)

### 2.2.2. Fonksiyonları

Talamus ve medial temporal lob arasında yer alan hipokampus, diğer beyin bölgeleriyle olan yoğun bağlantıları nedeniyle mekansal yön bulma, öğrenme ve hafızada önemli roller oynar. Uzun süreli hafızanın kaydından, transformasyonundan ve yönlendirilmesinden sorumludur (42). Öğrenme ve hafıza döngüsü için iki önemli yol vardır: polisinaptik ve doğrudan yol. Polisinaptik yolda, hipokampus entorinal korteks yoluyla parietal, temporal ve oksipital bölgelerden afferent bağlantılar alır ve daha sonra girus → CA3 → CA1 → subiculum → alveus → fimbria → fornix → mamiltalamik yol → anterior talamus → posterior cingulated → retrosplenial korteks ile son bulur. Direkt intra-hipokampal yolda, temporal birleşme korteksinden CA1'e giriş perirhinal ve entorhinal alanları arasından gerçekleşir. Oradan, çıkıntılar subiculum ve entorhinal cortex yoluyla inferior temporal kortekse, temporal kutba ve prefrontal kortekse doğru hareket eder.

Hipokampus, ruh halini de etkiler. Duygusal davranışı düzenlemede karşılıklı etkileri kolaylaştıran amigdala ile eşlenik bağlara sahiptir. Duygusal davranış üzerindeki bu etkiye, amigdala hipokampustan daha fazla hakimdir (43). Ayrıca, hipokampus, ventral striatum halkasının önemli bir parçası olduğu için motor fonksiyonlarda da rol oynar (44).

Hipokampusun bu fonksiyonlarına ilaveten navigasyonda, duygusal davranış ve hipotalamik fonksiyonların düzenlenmesi de önemli bulunmaktadır (45). Ayrıca parahipokampal ve entorhinal korteksler anlamsal bellekte de rol oynamaktadırlar. Hayvan çalışmaları, hipokampusun yeme davranışında da rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (46).

## 2.3. BDNF

BDNF, sinir büyüme faktörü, nörotrofin 3 ve nörotrofin 4-5'in de içinde yer aldığı nörotrofin ailesinin bir üyesidir. Beyinde nöronlar, BDNF'nin önemli bir hücresel kaynağı olarak kabul edilir ve sentezi, hipokampus ve frontal, parietal ve entorhinal gibi duygusal ve bilişsel işlevlere katılan bölgelerde gerçekleşir. İnsanlarda yapılan gen ekspresyon çalışmaları, merkezi BDNF'nin korteks, hipokampus, amigdala, bazal ön beyin, dorsal vagal kompleks, arka ve orta beyin gibi bölgelerde en yüksek olduğunu ortaya koymuştur (47, 48).

BDNF'nin en önemli işlevleri arasında gelişimsel süreçler, nöro-, gliyo- ve sinaptogenezin düzenlenmesi, nöroproteksiyon ve hafıza ve biliş mekanizmalarını etkileyen kısa ve uzun süreli sinaptik etkileşimlerin kontrolü yer alır (49).

BDNF proteini, pre-pro-BDNF olan bir öncü form olarak endoplazmik retikulumda sentezlenir ve katlanır. Pro-BDNF yaklaşık 29 kDa'dır ve bölündüğünde yaklaşık 14 kDa ağırlığındaki olgun BDNF'yi (mature (M)-BDNF) meydana getirir (50). Pro-BDNF'nin hücre dışı bölünmesi, plazmin ve matris metaloproteazlar 2 ve 9'a (MMP2 ve MMP9) bağlıdır. M-BDNF ve pro-BDNF'nin hücre dışı boşluğa salgılanması, fizyolojik etkilerinin sergilemesini sağlar (50, 51). Pro-BDNF'nin M-BDNF'ye oranı, beyin gelişiminin belirli aşamaları ve bölgeler arasında değişir. Erken postnatal dönemde daha yüksek pro-BDNF konsantrasyonu bildirilirken, M-BDNF yetişkinlerde hakimdir (52).

BDNF ekspresyonu hem endojen hem de eksojen faktörlerle düzenlenir. Yaş ve doku türünden etkilenmektedir. Dokuz farklı düzenleyici gen, 24 farklı BDNF transkriptinin dokuya özgü ekspresyonunu indüklediği ve beyin bölgelerinde ekspresyonun çok düzeyli düzenlenmesinde rol almaktadır (53). BDNF ekspresyonu gama-amino bütirik asit (GABA) tarafından düşürülür. Bunun tersine, glutamat, asetilkolin ve serotonin gibi nörotransmiterler tarafından ise arttırıldığı gösterilmiştir (54). Yetişkin beyninde, BDNF yüksek ekspresyon seviyelerini korur ve hem uyarıcı hem de inhibe edici sinaptik iletimi ve aktiviteye bağlı plastisiteyi düzenler (12).

BDNF çeşitli omurgalıların ve insanların genleri arasında %85.9-100 özdeşliğe sahiptir. BDNF'nin sentezi hem merkezi hem de periferal sinir sisteminde fizyolojik koşullar altında hedef nöronlar tarafından yaralanma, iltihaplanma veya antidepresanların uygulanmasını takiben astrositler tarafından meydana gelir (55, 56).

BDNF mRNA'ları, kas, timus, kalp, karaciğer, vasküler düz kas hücreleri, akciğer ve dalak dahil olmak üzere birçok nöronal olmayan dokuda ifade edilir. BDNF ayrıca monositler, lenfositler ve eozinofillerde de üretilir. Bu hücreler otokrin sistem yoluyla BDNF üretir ve onu alerjik reaksiyonu uyandırmak ve uzatmak için kullanır (57). Trombositler, periferik BDNF'nin ana kaynağıdır ve diğer dokulardan salgılanan BDNF'nin depolanması için önemlidir (57). Ortalama serum BDNF seviyesi, plazmadan yaklaşık 200 kat daha yüksektir; bu, dolaşımdaki trombositlerde depolanan ve pıhtılaşma sırasında salınan BDNF miktarını yansıtan bir farktır. BDNF'nin kan-beyin bariyerini geçebileceğine dair kanıtlar olduğu düşünüldüğünde, çalışmalar serum BDNF'nin

beyindeki BDNF seviyelerinin bir temsilcisi olduğunu varsaymaktadır. Tutarlı bir şekilde, merkezi sinir sistemindeki (beyin BDNF, b-BDNF) BDNF ölçümleri, beyin kaynaklı BDNF'nin %75'i ile periferden alınan BDNF ölçümleri (serum BDNF, sBDNF) ile ilişkilidir (58, 59). Sağlıklı kişilerde, ortalama plazma BDNF düzeyi ~92.5 pg/mL (8-927 pg/mL) olarak bulunmuştur. BDNF'nin insanlarda sirkadiyen bir ritim izlediği öne sürülmüştür ve sabah saatlerinde en yüksek değerlere ulaşılmaktadır (60). Kadınlarda daha yüksek olup, her iki cinsiyette de ilerleyen yaşla azalmaktadır (61).

BDNF salgılandıktan sonra iki reseptörden birine bağlanabilir. İki BDNF izoformu, nörotrofin ailesinin tüm üyeleri için olduğu gibi, tercihen farklı reseptörlere bağlanır.

1. Tümör nekroz faktör reseptör ailesinin 75 kDa'luk bir glikoprotein üyesi olan ''düşük afiniteli'' reseptörün, tüm nörotrofinler için ortak bir hedeftir ve bu nedenle 75 kDa neurotrophin receptor ($p75^{NTR}$) olarak isimlendirilmiştir.
2. Yüksek afiniteli reseptörün, tirozin protein kinaz (Trk) ailesinin bir parçası olduğu gösterilmiştir. Bu aile TrkA, TrkB ve TrkC reseptörlerini içerir. Olgun BDNF etkisini TrkB reseptörü üzerinden göstermektedir (62).

Olgun BDNF tercihen TrkB'yi bağlayarak büyüme öncesi sinyalleme ile sonuçlanırken, Pro-BDNF tercihli olarak $p75^{NTR}$'ye bağlanarak anti-büyüme sinyali ile sonuçlanır (50). Dinlenme formunda, her iki tip reseptör de hücre içi veziküllerin zarında bulunur. $Ca^{2+}$, siklik adenozin monofosfat (cAMP) veya elektriksel uyarımlı hücresel membrana transferi ve kaynaşmayı başlatır (63, 64). Fosfolipaz C (PLC)-γ-bağımlı yol, $Ca^{2+}$-kalmodüline bağımlı protein kinaz (CAM kinaz) ve protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonuna yol açar, bu daha sonra 1,2-diasilgliserol (DAG) ve $Ca^{2+}$ iyonu konsantrasyonlarını arttırır (49). PKC-bağlı yolak sinaptik plastisiteyi arttırır (65). Rho ailesini temsil eden BDNF/TrkB kompleksi tarafından başlatılan GTPaz aktivasyonu, nöronal liflerin büyümesiyle sonuçlanan aktin ve mikrotübül sentezini uyarır (66). Fosfatidil inositol 3 kinaz (PI3K)/Akt ile ilişkili yolak, antiapoptotik ve sağkalım etkinliği gösterir. Ayrıca, N-metil-D-aspartat reseptörüne (NMDAR) bağımlı sinaptik plastisiteyi de düzenler (66, 67). PI3K/Akt/mTOR kaskadı, protein sentezi ve hücre iskeleti gelişiminin düzenlenmesi yoluyla, dendritik büyümeyi ve dallanmayı artırır (68, 69). Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK)/Ras sinyalizasyon kaskadı, nöronal farklılaşma esnasında protein sentezini düzenler (65). MAPK ile ilişkili sinyalleşme ayrıca hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2 (ERK 1/2) ve cAMP yanıt elemanı-bağlayıcı proteinin (CREB)

aktivasyonu için elzemdir (49). Bu yol, yalnızca erken yanıt gen ekspresyonu (örneğin, c-Fos ve ARC) için değil, aynı zamanda hücre iskeleti protein sentezi (örneğin, Arc ve cypin) (66) ve ayrıca hipokampal nöronlarda dendritik büyüme ve dallanma için de kritiktir (70).

Aslında, hipokampustaki yüksek BDNF seviyeleri, yetişkinlerde dentat girus progenitör hücrelerinin hem hayatta kalması hem de farklılaşması ile ilgilidir ve düşük BDNF seviyeleri, yaşlı hayvanlarda yetersiz nörogenez ile ilişkilendirilmiştir. BDNF üretimi, Alzheimer'lı kişilerin hem hipokampuslarında hem de entorhinal kortekste azalabilir. BDNF sinir ağını düzenlediğinden ve hipokampal nöronları oksidatif, metabolik ve eksitotoksik strese karşı koruduğundan, arızası veya azalan üretimi zararlı sonuçlar doğuracaktır. Yaşlanma sırasında antioksidan savunmanın bir parçası olarak BDNF'nin oksidatif stresle arttığı bilinmektedir (12). Hem stres hem de yaşlanmanın sürekli olarak BDNF düzeylerini düşürdüğü ve böylece beynin hasara karşı savunmasızlığını artırdığı gösterilmiştir (45).

### 2.4. İnsülin, Diyabet ve Hipokampus

İnsülin, sırasıyla 21 ve 30 amino asitlik A ve B zincirleri ve toplamda 51 amino asitten oluşan 5.8 kDa'lık bir peptid hormondur. Pankreasta, langerhans adacıkları β hücrelerinde sentezlenir. Başlangıçta preproinsülin olarak sentezlenir ve daha sonra sinyal dizisi uzaklaştırılarak proinsülin şeklinde golgiye gelir. Burada C-peptid ayrılarak A ve B peptidlerinden ibaret olan insülin oluşur ve bu da uyarı ile birlikte granüllerden salınır (71).

İnsülin, vücutta metabolik etkiler ortaya çıkaran anabolik bir hormondur. β hücreleri, plazma içinde dolaşan glukoz, amino asit, keto asit ve yağ asit düzeylerine göre insülin üretimini düzenler. Ancak, insülin sentezi ve dolaşıma salınması esas olarak glukoz tarafından düzenlenir. Glukoz, beta hücrelerine, kan glukozu konsantrasyonundaki küçük değişikliklere bile yanıt veren, böylece fizyolojik koşullar sırasında insülin salınımını sıkı bir şekilde düzenleyen GLUT-2 aracılığıyla girer. Glukoz, hücreye girdikten sonra glikoliz yoluyla metabolize edilir ve ATP, hücre içi potasyum seviyelerini artıran ve hücreyi depolarize eden ATP'ye duyarlı potasyum kanallarına etki eden ATP'yi oluşturur (72, 73). Bu, voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının kalsiyum akımının artırmasına neden olur ve sonunda insülin içeren granüllerin ekzositozunu indükleyerek insülini dolaşıma salar. İnsülin salgılanmasında serbest yağ asitleri, glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve diğer faktörler de etkilidir. GLP-1, insülin salgılanmasını artırır (74).

İnsülinin esas rolü, beslenme ve açlık durumlarında enerji tasarrufu ve kullanımını kontrol etmektir (75, 76). Glukoz metabolizmasının homeostazı, 2 sinyal kaskadıyla gerçekleştirilir: insülin aracılı glukoz alımı (IMGU) ve glukozla uyarılan insülin sekresyonu (GSIS). IMGU kaskadı, insülinin iskelet kası ve yağ dokusundan glukoz alımını artırmasına izin verir ve hepatik hücreler tarafından glukoz oluşumunu baskılar. İnsülin kademesinin aşağı akış sinyalinin aktivasyonu, insülin hücre dışı olarak reseptörünün alfa alt birimi ile etkileşime girdiğinde başlar. Bu etkileşim, insülin reseptör kompleksinde konformasyonel değişikliklere yol açar ve sonunda insülin reseptörü substratlarının tirozin kinaz fosforilasyonuna ve ardından fosfatidilinozitol-3-kinazın aktivasyonuna yol açar (77). Bu aşağı akış olayları, GLUT-4 taşıyıcısının intraselülerden ekstraselülere iskelet kası hücresinin plazma membranına istenen translokasyonuna neden olur. Hücre içi olarak GLUT-4, keseciklerde bulunur. Bu GLUT-4 veziküllerinin ekzositoz edilme hızı, insülinin hareketleri veya çalışması nedeniyle artar. Bu nedenle, plazma zarı üzerindeki GLUT-4'ün varlığını artırarak insülin, glikojene metabolizma için iskelet kası hücrelerine glukoz girişine izin verir (77).

İnsülin, etkilerini membran boyunca uzanan bir tetramerik tirozin kinaz reseptörü üzerinden gösterir. İnsülin reseptöre bağlandıktan sonra, reseptör tirozin kinaz aktivitesini başlatabilmek için otofosforile işlemine tabi tutulur (78). Bu, IRS-1'in fosforilasyonu, fosfatidilinositol-3 kinazı ve sonunda protein kinaz Akt'yi aktive ederek insülinin hücre içi etkilerine aracılık eden hücre içi sinyal yolunu başlatır. Hücre içi insülin sinyali karmaşıktır ve birçok farklı olayla sonuçlanan birçok farklı yolu içerir. Karaciğerde insülin, glikojenoliz ve glukoneogenezi inhibe ederek glukozun hepatositlerden GLUT-2 yoluyla dolaşıma geçişini inhibe etmiş olur (79). İskelet kasında insülin (ve fiziksel aktivite), glukozun miyositlere alımını kolaylaştıran GLUT-4'ün hücre zarına translokasyonunu indükler. İskelet kası, insülinle uyarılan glukoz alımının başlıca hedef organı olmasına rağmen, GLUT-4 aynı zamanda insülinle uyarılan glukozun adipositlere alımından da sorumludur. Hormon duyarlı lipazı (HSL) inhibe ederek, insülin, yağ hücrelerinde lipitlerin depolanmasını teşvik eder (77, 80).

Normal glukoz metabolizmasından T2DM'ye ilerleme, başlangıçta insülin direncini telafi etmek için pankreas beta hücrelerinden endojen insülin salımındaki artış ile paralel olarak farklı organlarda insülin duyarlılığında ilerleyici bir bozulma içerir. Ancak uzun süre devam eden insülin direnciyle β hücreleri bu telafide kademeli olarak başarısız olur ve

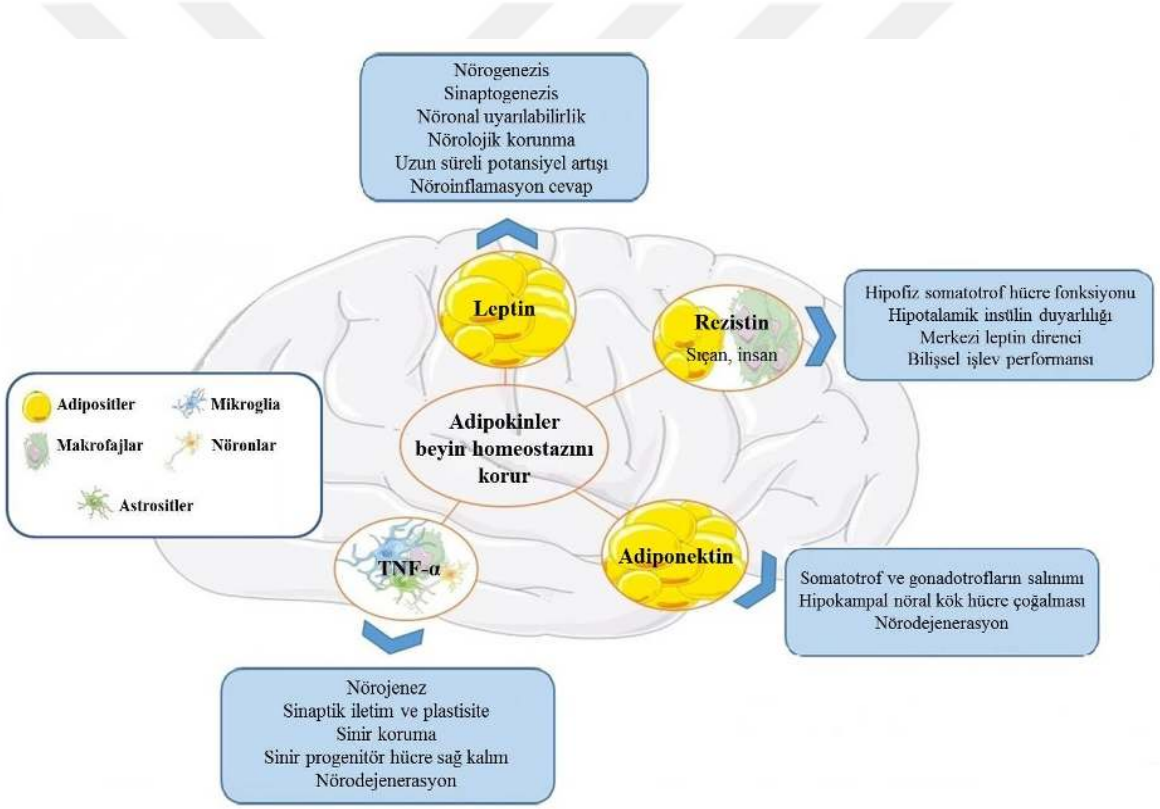
nispi insülin eksikliği gelişir, bu da bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı ve sonunda T2DM ile sonuçlanır (81).

İnsülin direncinin gelişmesinde rol oynayan ve bu direncin sonuçlarından etkilenen merkezi organlar arasında pankreas, karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusu bulunur (82). Lipotoksisite gelişir. İnsülin direnci ve T2DM'nin klinik sonuçları, diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarını içerir. T2DM, kardiyovasküler hastalık için yaklaşık iki kat artmış risk ile ilişkilidir. Hiperinsülinemi bile artmış kardiyovasküler hastalık riskiyle ilişkilendirilmiştir ve orta derecede yüksek kan şekeri seviyelerinde bile kardiyovasküler hastalık için hafif bir artmış risk gözlenmiştir (83, 84).

Uzun yıllar boyunca, insülinin, büyük bir peptit olması ve dolayısıyla kan beyin bariyerini (KBB) pasif olarak geçememesi nedeniyle merkezi sinir sistemde (MSS) hiçbir rol oynamadığına inanılıyordu. 1970'lerde yapılan çalışmalar, insülinin çok sayıda canlının beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunduğunu göstermiştir (85). MSS'ye koroid pleksus ve BOS yoluyla girmek yerine, insülin, beyin kapiler endotel hücrelerinde insülin reseptörü vasıtasıyla, doyurulabilir bir yol aracılığıyla beyne taşınır. Bu nedenle, insülinin merkezi sinir sistemi yoluyla normal taşınması, üç bölmeli bir modeli takip eder (plazmadan beyine, interstisyel sıvıdan BOS'a) (86-88). Başta hipokampus olmak üzere hipotalamusun farklı bölgeleri, koku soğanları, serebral korteks, serebellum, koroid pleksus ve beyin sapının alt bölgelerinde yüksek seviyelerde insülin reseptörü bulunur (85). İnsülin reseptörlerinin beyindeki yaygın dağılımı, insülinin çeşitli merkezi etkilere sahip olduğunun kanıtıdır. Aslında, MSS içindeki insülin etkileri arasında enerji homeostazı, sistemik glukoz üretimi, üreme gelişimi, bilişsel işlev ve sempatik sinir sistemi aktivitesindeki roller bulunur (89, 90).

## 2.5. Adipositokinler

Adipositokinler (adipoz doku sitokinleri) terimi, yalnızca adipoz dokusu tarafından düzenlenmiş bir şekilde olmasa da önemli ölçüde eksprese edilen polipeptit faktörlerini içerir (91). Adipoz doku, sitokinlerin yanı sıra proinflamatuvar makrofajların infiltrasyonu nedeniyle obezite ve T2DM'de önemli bir inflamatuvar kaynaktır (92). Adipositokinler endokrin, parakrin ve otokrin sinyal yolağı ile yağ hücreleri metabolizma ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar. Son zamanda yapılan çalışmalarda, adipokinlerin DM başta olmak üzere hipertansiyon, ateroskleroz ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların patogenezinde önemli roller oynadıkları bildirilmiştir (93).




**Şekil 2.** Adipositokinlerin beyin fonksiyonları üzerindeki etkileri (Parimisetty'den, 94)

### 2.5.1. Tümör Nekroz Faktörü-α

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), hücre proliferasyonu, farklılaşması, sağkalım ve ölümle ilgili birçok yolu düzenleyen TNF süper ailesi adı verilen büyük bir sitokin ailesine aittir. Bu süper ailede, kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli olan nükleer faktör kappa B'nin reseptör aktivatörü (RANK) ve ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin

(OPG) dahil olmak üzere başka önemli ligandlar ve reseptörler yer almaktadır (95-97). TNF-α geni, insan kromozomu 6, faregillerde ise kromozom 17 üzerinde tek bir kopya gen olarak bulunur. Gen, dört ekson ve üç introndan oluşur. İlginç bir şekilde, olgun TNF-α sekansının %80'den fazlası dördüncü eksonda kodlanmıştır (98, 99).

TNF-α, vücuttaki birçok farklı hücre tipi tarafından üretilen pleiotropik bir sitokindir. Esas olarak, makrofajlar, astroglia, mikroglia, langerhans hücreleri, kupffer hücreleri ve alveolar makrofajlar gibi monositik kökenli hücreler, TNF-α'nın birincil sentezleyicileridir. Bununla birlikte, B ve T hücre lenfositleri, dendritik hücreler, granülositler, fibroblastlar, epitel hücreleri tarafından da üretilebilir (100).

İnsan TNF-α, 27-kDa (233 amino asit) boyutunda eksprese edilir ve daha sonra proteolitik işlemle bir 17-kDa'luk (157 amino asit) moleküle dönüşür. 27-kDa proteinindeki 76 amino asit ön dizisi yüksek oranda korunmuştur ve öncü proteinin zara tutunmasına yardımcı olur. Bu membrana entegre olan 27-kDa'luk TNF-α (mTNF-α), bir metaloproteaz TNF-α dönüştürücü enzim (TACE) tarafından proteolitik bölünmeye maruz kalır ve 17 kDa çözünür TNF-α (sTNF-α) ile sonuçlanır. mTNF-α ve sTNF-α'nın sırasıyla otokrin/parakrin ve endokrin seviyelerinde biyolojik cevaplar düzenlediğine inanılmaktadır (100).

TNF-α, normal bağışıklık sisteminde temel rollere sahiptir. IL-1 ve IL-6 gibi ana proinflamatuvar sitokinlerden biridir (101). IL-1 ile birlikte, dolaşımdaki lökositlerin kılcal damar venülleri kaplayan endotel hücrelere yapışması için gerekli olan E-selektin ekspresyonunu indükler (102). Ayrıca, yüksek dolaşım düzeylerinde damar içi tromboza neden olur (103). TNF-α hipotalamik merkezlere etki eder (104). Buna ilaveten, nötrofiller için aktive edici bir sitokin görevi görür ve TNF-antagonistlerinin uygulanması, mycobacterium tuberculosis ile daha yüksek bir enfeksiyon riski ile ilişkilidir (105).

Hücrelerdeki TNF-α için iki tür reseptör vardır: p55 veya p60 olarak da bilinen TNF reseptörü 1 (TNFR1) ve p75 veya p80 olarak da bilinen TNF reseptörü 2 (TNFR2). Her birinin karakteristik bir hücre dışı domaini, bir transmembran alan ve hücre içi domaini vardır. Her iki reseptörün hücre dışı alanları, iki ila altı kez tekrarlanan benzer bir sisteince zengin motife sahiptir, homodimerler olarak aktiftir, ancak ilginç bir şekilde TNFR1/TNFR2 heterodimerleri oluşturmazlar (106, 107). Bununla birlikte, TNFR1 ve TNFR2'nin hücre içi segmentleri, homolog sekanslar taşımaz ve farklı sinyal yollarını etkinleştirir (108). TNFR1, vücuttaki hemen hemen tüm hücrelerde her yerde eksprese

edilir ve hem mTNF-α hem de sTNF-α tarafından aktive edilebilir. Bunun tersine TNFR2, timik T lenfositleri, endotelyal hücreler, mikroglia ve oligodendrositler ile sınırlıdır ve sadece mTNF-α tarafından tamamen başlatılabilir (109). Bu, zayıf sinyallemeyi indükleyen ve TNFR2 için düşük afinite sergileyen sTNF-α için geçerli değildir (110). TNFR1'e bağlanan TNF-α'nın iki farklı karmaşık sinyal yolunu aktive ettiği kabul edilmektedir: Hücre hayatta kalmasının sürdürülmesi ve inflamatuvar sitokin ekspresyonunun teşvik edilmesi; hücre apoptozu ve nekrozu (111). TNF-α, TNFR1'e bağlandığında, hücre içi alanlar, TNFR tip 1 ile ilişkili ölüm alanı proteini (TRADD) ile etkileşime girer. TRADD, Sinyal kompleks I'i oluşturmak için protein-1 ile etkileşime giren reseptörü (RIP-1) ve TNF reseptörü ile ilişkili faktör-2'yi (TRAF-2) aktif hale getirir (112). Sinyal kompleksi I, hücre sağkalımı, inflamatuvar sitokinlerin üretimi ve antiapoptotik gen yolakları dahil olmak üzere birçok farklı genin transkripsiyonunu başlatan nükleer faktör kappa B'yi (NF-κB) tetikleyebilir. Sinyal kompleksi I ayrıca, iltihaplanma ve proliferasyonun önemli destekleyicisi olan aktivatör protein-1 (AP-1) için önem sağlayan hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazları, stresle aktive olan MAP kinazları p38 ve c-Jun N-terminal kinazı (JNK) aktive edebilir (113-115).

TNF-α, üç ana sinyal yolu aracılığıyla hücreler üzerinde etkilidir: MAPK, NF-κB ve apoptoz sinyal yolakları (116). Bu geniş sinyal yolakları yoluyla TNF-α, neoplastik hücrelerin artırılmasına veya tahribatına neden olabilir. Diğer taraftan, TNF-α'nın terapötik dozlarda antineoplastik bir ajan olduğuna inanılır. Neoplastik hücreler tarafından yapılan fizyolojik dozlarda, tümörü arttırıcı bir sitokin olarak bile hareket edebilir (117). Ek olarak, hücresel transformasyon, proliferasyon, anjiyogenez, göç ve saldırı dahil olmak üzere çeşitli yollarla neoplazmaların gelişimine katkıda bulunabilir. Diğer yandan, terapötik dozajda apoptoz, nekroz ve tümör vaskülatürünün bozulmasına neden olabilir (118).

### 2.5.2. Leptin

Leptin adipoz doku tarafından üretilen enerji metabolizmasında, vücut ağırlığı ve gıda alımında rol alan önemli bir adipokin olup Leptin ismi Yunancada Leptos=zayıf kelimesinden köken almaktadır. Ob/Lep geninde sentezlendir ve esas olarak beyaz yağ dokusu tarafından salgılanır. Kromozom 7 üzerinde bulunan *leptin* geni, 167 amino asitten oluşan ve daha sonra 146 amino aside dönüşen bir polipeptit zincirini kodlar. Yaklaşık 16 kDa moleküler ağırlığındadır. Leptinin amino asit dizisi, fare ve insanlar arasında %84'lük bir benzerlik göstermektedir (119).

Leptin, büyüme hormonu, prolaktin ve interlökinlerle ilişkili uzun-zincirli tip I sarmal sitokinlerin ailesine aittir. Her biri 5-6 dönüş uzunluğunda dört antiparalel heliks içerir ve sitokinlerin yukarı-yukarı-aşağı-aşağı karakteristik düzenini gösterir (120). İnterlökin 6 (IL-6) gibi pro-inflamatuvar sitokinlerle yapısal ve fonksiyonel benzerlikler nedeniyle, leptin ayrıca bir sitokin veya adipositokin/adipokin olarak adlandırılır (121).

Yağ dokusu leptin üretimi için ana kaynak olmasına rağmen, iskelet kası, karaciğer, plasenta ve yumurtalıklar gibi periferik dokular tarafından da üretildiği bilinmektedir (122, 123). Leptin ayrıca beyinde üretilir ve merkezi sinir sisteminde çeşitli süreçlerde rol oynar. Beynin kendisinde Lep sentezine işaret eden nöronal hücrelerde olduğu gibi Lep mRNA ve proteinin ekspresyonu, kemirgen ve insan beyninde gösterilmiştir (124). Leptinin sentezi ve dolaşımdaki seviyesi sirkadiyen bir ritme sahiptir ve ayrıca beslenme durumuna göre de değişiklik göstermektedir. Öğleden sonra en düşük seviyede görünen leptin, akşam saatlerinde yükselerek gece yarısı zirve yapar, sabah saatlerinde ise en düşük seviyelerine iner (125).

Vücudun yeterli enerji depoları olduğunda iştahı engelleyerek bir ‘‘adipostat’’ olarak işlev görür (126). Leptin seviyeleri açlık süresinde obez ve normal kilolu insan ve sıçanlarda azalır (yaklaşık %60-70 oranında) (127, 128), bu da iştahta artışa neden olur (129), halbuki beslenme ve obezitede artar (127). Açlık sırasında leptin seviyelerinin azalması hızla gerçekleşir ve yağ dokusu miktarı ile ilişkili sekresyondan önde gelir (128).

Ob-Rb izoformları, hipotalamusun beslenme merkezlerinde yoğun bir şekilde eksprese edilir, bu da metabolik hızı ve beslenme davranışını düzenlemedeki rolünü gösterir (130). Leptin, diğer düzenleyici moleküller ile birlikte, hipotalamusta anoreksijenik faktörleri (kokain-amfetamin ile regüle edilen transkript (CART) ve proopiomelanokortin (POMC)) indükleyerek ve oreksijenik nöropeptitleri (nöropeptid Y (NPY)), agouti ilgili peptid (AGRP) ve oreksin’i baskılayarak iştah ve vücut ağırlığı homeostazında merkezi bir role sahiptir (131). Leptin, hipotalamusta yüksek oranda, beyinin diğer alanlarında ise daha az oranda eksprese edilen leptin reseptörleri (Ob-R veya LepR) ile etkileşerek etkisini gösterir. Leptin, periferde salgılanır ve reseptör aracılı endositoz ile KBB yoluyla MSS’ye ulaşır (132). Leptin reseptörüne bağladığında bir dimerizasyon meydana gelir ve reseptörün uzun formu, kendisini ve reseptörün hücre içi domaininde yer alan üç tirozin bölgeyi (Y985, Y1077 ve Y1138) fosforile eden kinaz JAK2’yi aktive eder (133). JAK2’nin otofosforilasyonu, adaptör proteini Src homolojisi

2B1'in (SH2B1) bağlanmasına izin verir. Bağlanma, JAK2 aktivasyonunu arttırır ve insülin reseptörü substrat 1 ve 2'nin (IRS1, IRS2) komplekse katılmasına yardımcı olur. Bunu IRS1/2'nin JAK2 aracılı tirozin fosforilasyonu takip eder ve böylece PI3K yolunu aktif hale getirmiş olur (134).

Beynin hipotalamik bölgesinde bulunan reseptörü aracılığıyla çeşitli nöroendokrin ve otonomik mekanizmalarla beslenmeyi baskıladığı, lipit ve glukoz metabolizmasını ve inflamasyonu düzenlediği bilinmektedir (135, 136). İnsanlarda leptin reseptöründeki mutasyonların da morbid obeziteye yol açtığı bulunmuştur. Hem leptin hem de leptin reseptör eksikliği, yaşamın ilk birkaç ayında hızlı kilo alımına ve hiperfajiye yol açar (121).

Leptin normal beyin gelişimi için oldukça öneme sahiptir. Doğuştan leptin eksikliği (ob/ob) ya da fonksiyonel leptin reseptörü (db/db) eksikliğinden kaynaklanan leptini eksik farelerin hem beyin ağırlığı hem de kortikal hacmi azalır ki bu da erken leptin uygulamasıyla düzeltilebilir (137). Yaşamın erken dönemlerinde leptin uygulaması normal gelişim için kritik öneme sahiptir, çünkü yaşamın ilerleyen dönemlerinde doğuştan hipoleptinemili farelerde leptin tedavisi, gelişim sırasında leptin eksikliğinin neden olduğu nöroanatomik eksiklikleri telafi edemez (138). Benzer şekilde, doğuştan leptin eksikliği olan üç yetişkin insanda, leptin tedavisinin beyincik, alt parietal ve ön singulat kortekslerinde gri madde hacmini arttırdığı gösterilmiştir (139). Ayrıca, aynı hastalarda, leptin tedavisi kesildiğinde aynı alanlarda gri madde hacminde küçük düşüşler tespit edilmiştir (140).

Leptin ayrıca sinir sisteminin moleküler düzeyde organizasyonu ve olgunlaşmasında rol oynamaktadır. Örneğin, leptin nöroblastom proliferasyonunu uyarır ve beyin gelişimi için kritik olan kaspaz-10 ve TNF-ilişkili apoptozu indükleyen ligand gibi apoptotik enzimleri düzenleyerek apoptotik ölümü önler (141). Buna ilaveten leptin, gelişim sırasında beyindeki glial hücrelerin farklılaşmasını teşvik etmektedir. Leptinden yoksun farelerde yaşamın sonraki safhaları fonksiyonel glial hücre eksikliği ile sonuçlanmaktadır (142). Ek olarak, leptin eksikliği olan ob/ob farelerinde, miyelin oluşumu hem az hem de daha ince olması nedeniyle bozulur. Ayrıca miyelinizasyon, doğum sonrası leptin uygulamasıyla sadece kısmen iyileşir ve doğal tip seviyelerine tamamen geri yüklenmez. Gerçekten de leptin normal beyin büyümesi, gelişimi ve olgunlaşması için kritiktir (143).

Leptin her ne kadar hipotalamus ve beslenme davranışı bağlamında büyük ölçüde incelenmiş olsa da, leptin reseptörleri korteks boyunca yerleşmiştir ve yeni çalışmalar leptinin biliş üzerinde etkileri olduğunu bulmuştur. Hipokampusta çok sayıda leptin reseptörü vardır (144). Leptin, hipokampal nöronların sinaptik plastisitesinin yanı sıra bu nöronlarda öğrenme ve hafıza için kritik olan uzun süreli potansiyel artışı (LTP) ve uzun süreli depresyon'da (LTD) rol oynadığı görülmektedir. Ayrıca leptinin, NMDA reseptörünün neden olduğu kalsiyum akışı yoluyla uzun süreli potansiyel artışına aracılık ettiği bulunmuştur (145). Obez ve leptine dirençli kemirgenlerde daha az LTP ve bozulmuş uzaysal hafıza saptanmıştır (146, 147). İnsanlarda, bu, genellikle leptin direncine sahip olan tip 2 diyabetli yetişkinlerde demans ve hafıza bozuklukları bulgularıyla yansıtılabilir (148). Benzer şekilde, diyabetik farelerin uzaysal hafıza fonksiyonlarında ve LTP'de eksiklik görülür ki bu da leptin bozukluğu ile ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (149).

### 2.5.3. Adiponektin

Acrp30, AdipoQ, GBP-28, ve apM1gibi diğer isimleri ile de bilinen adiponektin esas olarak yağ dokusundan salınan 244 amino asitlik, 30 kDa'luk multimerik bir proteindir (150). İnsanların aksine farelerde bu protein 247 amino asitten oluşur (151). İnsan adiponektini, 3q27 kromozom lokusu üzerinde 17 kb'yi kapsayan Adipo Q geni tarafından kodlanır. Bu kromozom, T2DM ve metabolik sendrom için duyarlılık geni taşıyan bir bölge olarak tanımlanmıştır (152, 153). Farklı araştırma gruplarınca adiponektinin, insan ve farelerin osteoblastları, karaciğer parankim hücreleri, miyositler, epitel hücreleri ve plasental doku dahil olmak üzere diğer dokularda da eksprese edildiği kanıtlamıştır (154). Tam uzunlukta insan adiponektini, bir amino uç hiper-değişken bölgesi (1-18 arası amino asitler) ve ardından 22 Gly-XY tekrarından oluşan bir kollajenik alan ve bir karboksil uç C1q benzeri küresel domain'den (108-244 amino asitleri) oluşmaktadır. Adiponektin, adipositlerden kan dolaşımına trimer (67 kDa), heksamer (140 kDa) ve en az 18 monomer içeren yüksek moleküler ağırlıklı (HMW, 300 kDa) bir multimer olmak üzere üç oligomerik kompleks şeklinde salgılanır. Monomerik form doğal koşullarda tespit edilemez. Düşük moleküler ağırlıklı (LMW) olarak da bilinen homotrimer, oligomerik adiponektinin temel yapı taşıdır (154). Başlıca biyoaktif izoform olan HMW oligomerik adiponektin insülin duyarlılaştırıcı ve kardiyovasküler koruyucu etkilerine katkıda bulunur. Bu yapının oluşumu için de translasyon sonrası modifikasyonlar, özellikle kollajenik domain içinde yüksek oranda korunmuş birçok lizin rezidüsünün hidroksilasyonu ve

ardından glikozilasyonu çok önemlidir (155). Buna ilaveten globüler adiponektin de biyolojik olarak aktiftir. Aslında bu yapı adiponektinin küresel C1q domainidir ki proteoliz ile tam uzunluktaki proteinden üretilir (156). Ek olarak, hiper değişken adiponektin bölgesinde yüksek oranda korunmuş sistein rezidülerinin (Cys36) süksinasyonu adiponektin multimerizasyonunu bloke eder ve diyabette plazma adiponektinindeki azalmaya katkıda bulunabilir. Bu nedenle, adiponektinin kapsamlı post-translasyonel modifikasyonları, etkin olgunlaşma, oligomerizasyon ve adiponektinin salgılanması için gereklidir, ayrıca dolaşımdaki stabilitesini korumak için de önemlidir (157). Adiponektin KBB'yi geçebilen ve BOS'da mevcut olan bir proteindir. Ancak BOS seviyesinin seruma göre 1000 kat daha düşük olduğu belirtilmiştir (158). Fizyolojik şartlarda, insanlarda dolaşımdaki adiponektin düzeyi 2-20 μg/mL seviyesindedir. Serum adiponektin seviyeleri obezite ile azalır ve insülin duyarlılığı ile pozitif olarak ilişkilidir (159). Adiponektin düzeyleri dişilerdeki seviyesi erkeklerde görülen seviyelerin iki katı olarak bir cinsel dimorfizm göstermektedir. (160). Adiponektin insülin duyarlılığı ile korelasyon gösterir ve düşük adiponektin seviyeleri, artmış T2DM riski ile ilişkilendirilebilir (161).

Esas olarak beyaz adipoz doku tarafından salgılanmasına rağmen diğer dokularda da düşük seviyelerde olsa bile eksprese edilir. Adiponektin merkezi sinir sistemi, böbrek, immün sistem hücreleri, pankreasın β hücreleri ve kalp gibi çeşitli organları, dokuları ve hücre tiplerini hedef alarak etkiler (162 ).

Adiponektin, primer reseptörleri olan AdipoR1 ve AdipoR2'ye bağlanarak etkilerini gösterir (154). Bu proteinler progesteron and adiponektin Q receptor (PAQR) ailesinin üyeleridir ve yapısal olarak G-proteini kenetli reseptörlere benzer, fakat fonksiyonel olarak farklıdır (163). Bunlar, hücre dışı yüzeyde C terminalinin (yaklaşık 25 amino asit) ve iç kısımdaki N terminalinin bulunduğu ters topolojiye sahip yedi transmembran domainden oluşur (154, 164). Adiponektin reseptörleri insan, kemirgenler ve bir çok memelilerin kas, kalp, beyin, pankreas, karaciğer, yağ dokusu, osteoblastlar ve lökositler gibi farklı dokularda sentez edilir (165). AdipoR1'in büyük bir kısmı iskelet kasında bulunurken AdipoR2 çoğunlukla karaciğerde eksprese edilir (154, 166). Hipokampus, prefrontal korteks (PFC), amigdala, hipotalamus ve ventral tegmental alan gibi beynin farklı bölgelerinde yüksek oranda eksprese edilen AdipoR1 globüler form için daha fazla afinite gösterir. Hipokampal DG ve hipotalamus gibi alanlarla sınırlı olan AdipoR2 ise hem globüler hem de tam uzunluktaki formlar için orta derecede bir afinitesi

vardır (167, 168). AdipoR1 ve AdipoR2'nin yanı sıra, adiponektin için T-kaderin adı verilen başka bir reseptör de tanımlanmıştır. Adiponektinin değişik formları arasından sadece hegzamerik ve HMW formları için bir reseptör görevi görür. T-kaderin, sitoplazmik ve transmembran domainlerden yoksun olduğu için glikozil fosfatidil inozitol (GPI) yoluyla membranın dış yüzeyine sabitlenen benzersiz bir kaderin molekülüdür. Son çalışmalar, kaderin eksikliği olan farelerin özellikle HMW formu olan yüksek plazma adiponektin seviyelerinin gösterdiği tespit etmiştir (154). T-kaderin ayrıca beyinde de bulunur. Ancak beyinde adiponektin ve T-kaderin arasındaki etkileşimlerin olup olmadığı belirsizdir (158). Memelilerde adiponektin esas reseptörleri olan AdipoR1 ve R2'ye başarılı bir şekilde bağlandıktan sonra bir adaptör protein olarak bilinen PH, PTB ve lösin fermuarı içeren adaptör protein 1'i (APPL1) aktifleştirir (154). APPL2, APPL1'in protein dizilerindeki %54 benzerlik gösteren bir izoformudur. APPL1'e benzer şekilde, APPL2'nin bir N-terminal BAR domain, merkezi PH domian ve C-terminal PTB domaini vardır. APPL2, sırasıyla BAR domainleri aracılığıyla APPL1'e bağlanarak folikül uyarıcı hormon sinyal iletim yolunu kapsar (169, 170). APPL2'nin BAR bölgesi üzerinden APPL1'e bağlanarak AdipoR1 ile herhangi bir etkileşimi önleyebileceği, dolayısıyla adiponektin sinyalini bozabileceği bilinmektedir (163).

Adiponektinin anti-diyabetik, anti-aterojenik, anti-inflamatvuar ve anti-fibrotik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (164, 171). Bu etkiler adiponektinin efektör proteinlerinin aktivasyonu ile ortaya çıkar. Bunlar arasında: AMP ile aktifleştirilen protein kinaz (AMPK), asetil-CoA karboksilaz (ACC), peroksizom-proliferatör ile aktifleştirilen reseptör alfa (PPAR-a) ve P38 mitojenle aktifleştirilen protein kinaz (P38 MAPK) yer almaktadır (172). APPL1, aşırı ekspresyon ve nakavt durumlarında adiponektin fonksiyonuna aracılık etmede hayati bir rol oynadığı gösterilmiştir. İskelet kası hücrelerinde aşırı ekspresyon, AMPK ve P38 MAPK'nın fosforilasyon ve aktivasyonunda artışla sonuçlanır. APPL1 knockout durumlarında ise AMPK, P38 MAPK ve ACC'nin adiponektin ile uyarılmış fosforilasyonunda azalma meydana gelir ve yağ asidi oksidasyonunda azalmaya neden olur (169, 172, 173). Adiponektinin insülin duyarlılaştırıcı etkisi ile ilgili çalışmalar APPL1 ve IRS-1/2 arasında meydana gelen bir çapraz etki ortaya çıkardı. Başlangıçta, APPL1 KO C2C12 miyotüplerdeki insülinle uyarılan Akt fosforilasyonunun önemli ölçüde bozulduğu belirlenmiştir (169, 172). APPL1'in aşırı ekspresyonu, insülinle uyarılan Akt aktivasyonunun artmasına neden olur. Tek başına adiponektin uygulamasının Akt fosforilasyonu üzerinde hiçbir etkisi yoktur ve

Akt aktivasyonu sadece adiponektin ile insülinin birlikte uygulanmasında ortaya çıkar (169, 172). APPL1, AdipoR1 ile bir takım mekanizma yoluyla bu işe olanak sağladığı düşünülmektedir. Bunlardan birisi, APPL1'in bazal seviyede IRS1/2 ile kompleksler oluşturma yeteneğidir (174). İnsülin veya adiponektin uyarımıyla, bu kompleks IR'lere alınır ve insülin sinyalini güçlendirir, böylece adiponektinin Akt fosforilasyonu üzerindeki sinerjik etkisini açıklar. Adiponektin aracılı AMPK aktivasyonu, insülin sinyalinin inhibe edici bölgeleri olan Ser302 ve Ser636/639 bölgelerinde IRS-1'in fosforilasyonunu azaltır (169).

Adiponektinin AdipoR2'ye bağlanması, PPAR-α'nın aktivasyonuyla sonuçlanır (175). Bu transkripsiyon faktörü, uncoupling proteinler (UCP'ler) ve asetil CoA oksidaz (ACO) gibi proteinlerden sorumlu hedef genlerin transkripsiyonundaki artışa neden olur. ACO ve UCP ekspresyonundaki artış, yüksek yağ asidi oksidasyonu, enerji tüketimi ve iskelet kasının trigliserit içeriğindeki azalışla sonuçlanır (176, 177). Son olarak, adiponektin dolaşımdaki seramid seviyelerini manipüle ederek de işlevini yerine getirebilir. Adiponektinin hücresel seramidazı aktive ettiği, böylece seramid seviyelerini düşürdüğü ve sfingozin-1-fosfatı artırdığı ve bu da insülin duyarlılığının artmasına neden olduğu gösterilmiştir (178).

Beyinde adiponektin, reseptörleri vasıtasıyla beyin enerji homeostazını, hipokampal nörogenezi ve sinaptik plastisiteyi etkiler (158). Adiponektin, hipokampal sinaptik plastisiteyi doğrudan etkileyerek bilişi de etkileyebilir. Hipokampusun DG'sinde adiponektin enjeksiyonu uzun süreli potansiyel artışına (LTP) yol açar ki bu da post-sinaptik potansiyel eğimde %20'lik bir artış ile karakterizedir, bu da adiponektinin hafıza üzerinde faydalı bir etkiye sahip olabileceğini öne sürer (179). DG'nin tersine, hipokampusun CA1 bölgesinde, adiponektin reseptörü agonisti olan AdipoRon LTP'yi azaltır (180). Her iki AdipoR1/R2 hipokampusta sentez edildiğinden, hipokampusun bu bölgelerindeki sinaptik plastisite etkilerinden hangi reseptörün sorumlu olduğu belirsizdir. İlginç bir şekilde, AdipoR2'nin silinmesi, ancak AdipoR1'in silinmemesi, beyin kesitlerinde DG nöronlarında artmış aşırı uyarımlara yol açar (181). Hipotalamusta adiponektin sinyali tokluk ve enerji homeostazını etkiler. Bu nedenlerle adiponektin merkezi sinir sistemi hastalıkları tedavisinde terapötik hedef olarak gösterilmektedir. T2DM ve alzheimer hastalığı gibi patolojik durumlarda seviyesi düşer. Düşük adiponektin

seviyesi antidepresan ilaçlarla artırılabilmektedir (182). Adiponektin sekresyonu TNF-α gibi proinflamatuvar faktörler tarafından inhibe edilir (166).

### 2.5.4. Rezistin

Rezistin, rezistin benzeri molekül (RELMs) denilen bir protein ailesine ait olup sisteince zengin bir adipokindir (183). İlk kez Holcomb vd. deneysel olarak indüklenmiş astımlı faregillerde yeni bir gen ailesi olan rezistin benzeri moleküllerin ekspresyonunu bildirdi ve inflamatuvar bölgede buldukları için bu gruba FIZZ1 (found in inflammatory zone-1) adını verdiler. Ayrıca, bir nükleotid homoloji araştırmasından sonra bu ailenin iki insan geni (FIZZ2 ve FIZZ3) ve iki fare genini (Fizz2 ve Fizz3 ) de tanımladılar (184). Deneysel fare obezite modellerinde, rezistinin artan obezite ile arttığı ve insülin hareketlerinde bozulmaya neden olduğu bulunmuştur. Koeffler ve ark. (185), farede rezistin ailesinin yeni bir üyesini, yani rezistin benzeri gamayı (Retnlg) tanımladı.

Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR), insan rezistin'inin en yüksek düzeyde kemik iliğinde ve bunu takiben akciğerde eksprese edildiğini gösterdi (186). Rezistin, insanlarda ayrıca hipotalamus, hipofiz, plasentanın trofoblastik hücreleri, pankreas, dalak, adrenal bezler, beyaz kan hücreleri, sinovial sıvı, sinovial doku ve dolaşımdaki kanda da bulunabilmektedir. Monosit ve makrofajlar beyaz yağ dokusundaki rezistin ekspresyonunun primer hücreleridir (187). İnsan rezistin mRNA'sı, adipoz depolarının yağsız hücrelerinde de tespit edilmiştir (186).

İnsan rezistin pre-polipeptit öncülü, 12.5 kDa'lık (108 amino asitlik) olgun bir molekül oluşturur ve faregiller ile amino asit seviyesinde %59 sekans benzerliği gösterir (188).

İnsanlarda rezistinin serum konsantrasyonu 7 ile 22 ng/mL arasında değişmektedir. Yapılan çalışmalara göre rezistinin insanlara kıyasla hayvanlarda farklı kaynakları ve farklı rolleri/etkileri vardır. Ayrıca alternatif eklemelerden kaynaklanan rezistinin birkaç izoformunun var olduğu da rapor edilmiştir (189-191).

İnsan rezistini çoğunlukla iki farklı formda bulunur: moleküler ağırlığı 660 kDa olan bir oligomer ve moleküler ağırlığı 45 kDa olan bir trimer (192). Bununla birlikte, rezistinin trimerleri ve oligomerleri insanlarda biyolojik olarak farelere göre daha aktif olup, bunların bir araya gelmesi, rezistinin proinflamatuvar özellikleri için çok kritiktir (189-191). Rezistin, 51–104, 63–103, 72–89, 74–91 ve 78–93 pozisyonlarında sistein

(Cys) rezidüleri arasında beş zincir içi disülfür köprüsü ve Cys 6 rezidüsü ile bir zincir içi disülfür köprüsü oluşturmaktadır. Bu proteinlerin ayırt edici özelliği, beş disülfür köprüsünün oluşumu yoluyla rezistin monomerinin küresel alanının birleşmesini destekleyen, karboksil terminalinde 10-11-Cys açısından zengin bir motiftir (191). Bu karboksil terminal küresel alan, rezistinin reseptör bağlanma bölgesi olarak önerilmiştir (193). Disülfür ve disülfür olmayan bağların, dolaşımdaki rezistin için yüksek dereceli bir araya gelme durumlarının (dimerler, trimerler ve heksamerler) oluşumunda da önemli olduğu gösterilmiştir. Rezistinin ikincil yapısı, bir α-sarmalına ve zincir başına altı β-tabakaya sahiptir (191, 194).

TNF-α ve interlökin (IL)-1β, -6, -8 ve -12'nin salgılanmasını, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve rezistine yanıt olarak eNOS'un inhibisyonunu teşvik eder. Rezistin özellikle, monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve NF-κB aktivasyonunu da uyarır (183, 192, 195).

Bugüne kadar, rezistin için dört farklı fonksiyonel reseptör, yani adenilil siklaz ile ilişkili protein 1 (CAP1), toll benzeri reseptör 4 (TLR4), bir dekorin izoformu (ΔDCN) ve reseptör tirozin kinaz benzeri orphan reseptör 1 (ROR1) tanımlanmıştır. Rezistin, çeşitli hücre sinyal yollarının aktivasyonuna yol açan bu reseptörlere karşı farklı bağlanma afinitesi sergiler (196). Rezistinin CAP1'e bağlanması hücre içi cAMP konsantrasyonunu ve protein kinaz A (PKA) aktivitesini artırır ve inflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF-α ve IL-1β) NF-κB aracılı transkripsiyonunu teşvik eder (197). Rezistin-TLR4 etkileşimi, sıçan hipotalamusundaki yapısal değişiklikleri uyararak adaptör protein, miyeloid farklılaştırma faktörü 88 (MyD88) ve Toll/interlökin-1 reseptör alanı içeren adaptör protein (TIRAP) aracılığıyla JNK ve P38 yollarının aktivasyonuna yol açar (198, 199). Orphan reseptörü benzeri reseptör tirozin kinaz (ROR1), hücre bölünmesi, proliferasyonu, anjiyogenez, göç ve sağkalım için önemli olan bir tirozin kinaz reseptörleri ailesine aittir. ROR1'in hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar 1 ve 2 (ERK1/2)'nin aktivasyonuna yol açan 3T3-L1 preadipositlerinde faregiller rezistin ile etkileşime girdiği gösterilmiştir. Ayrıca, adipogenez ve glukoz alımını teşvik etmek için sitokin sinyalizasyonunun 3 (SOCS3) ve glukoz taşıyıcı 4'ün baskılayıcısını da düzenledi (200, 201).

Dolaşımdaki rezistin düzeylerinin artması inflamatuvar durumlar ile ilişkilidir ve insan adipoz dokusundaki rezistin üretimi, çoğunlukla yerleşik adiposit olmayan inflamatuvar hücreler tarafından salgılanmayı yansıtıyor gibi görünmektedir (188).

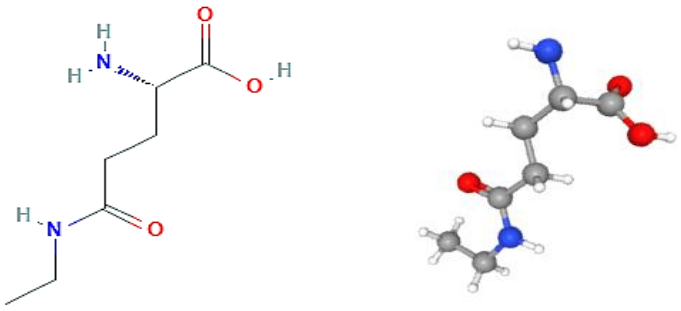
Rezistin, kan glukoz seviyelerinin, lipid metabolizmasının, hipofiz somatotropin hücrelerinin ve hipotalamik tokluk merkezinin düzenlenmesinde rol aldığı belirtilmiştir. Bunun yanısıra merkezi sinir sistemi hücrelerinin modülasyonunda rol oynadığı ve proinflamatuvar sitokinlerin sentezine ve salgılanmasına ve monositlerin makrofajlara farklılaşmasına katkıda bulunduğu da gösterilmiştir. Son olarak, rezistin kalp kasılmasını, düz kas hücresinin aktivitesini, anjiyogenezi, endotel geçirgenliğini, böbrek fonksiyonunu ve kemiğin yeniden şekillenmesini etkiler (183, 202).

## 2.6. L-Theanin

### 2.6.1. Yapısı, Kimyasal Özellikleri ve Sentezi

LTN, *Camellia Sinesis* bitkisi çaylarında bulanan amino asitlerin büyük bir çoğunluğunu oluşturan özel bir amino asittir. Bu çay bitkisinin sınıfı, yetiştirildiği coğrafi bölge, üretim teknikleri, hasat zamanı, bitkinin yaprağı, dalı, ciçeği gibi özelliklere göre LTN miktarı değişmektedir. Beyaz, yeşil, oolong ve siyah çayda LTN düzeyi sırasıyla 6.26, 6.56, 6.09 ve 5.13 mg/g olarak tespit edilmiştir (203). LTN, çayın kalitesi ile doğru orantılı olup, özellikle umami tadına ve aromasına yüksek oranda katkı sağlar (204). Umami tadın algılanması T1R1+T1R3 tat reseptörleri tarafından gerçekleştiği tespit edilmiştir (203, 205). Umami tadı için LTN ve inosin 5'-monofosfat (IMP) arasında sinerji de rapor edilmiştir (206). LTN ayrıca Xerocomus badius yenmez mantarında ve amazon ağacı olan Ilex guayusa'da da bulunmaktadır (206). LTN'nin yapısı ve kimyasal özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.** LTN'nin yapısı ve kimyasal özellikleri (207, 208)

| | |
|---|---|
| Diğer Adları | N(5)-etil-L-glutamin; L-γ-glutamiletilamid; γ-glutamiletilamid; γ-glutamil L-etilamid; γ-etilamino-L-glutamik asit |
| IUPAC Adı | (2*S*)-2-amino-5-(etilamino)-5-okzopentanoik asit |
| Yapısı |  *PubChem CID: 439378* |
| Molekül Formülü | $C_7H_{14}N_2O_3$ |
| Molekül Ağırlığı | 174.20 g/mol |
| Erime Noktası | 217-218 °C |
| Görünümü | Kristal, renksiz |
| Çözünürlük | Suda çözünür; etanol, metanol, kloroform ve eterde çözünmez |
| Kararlılık | Asidik koşullarda kararlı, alkali koşullarda kararsız. |
| Tat | Umami, ağızda az kalan ya da hiç kalmayan tat |

*IUPAC: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği*

Çay bitkilerinin kotiledonları, sürgünleri ve köklerindeki LTN'in biyosentezi L-theanin sentetaz enzimi aracılığıyla L-glutamik asit ve etilaminden gerçekleşir. Glutamik asidin alfa karbona bağlı olmayan diğer karboksil ucu, bir başka amin grubuna ve ardından bir etil grubuna bağlanarak oluşmaktadır (205). LTN sentezinde magnezyum iyonu önemli faktörlerden biri sayılır (205, 209). Yapraklarda, LTN, güneş ışığına ve ısıya maruz bırakılarak ana bileşenlerine hidrolize edilebilir. Ayrıca çay bitkileri güneşe ne kadar az maruz kalırsa o kadar sentezlenen LTN seviyesi yüksek olacaktır (208).

LTN bir diyet takviyesi olarak piyasada mevcuttur ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi Kurumu tarafından (FDA) ''genel olarak güvenli olarak kabul edilmiş'' ifadesiyle

onaylanmıştır (210). Saf LTN, kiral L-enantiyomer olarak rapor edilirken, ticari ve sentetik LTN (SunTheanine), tipik olarak glutaminaz enzimi tarafından gıda kaynaklı etilamin ve L-glutaminden L- ve D- formlarının rasemik kombinasyonu olarak üretilir (211).

### 2.6.2. Emilimi ve Düzeyleri

LTN ince bağırsağın fırçamsı yüzeyinden $Na^+$ beraberliğinde ko-transport taşıma mekanizmasıyla emilir. Ayrıca LTN'in metiyonin taşıyıcı sistem aracılığıyla bağırsak yoluyla taşındığı da bildirilmektedir. Ya doğrudan idrarla atılır ya da böbreklerde amid hidrolaz ile glutamik asit ve etilamine parçalanıp ve daha sonra idrar yoluyla vücuttan uzaklaştırılır (207, 208).

Memelilere eşit miktarda Theanin'in L ve D formu ayrı ayrı verildiğinde, L formunun plazma seviyesinde D formundan yaklaşık üç kat daha fazla absorpsiyon kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu iki formun bir seferde eşit içerikte verilmesiyle, LTN içeriğinin alım miktarı D-theanin'den çok daha yüksek olduğu belirtilmiştir (212).

İnsanlara çayla birlikte oral yol ile 25-100 mg LTN verildikten yaklaşık 50 dakika sonra LTN'in plazma seviyesi en üst seviyesine ulaşır, ayrıca insandaki yarılanma ömrü de 15-65 dk olarak raporlanmıştır (213). LTN, 250 ml yeşil çayın oral alımından 0.8 saat sonra gönüllü insanlarda 26.5 μmol/l'lik bir pik plazma konsantrasyonuna ulaştığı belirtilmektedir (214). Yokogoshi ve ark. LTN'nin uygulamadan sonra serumda, karaciğerde ve beyinde en geç 1 saat içinde arttığını ve daha sonra serum ve karaciğerde keskin bir şekilde azaldığını bildirmiştir (215).

Emilen LTN, kan yoluyla vücudun ana organlarına, özellikle beyne taşınır (207). Farelerde LTN, beyinde vücut ağırlığının kilogramı başına 7.7 mMol $^{14}$C-L-TN'nin intraperitoneal enjeksiyonundan 30 dakika sonra beyinde saptanmıştır (216). Sıçanlarda oral uygulandıktan sonra, LTN, kan dolaşımına sorunsuz bir şekilde katıldığı ve beyin gibi ana organlara aktarıldığı raporlanmıştır; burada 15 ve 30 dakikalık oral uygulamadan sonra, beyne geçiş yapan LTN yüzdesi sırasıyla % 0.23 ve % 0.39 olduğu belirtilmiştir (217).

### 2.6.3. Sağlık Üzerine Etkisi

LTN'in biyoaktif etkileri bir çok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile araştırılmıştır. LTN, gıda katkı maddesi olarak önemli potansiyele sahip fonksiyonel bir bileşen olarak

tanınmaktadır. Sağlığa faydaları, antioksidan, büyüme destekleyici, bağışıklık güçlendirici, anti-stres, hepatoprotektif, antitümör, yaşlanma önleyici, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve anti-anksiyete aktiviteleri gibi bir dizi farmakolojik ve biyolojik özellik ile sıçanlarda ve nematodlarda ilişkilendirilmiştir (210).

Çayda en fazla miktarda bulunan ve en önemli serbest amino asit olan LTN oldukça rahatlatıcı etkiye sahip olup, uyku kalitesi ve süresi, zihinsel aktivite, ruhsal ve duygusal durum, kalp-damar hastalıkları ve obezite üzerindeki olumlu etkileri çeşitli çalışmalar sonucu incelenmiştir ve ileri sürülmüştür (210, 218). Siyah çayda olduğu gibi, diğer çay türlerinin de rahatlama sağladığına inanılıyor. Rahatlama hissini yaratan madde LTN'dir. LTN, rahatlamayı uyuşukluk olmadan sunar. LTN, uyku haplarının aksine sakinleştirici değildir, ancak iyi bir uyku kalitesini anksiyoliz yoluyla yani kaygıyı ortadan kaldırarak sağlar (206).

LTN, kan beyin bariyerini kolayca geçebilmektedir. LTN, zihinsel ve fiziksel stresi hafifletme, bilişi iyileştirme performansı kafein ile sinerjik bir şekilde artırma potansiyel gücü açısından incelenmiştir (206).

Bu amino asit, vücut hücrelerini serbest radikal türlerinden koruyabilir ve sinir hücrelerindeki dopamin ve serotonin seviyelerini artırarak ve rahatlamaya yardımcı olarak kaygıyı önleyebilir (219).

LTN, beyindeki dopamin ve serotonin üretimini arttırır ve beyindeki alfa dalgası aktivitesinin artmasıyla rahatlama etkisi yaratır (212). Ağızdan 50-200 mg LTN alındıktan 40 dakika sonra beynin oksipital ve parietal bölgelerinde α-dalgalarının oluştuğu ve bunun uykuya neden olmadan rahatlatma etki yaratabilmesi belirtilmektedir (207). Glutamat ve γ-aminobütirik asit (GABA) nörotransmitterlerine yapısal benzerlik gösterir. LTN'nin nörotransmitter glutamik aside yapısal benzerliği, araştırmacıları sinir sistemindeki glutamat reseptörlerine bağlanma potansiyelini incelemeye yöneltmiştir. Beyne dahil edilen LTN'nin, glutamatın pre-sinaptik alandan sinaptik boşluğa salınımını azaltır, burada glutamat daha sonra beynin ana inhibitör nörotransmitteri olan gama-aminobütirik asit (GABA) halinde dekarboksile edilebilir. (220, 221). LTN, α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit ve kainat reseptörleri dahil olmak üzere mikromolar düzeyde zayıf etkileşim ile glutamat reseptörlerine ve daha az ölçüde N-metil-D-aspartik asit reseptörüne bağlanır (212). Zhu ve ark. (222), bir Alzheimer Hastalığı fare modelinde, LTN ile takviyenin hipokampal dopamin ve noradrenalin salınımını teşvik ettiğini ve bu

etkilerin dopamin D1/5 reseptörünün antagonistleri tarafından engellendiğini, LTN'in dopamin D1/5 reseptör-PKA yolağı aktivasyonu yoluyla hipokampal monoamin iletimini iyileştirdiğini bulmuşlardır. LTN'nin antioksidan özelliği olduğu ve β-amiloid kaynaklı bilişsel işlev bozukluğunu hafifletmede önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (223).

LTN alımı NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör bağımlı CA1 hipokampal Uzun süreli Potansiyel Artışı'nı (LTP) azaltır, ancak NMDA reseptöründen bağımsız CA1 LTP'yi artırır. Dolayısıyla, LTN hipokampusta NMDA reseptöründen bağımsız LTP'yi indükleme yeteneğine sahiptir (224). LTN, dopamin, serotonin, glisin ve GABA konsantrasyonunu etkiler ve serebral korteks ve hipokampusta sinir büyüme faktörü mRNA seviyelerini artırır. LTN uygulaması, özellikle striatum, hipotalamus ve hipokampusta dopamin konsantrasyonlarında dikkate değer artışlara neden olur. Ayrıca, yapılan bir çalışmada dopaminin neden olduğu aşırı nörotoksisite, nöron-astrosit birlikteki kültürlerinde LTN tarafından önemli ölçüde hafifletildi, ancak tek başına nöronal kültürde azalmadı (224). LTN beyindeki triptofan içeriğini yükseltirken, intraserebral GABA seviyesi de 7.5 mM/kg amino asit enjeksiyonundan (i.p) sonra düzelmiş olur (224).

Egashira ve ark. (225) göre, LTN'in nöroprotektif etkisine en azından kısmen GABA reseptörleri aracılık etmektedir. Beynin olgunlaşması için inhibe edici nörotransmisyon gerekli olduğundan, bu nedenle inhibitör nörotransmisyonu etkiler ve yeni doğmuş sıçanlarda beyin gelişimini düzenler. LTN, uyarıcı nörotransmisyonu inhibe edebilir ve spesifik olarak glisin reseptörleri yoluyla inhibe edici nörotransmisyona neden olabilir (226). LTN'in beyinde perfüzyonu, aspartik asit salınımını önler ve AMPA reseptörlerinde inhibe edici etkiler sergilemenin yanı sıra glisin salınımını arttırır (227). LTN alımı NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör bağımlı CA1 hipokampal uzun süreli potansiyel artışı'nı (LTP) azaltır, ancak NMDA reseptöründen bağımsız CA1 LTP'yi artırır. Dolayısıyla, LTN hipokampusta NMDA reseptöründen bağımsız LTP'yi indükleme yeteneğine sahiptir (224).

Reperfüzyondaki LTN, fokal serebral iskemi-reperfüzyonun *in vivo* sıçan modelinde nöroprotektif etki gösterir. Reperfüzyonda LTN ile lokal tedavi, glutamat reseptör agonisti aracılı beyin hasarını önler. Bu veriler, LTN'in nöroprotektif etkisinin esas olarak glutamat antagonizmi ile açıklandığı hipoteziyle uyumludur (228).

LTN ile tedavi aynı zamanda hem nöronal büyüme hem de sağkalım için gerekli olan BDNF ve glial hücreden türetilmiş nörotrofik faktör (GDNF) seviyelerini yükseltir (229).

LTN'nin erkeklerde fiziksel stresi azalttığı, kadınlarda adet öncesi dönemde anksiyete ve stresi ve hem erkeklerde hem de kadınlarda anksiyete düzeylerini bastırdığı gösterilmiştir (230).

İnsan ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalar ile, LTN'in serum kolesterol seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir, dolayısıyla obezite ve kalp hastalıkları gelişimini engelleyebilme açısından önemli etkilere sahip olabilmesi ileri sürülmüştür (231). Kanda yüksek bir kortikosteron seviyesi stresi gösterirken, %0.3 LTN uygulaması serum kortikosteron seviyesini düşürür (232).

LTN'in antiinflamatuvar ve antinekrotik özellikleri, NF-κB'yi inaktive etme ve dolayısıyla proinflamatuvar sitokinler IL-1 ve IL-6'yı azaltma ve antiinflamatuvar sitokin IL-10'u artırma yeteneği ile ilişkilidir (233).

Kemoterapötik ajan olarak LTN, glutamatın enfekte tümör hücrelerine taşınmasını yarışmalı bir şekilde inhibe eder ve ayrıca hücre içi glutatyon (GSH) seviyelerini azaltabilir. LTN, kemoterapötik ajanların (örn. doksorubisin, idarubisin, sisplatin, irinotekan) dışa akışını engelleyerek tümör hücrelerinde birikmelerine ve antioksidan özelliği ve hücresel GSH düzeyini koruyarak normal hücreleri bu ilaçların neden olduğu hasardan korumuş olur (212).

LTN, katalaz, süperoksit dismutaz ve süksinat dehidrojenaz aktivitesi gibi farklı nörolojik fonksiyonları inhibe ederek beyin enfarktüsünü azaltarak nöral hasarı korumaya ve fonksiyonu iyileştirmeye yardımcı olur, böylece GSH'yi ve nöronal hücrelerin oksidatif hasarını azaltır (234-236). Beyni serebral iskemiden korur ve glutamat reseptör agonistinin aracılık ettiği beyin hasarını önler ve gecikmiş nöronal ölümde serebral kortikal nöron tutulumunu inhibe eder (228, 237).

LTN tarafından fosfolipaz C-β1 ve fosfolipaz C-γ1 ekspresyonunun uyarılması yoluyla grup I mGluR'nin düzenlenmesiyle nöroprotektif rol, nörotoksin kaynaklı nörotoksisite, oksidatif stres ve ayrıca parkinson ve alzheimer hastalıklarının etkinliğinde azalmaya neden oldu. DNA parçalanması ve ayrıca sinir hücresi (SH-SY5Y) apoptozu da LTN tarafından azaltılır (238-240).

## 3. GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Gereçler

Çalışmamızda kullanılan cihazlar, laboratuvar aletleri ve malzemelerin listesi ve üretici firmaları Tablo 3'te; kimyasal maddeler üretici firmaları ile birlikte Tablo 4'te; ticari kitlerin listesi, markaları ve üretici firmaları ise Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Kullanılan cihazlar, laboratuvar aletler ve malzemeler

| **Adı** | **Üretici Firma** |
|---|---|
| Buzdolabı (+4 °C) | Arçelik, Vestel |
| Çalkalayıcılı inkübatör | ShelLab/Sheldon S14-2 |
| Derin dondurucu (-80 °C) | Thermo Electron Corporation |
| El homojenizatörü | OMNI-Tissue Master 125 |
| ELISA yıkayıcısı | Biotek ELx 50 |
| Etüv | Galenkamp |
| Hassas terazi | Mettler Toledo AB 204-S |
| Işık mikroskobu | Olympus BX-51, Olympus Optical Co. |
| Manyetik karıştırıcı | Termal |
| Mikroplaka okuyucu (ELISA okuyucu) | Versa Max, Moleculer Devices |
| Mikroplaka yıkayıcı | BioTek ELx50 |
| Mikrosantrifüj | Thermo IEC Micromax |
| Mikrotom | Leica RM2255 |
| Otoanalizör | Becman Coulter AU5800 |
| Otomatik pipetler (Çeşitli hacimlerde) | Socorex; Isolab; Ependorf |
| pH-metre | Hanna Instruments, HI 9321 |
| Saf Su Arıtma Cihazı | Kros |
| Santrifüj | Eppendorf, Centrifuge 5810 |
| Sıçan terazisi | Kern-Sohn-GmbH, PCB-800-1 |
| Soğutmalı santrifüj | Beckman-Coulter |
| Sonikasyon cihazı | Sonics Vibra-Cell, 42174L |
| Vorteks | IKA Vortex, Genius 3 |
| Biyopsi Şişesi | Histopot, Lot No: 1405189681 |
| Glukometre ve Stripleri | VitaPlus G400, Lot No: G40A091811 |
| İnsülin Enjektörü | Beybi, Lot No: 20190506 |
| Lamel | Marienfield, Lot No: 37393 017 |
| Mikrosantrifüj Tüpü | Iso Lab, Lot No: MTPPN7015002 |
| Mikrotom Bıçağı | Therma, Lot No: 9G302226 |
| Pipet Uçları | Kartell Spa, Lot No: 4806; Iso Lab, Lot No: PTPPN19010002 |
| Pozitif Şarjlı Lam | HDA, 20181122 |
| Rodajlı Lam | Marienfield, Lot No: 37909306 |

**Tablo 4.** Kullanılan kimyasal maddeler

| Kullanılan Kimyasallar | Üretici Firma, Kodu ve Saflığı |
|---|---|
| Absolüt Etanol | Smyras, Lot No: 305240919060 |
| Entellan | Merck, Lot No: HX378130 |
| Eozin | Biognost, Lot No: E0YA-13/18 |
| Etil Alkol | Aytaş, Lot No: 200-578-6 (%96) |
| Formaldehit | Sigma, Lot No: SZBE2450V |
| Fosfat tamponu (PBS) tablet | VWR Life Science, Cat No: E404 |
| Granül Parafin | Tekkim, Lot No: 240215224 |
| Kristal Viole | ZAG Kimya, Cas No: 548-62-9 |
| Ksilen | Tekkim, Lot No: 090709134001 |
| L-Theanin | Chem-Impex Intl, Cat No: 14293, (%99) |
| Nikotinamid | Sigma, Cat No: 102116371, (≥ %99.5) |
| Streptozotosin | Cayman, Lot No: 1.800.364.9897 (≥ %95) |
| Trikromstain (Masson) | Histomed, Lot No: 252017.002 |
| Triton X-100 | Merck, K2351869, (> %95) |

**Tablo 5.** Çalışmada kullanılan kitler

| Kit | Marka, Ürün Kodu, Lot No, Şehir ve Ülke |
|---|---|
| Rat Adiponektin | Elabsience, E-EL-R3012, S1ZYY3WCDN, Teksas, ABD |
| Rat BDNF | Elabsience, E-EL-R1235, GCLAIUVMWK, Teksas, ABD |
| Rat İnsülin | Elabsience, E-EL-R3034, 6N8L3LVXFG, Teksas, ABD |
| Rat Leptin | Elabsience, E-EL-R0582, VZVWMDV8ZD, Teksas, ABD |
| Rat Rezistin | Elabsience, E-EL-R0614, X1NMF41IH7, Teksas, ABD |
| Rat TNF-α | Elabsience, E-EL-R0019, EMT99XZZ6Q, Teksas, ABD |

### 3.2. Yöntem

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından yürütülen "L-Theaninin Diyabetik Sıçanlarda Hipokampus Dokusu ve Serum BDNF ve Adipositokin Seviyelerine Etkisinin İncelenmesi" isimli KTÜ Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) desteği ile (Proje No: TSA-2019-8470) gerçekleştirildi. Ayrıca bu çalışmanın yürütülmesi için KTÜ, Tıp Fakültesi,

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 21.05.2019 tarihli, 2019/24 dosya no'lu onay alındı (Bkz. Etik Kurul Onay Belgesi). Çalışmanın biyokimyasal analizleri KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Histopatolojik incelemeler ise KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuarında yürütüldü.

### 3.2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Çalışmada 2-3 aylık (150-250 g ağırlığında) 32 adet Wistar erkek sıçan kullanıldı. KTÜ Cerrahi Uygulama Araştırma Merkezi'nden temin edilen sıçanlar aynı yerde deneysel çalışma için 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortam sağlanarak barındırıldı. Tüm gruplara standart sıçan yemi ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi. LTN ve aynı miktarda su gavaj yolu ile uygulandı.

Sıçanlar rastgele aşağıdaki gibi gruplara bölündü (n=8). Tablo 6'da deney grupları ve yapılan uygulamalar görülmektedir.

**Tablo 6 .** Deney grupları ve yapılan uygulamalar

| | **Gruplar** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Uygulama** | **Kontrol** | **LTN** | **DM** | **DM+LTN** |
| Su, gavaj ile | **+** | **-** | **+** | **-** |
| LTN (200 mg/kg), 28 gün, gavaj ile | **-** | **+** | **-** | **+** |
| NA (120 mg/kg), tek doz, i.p. | **-** | **-** | **+** | **+** |
| STZ (60 mg/kg), tek doz, i.p. | **-** | **-** | **+** | **+** |

DM ve DM+LTN gruplarındaki sıçanlara diyabet oluşturmak için hayvanlar gece boyunca aç bırakılarak (~12 saat açlık) sabahın ilk saatlerinde 0.1 M sitrat tamponunda (pH 4.5) hazırlanmış 60 mg/kg STZ, tek doz şeklinde intraperitoneal olarak uygulandı. Ancak, pankreas hücre hasarını azaltmak için, STZ uygulamasından 15 dakika önce i.p. olarak 120 mg/kg NA enjekte edildi. STZ uygulamasından 2 gün sonra, glukoz ölçümü için kuyruk veninden kan örneği alınarak glukometre ile ölçüldü. Açlık glukoz konsantrasyonu >250 mg/dL olan deneklerin diyabet olduğu kabul edildi.

### 3.2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

28 günlük deney süresinin sonunda hayvanlar etik yönergelere uygun şekilde dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Dekapitasyon esnasında antikoagülansız tüplere alınan kanlar kit protokollerinin önerdiği gibi 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra soğutmalı santrifüjde (2-8 °C), 20 dk. 1000×g'de santrifüj edilerek serumlar elde edildi.

Beyin kafatasından dikkatlice çıkarılarak soğuk fosfat tamponu (PBS) içine konuldu. Islatılmış filtre kağıdına aktarıldıktan sonra temiz bir tıraş bıçağı kullanarak beyin hemiseksiyon yapılıp iki hemisferine ayrıldı. Bir spatula ucunu, korteks ile birleşim yerinin yakınında serebellumun hemen üzerine tutturularak başka bir spatula ucunu aynı bağlantı noktasının yakınına yerleştirip kortikal yarımküre nazikçe yanal olarak soyuldu. Kortikal hemisfer yanal olarak tamamen soyulduktan sonra, hipokampus açığa çıktı. Beyin bir spatula ucu ile sabitlenirken diğeri hipokampusun kaudal ucunun hemen altına yerleştirildi. İkinci spatula ucunu hafifçe öne ve yana doğru hareket ettirerek, medial beyaz cevher yollarına tespit spatulası ile dikkatlice basınç uygulandı (241, 242). Tüm diseksiyon işlemleri kuru buz üstüne konulan petri dish ve onun da üzerindeki ıslak filtre kağı üstünde yapılıp ve kesim esnasında sürekli soğuk PBS tamponu ile ıslak tutulmakta idi.

Beyin dokusu hipokampuslarının yarısı kesimden hemen histopatolojik incelemeler için formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Hipokampüs dokularının yarısı sıvı azot ile donduruldu. Rutin Biyokimya Laboratuvarında otoanaliz ile çalışılacak parametreler için serumlar ve ELISA kiti ile çalışılacak parametreler için serum ve hipokampus dokuları -80 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

### 3.2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Seviyelerinin Belirlenmesi

#### 3.2.3.1. Serum Glukoz ve Lipid Parametrelerinin Tayini

Serum numunelerinde glukoz, TG, total kolesterol (TK), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) düzeyleri KTÜ Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda mevcut olan Beckman Coulter marka AU 5800 (Kaliforniya, ABD) model otoanalizörde ölçüldü. Bu parametrelerin ölçümü günlük uygulanan kalite kontrol işlemleri uygulandıktan sonra gerçekleştirildi. Tüm parametrelerin ölçümünde cihazların orijinal kitleri kullanıldı. Glukoz ölçümünde hekzokinaz (enzimatik), TG ölçümünde lipaz/gliserol kinaz (enzimatik kolorimetrik), TK ölçümünde kolesterol oksidaz (enzimatik kolorimetrik), HDL-K

ölçümünde immünolojik/direkt (enzimatik kolorimetrik) ve LDL-K ölçümünde koruyucu reaktif/direkt (enzimatik kolorimetrik) yöntemi kullanıldı.

### 3.2.3.2. Hipokampus Dokusu Homojenatlarının Hazırlanması

***Kullanılan Çözeltiler:***

**PBS (Fosfat Tamponu), 10 mM, pH 7.4:** 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl ve 10 mM fosfat bufer'ı içeren PBS tableti (Avantor, Lot No: 0485C025, NewYork, ABD) 400 mL kadar saf su ile çözünmesi sağlandı. pH'sı 7.4'e ayarlanarak saf su ile son hacim 0.5 L'ye tamamlandı. 0.22 μm'lik steril filtre ile süzüldü ve +4 ºC'de saklandı.

Dokuların iyice parçalanması için hazırlanan PBS'ye %2 olarak Triton X-100 ilave edilip iyice çözünmesi sağlandı.

***Deneyin Yapılışı:***

1. Hipokampus dokusu buz kalıpları üzerinde kesildi ve hemolizli numunelerin sonuçları etkilememesi için soğuk PBS (0.01 M, pH: 7.4) ile kan hücreleri ve pıhtılar temizlenerek hassas terazide yaklaşık 90 mg olarak tartıldı.
2. Soğuk homojenizasyon tamponu [g doku ağırlığı: mL PBS (1:9)] konuldu.
3. Soğuk ortamda 30 s süresince homojenizatörle 5000 rpm'de homojenize edildi.
4. Dokuları iyice parçalanıp içeriğini ortama bırakmak için 5 s, 80 kHz ile sonike edildi.
5. Homojenat 4 °C'de, 5000xg'de, 10 dk. santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım alındı.

### 3.2.3.3. Doku Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Kit protokollerinin önerdiği doğrultuda araştırılacak parametreler için beyin hipokampus homojenatında protein tayini Bradford yöntemi ile yapıldı (243). Bu metodun prensibi; organik bir boya olan Coomassie Brilliant Blue G-250'nin fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanması ve oluşan mavi renkli kompleksin 600 nm'de maksimum absorbans göstermesi esasına dayanmaktadır.

***Kullanılan Çözeltiler:***

**Bradford Reaktifi:** 10 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 5 mL %95'lik etanolde çözüldü, üzerine 10 mL %85'lik $H_3PO_4$ eklendi ve son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

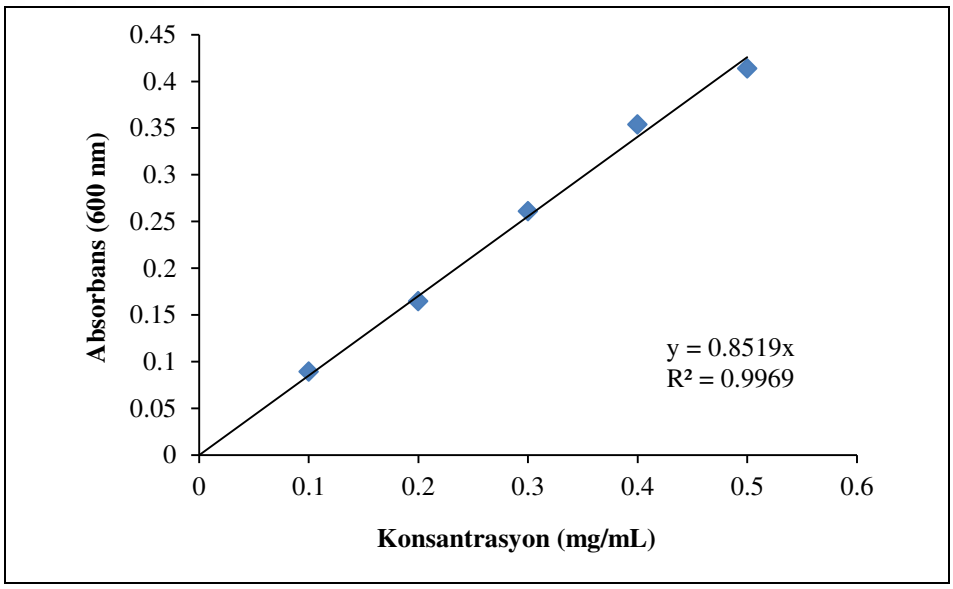
**Sığır Serum Albümini:** 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 ve 0.1 mg/mL konsantrasyonlarında albümin standartları hazırlandı.

***Deneyin Yapılışı:***

Tablo 7'e göre pipetlemeler yapıldı ve 600 nm'de absorbansları okunarak standart grafik (Şekil 3) yardımıyla sonuçlar hesaplandı.

**Tablo 7.** Protein tayini deneyi işlem basamakları

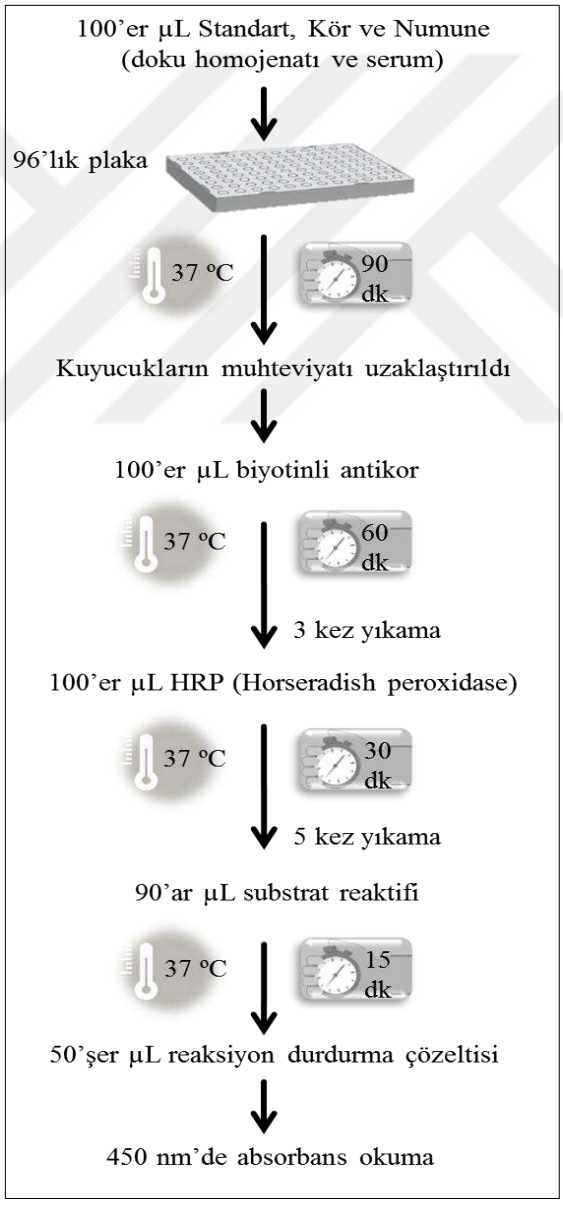
| | **Kör (µL)** | **Standart (µL)** | **Numune (µL)** |
|---|---|---|---|
| Distile Su | 10 | - | - |
| Standart | - | 10 | - |
| Numune | - | - | 10 |
| Bradford Reaktifi | 100 | 100 | 100 |
| Oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi. | | | |
| 600 nm'de absorbansları okundu. | | | |



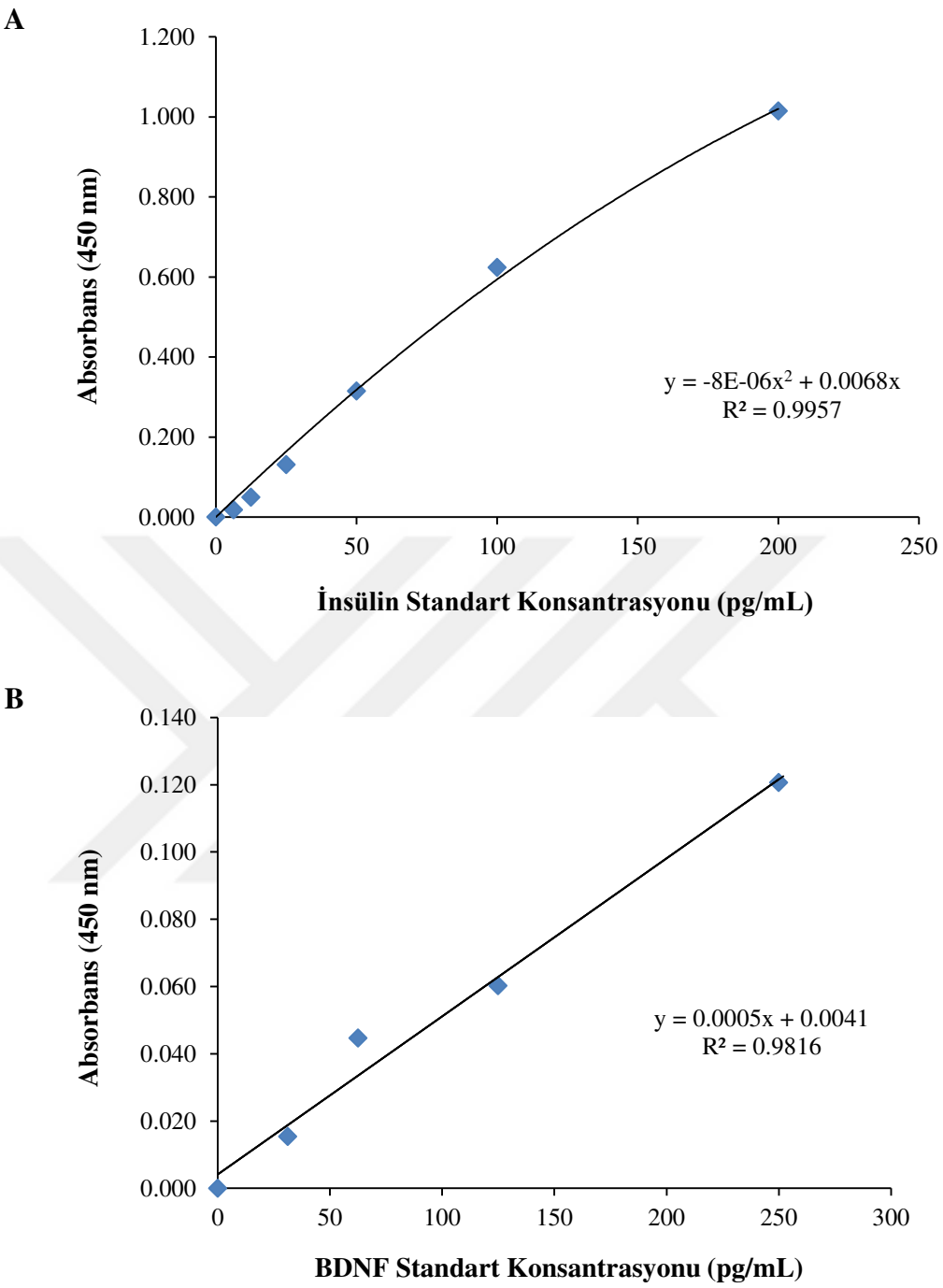

**Şekil 3.** Protein tayini standart grafiği

### 3.2.3.4. ELISA Yöntemiyle Yapılan Tayinler

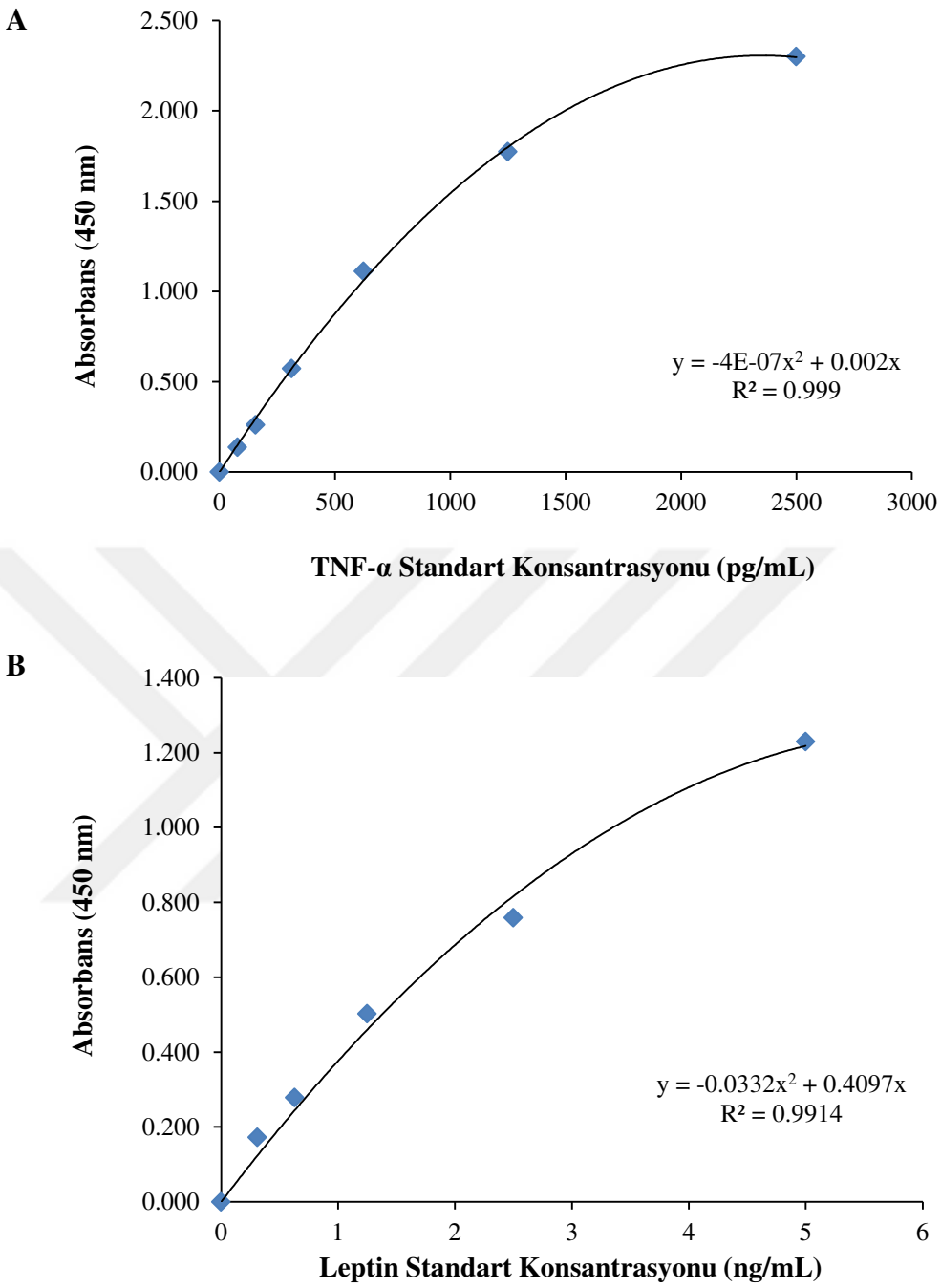
Serum ve hipokampus dokusunda insülin, BDNF, TNF-α, leptin, adiponektin ve rezistin seviyelerini belirlemede kullanılan sandviç ELISA yöntemi Şekil 4'te şematize edildi. Kit önerisi doğrultusunda insülin için serum 25 kat, adiponektin için serum 250 kat ve BDNF için doku süpernatantı 1:1 oranla seyreltilen numuneler kullanıldı. Kit malzemeleri kullanılarak yapılan uygulamalar sonucu mikrokuyucuklardaki absorbanslar 450 nm'de okundu ve Şekil 5-7'de gösterilen standart grafikler yardımı ile miktarlar belirlendi.




**Şekil 4.** Ticari ELISA kitlerinin deney basamakları

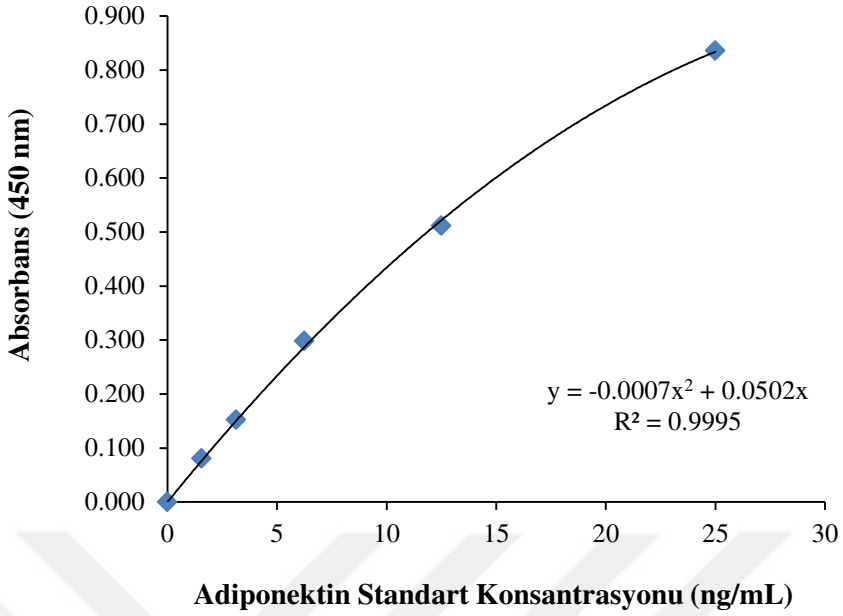



**Şekil 5.** İnsülin (A) ve BDNF (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler

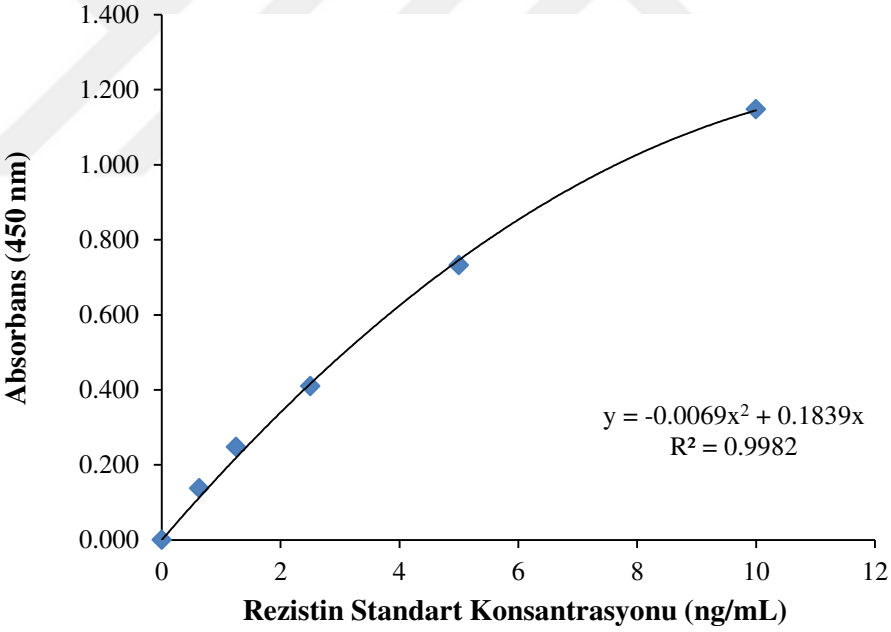



**Şekil 6.** TNF-α (A) ve leptin (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler

A




B




**Şekil 7.** Adiponektin (A) ve rezistin (B) seviyeleri belirlenmede kullanılan standart grafikler

### 3.2.4. Histopatolojik İncelemeler

Dokuların takip, kesit alma ve boyama işlemlerinin tamamı KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuarları'nda gerçekleştirildi.

Alınan doku örnekleri 48 saat %10'luk nötral formalinde tespit edildi. Histopatolojik inceleme için dereceleri gittikçe artan alkol serilerinde dehidrate edildi ve xylen'de şeffaflaştırılarak parafin bloklara gömüldü.

Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Detaylı değerlendirilme için Hematoksilen-Eozin (H&E) (244) ve krezil viyole boyama yöntemi (245) ile boyandı. Preparatlar bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz uzman histolog tarafından ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Her bir gruba ait beyin dokusunda hipokampus bölgesi değerlendirildi. CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri normal ve dejeneratif nöron açısından 200X büyütmede değerlendirildi. Hücre gövdesinde büzüşme, koyu renkli sitoplazmalı, kondanse nükleuslu hücreler anormal nöronlar olarak değerlendirildi ve ışık mikroskop altında Analysis 5 Research program kullanılarak her 3 bölgede 200X büyütmede sayıldı (246).

### 3.2.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Veriler bilgisayara aktarıldı ve ''SPSS (IBM SPSS 28)'' programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunlukları "Kolmogorov-Smirnov" testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uymayan ikiden fazla değişkenin değerlendirilmesinde ''Kruskall-Wallis'' testi ve ikili değişken için ''Mann-Whitney U'' testi uygulandı. Sonuçlar "Medyan (çeyrekler arası aralık (IQR)) ve %25-75 çeyreklikler" olarak verildi. Histolojik analiz verilerinin değerlendirilmesinde üçten fazla bağımsız gruplarda "One-Way ANOVA" testi kullanıldı. Gruplar arasındaki ilişkinin ortaya konabilmesi için ''post-hoc Tukey'' analizi kullanıldı. Histoloji sonuçları "ortalama ± standart hata" olarak verildi. $p<0.05$, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

# 4. BULGULAR

## 4.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları

Diyabet oluşturulmamış (kontrol ve LTN grubu) ve NA/STZ ile diyabetik oluşturulmuş (DM ve DM+LTN grubu) sıçanların başlangıç (0. Gün) ve tedavi bitimi (28. gün sonu) ağırlıkları Tablo 8'de gösterilmektedir. Deneyi başlangıcında diyabetik olan ve olmayan sıçanların ağırlıkları arasında anlamlı bir fark mevcut değildi ($p>0.05$). Deneyin bitim günü ise DM grubunun ağırlıkları kontrol grubundakilere olarak anlamlı düşüktü ($p<0.05$). Ancak LTN grubunun kontrole göre ve DM+LTN grubunun da DM'ye göre ağırlıkları istatistiksel bir farklılık göstermedi ($p>0.05$). Grupların başlangıç ve son ağırlıkları değerlendirildiğinde diyabetik sıçanlardaki kilo artışının diyabetik olmayan sıçanlara göre daha az olduğu belirlendi.

**Tablo 8.** Deney gruplarının ağırlıkları (n=8)

| Ağırlık | Kontrol | LTN | DM | DM+LTN |
|---|---|---|---|---|
| 0. gün (g) | [197 (17)] (188-205) | [187 (26)] (178-204) | [192 (19)] (185-204) | [193 (24)] (179-203) |
| 28. gün (g) | [240 (14)] (231-245) | [237 (18)] (230-247) | [206 (35)] [a,b] (183-218) | [190 (22)] [a,b] (181-204) |

Sonuçlar: [Medyan (IQR)] ve (% 25-75 çeyreklikler) şeklinde verildi. p değeri 'Mann Whitney U' testine göre belirlendi

[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

## 4.2. Glukoz ve Lipid Parametrelerinin Seviyeleri

Deney gruplarının serumlarında ölçülen glukoz, trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyeleri Tablo 9'da görülmektedir. Diyabetik sıçan gruplarında glukoz seviyeleri tedavi başlamadan önce ve tedavi bitiminden sonra diyabetik olmayan gruplara göre anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Ayrıca DM grubunda TG, TK ve HDL-K seviyeleri de kontrole göre anlamlı yükseklikte farklılık gösterdi ($p<0.05$). LTN tedavileri diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanların glukoz ve lipid seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

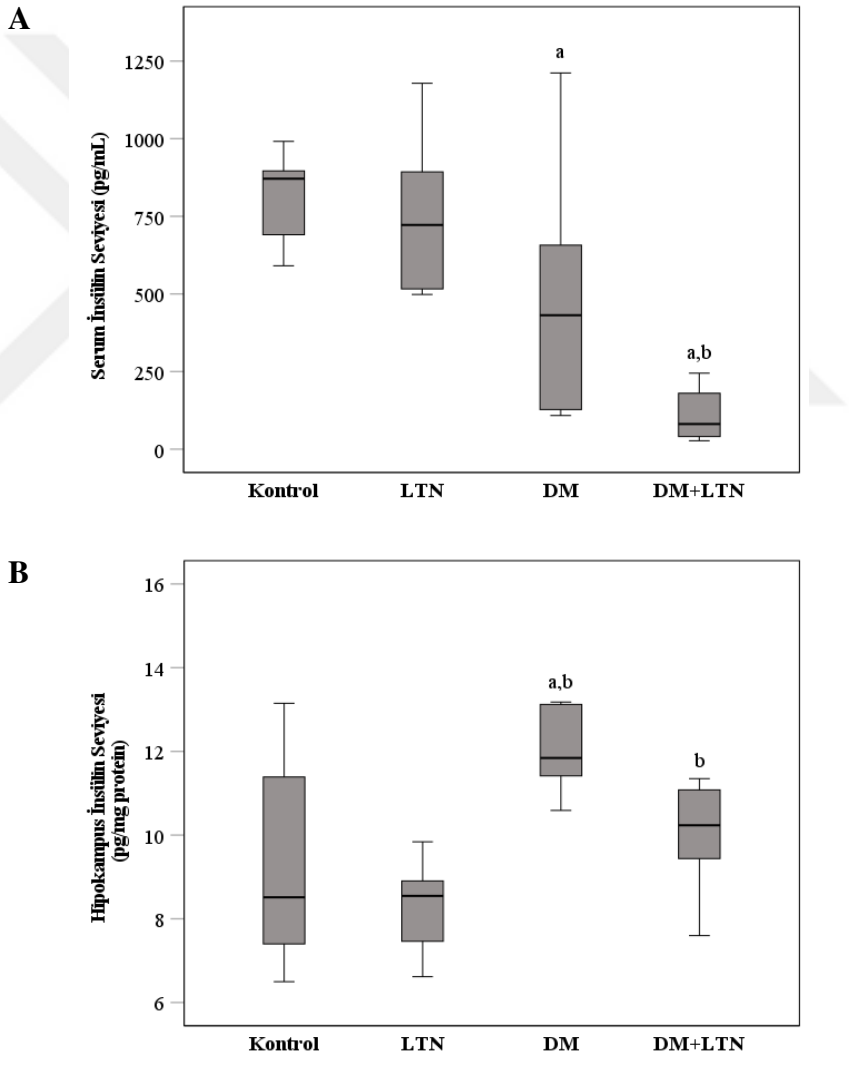
**Tablo 9.** Deney gruplarında glukoz ve lipid parametrelerinin seviyeleri (n=8)

| Parametre | Kontrol | LTN | DM | DM+LTN |
|---|---|---|---|---|
| Glukoz $_{0.}$ (mg/dL) | [100 (8)] (95-103) | [105 (13)] (96-109) | [375 (192)] [a,b] (302-494) | [370 (147)] [a,b] (304-452) |
| Glukoz $_{28.}$ (mg/dL) | [119 (20-25)] (108-128) | [114 (10)] (110-120) | [180 (130)] [a,b] (155-412) | [234 (179)] [a,b] (136-316) |
| TG (mg/dL) | [88 (23)] (76-99) | [94 (43)] (76-119) | [107 (18)] [a] (101-119) | [92 (40)] (82-122) |
| TK (mg/dL) | [53 (5)] (51-56) | [50 (12)] (48-60) | [63 (8)] [a,b] (57-65) | [62 (12)] [b] (55-67) |
| HDL-K (mg/dL) | [30 (5)] (27-32) | [28 (9)] (26-35) | [35 (6)] [a,b] (32-38) | [35 (7)] [a] (29-36) |
| LDL-K (mg/dL) | [17 (3)] (17-20) | [17 (2)] (16-18) | [21 (4)] [b] (19-23) | [20 (8)] [b] (17-25) |

Sonuçlar: [Medyan (IQR)] ve (% 25-75 çeyreklikler) şeklinde verildi. p değeri 'Mann Whitney U' testine göre belirlendi
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

### 4.3. İnsülin Seviyeleri

Deney gruplarında serumda ve hipokampus dokusunda insülin seviyeleri Şekil 8'de verilmiştir. Serum DM grubunun insülin seviyesi kontrole göre anlamlı derecede düşük bulundu (p=0.040). DM+LTN grubunda ise DM'ye göre düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.055). Doku İnsülin seviyeleri açısından DM grubu kontrol grubuna göre p=0.006 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artmış seviyelere sahipti. Doku DM+LTN ise insülin seviyesi DM'ye göre düşük bulunmasına rağmen istatistiksel oalarak anlamlı değildi (p=0.055).



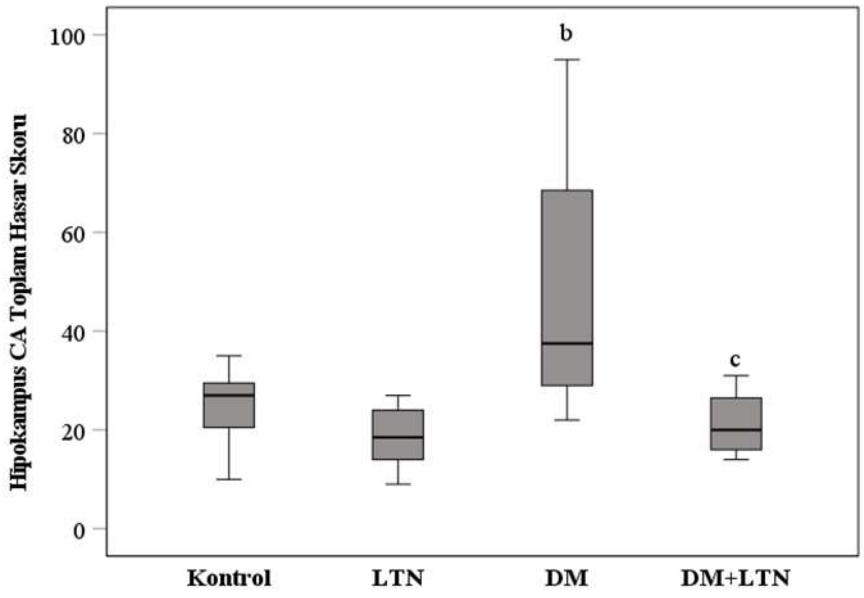

**Şekil 8.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) insülin seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

### 4.4. Histopatolojik Bulgular

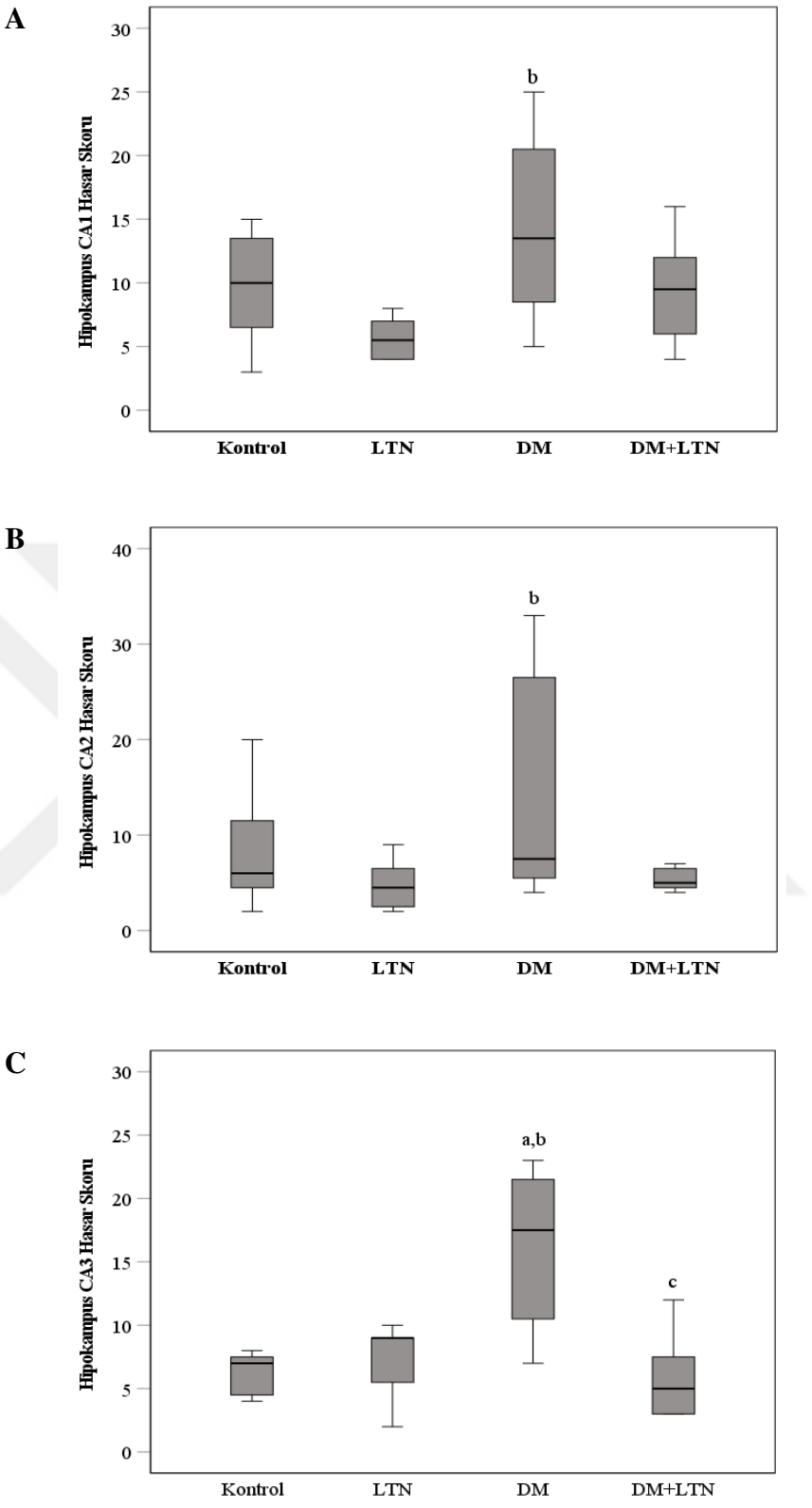
Deney gruplarında hipokampus dokusu toplam hasar skoru Şekil 9'da, CA1, CA2 ve CA3 bölgelerindeki hasar skorları ise Şekil 10'da gösterilmiştir.

DM grubunda hipokampus hasar skoru CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri bir arada değerlendirildiğinde kontrole göre yüksek bulundu (p=0.058). Fakat istatistiksel olarak hasar skoru anlamlı yükseklik sadece CA3 bölgesinde tespit edildi (p=0.006). LTN diyabetik ve diyabetik olmayan gruplarda tüm bölgelerde hasarı azaltıcı etki sergiledi. Fakat DM+LTN'de DM grubuna göre anlamlı farklılık sadece toplam skorda ve CA3 bölgesindeki verilerinde elde edildi (sırasıyla p=0.004 ve p=0.001).

Ayrıca mikrografik görüntülemede göründüğü gibi DM grubunda kontrol grubuna göre anormal piramidal nöronlar hakimdi, özellikle de CA3 bölgesinde. Diğer taraftan kontrol, LTN ve DM+LTN gruplarında normal piramidal nöronlar hakimiyeti olmasına rağmen LTN grubunda çok az sayıda anormal piramidal nöronlar mevcut idi (Resim 1).

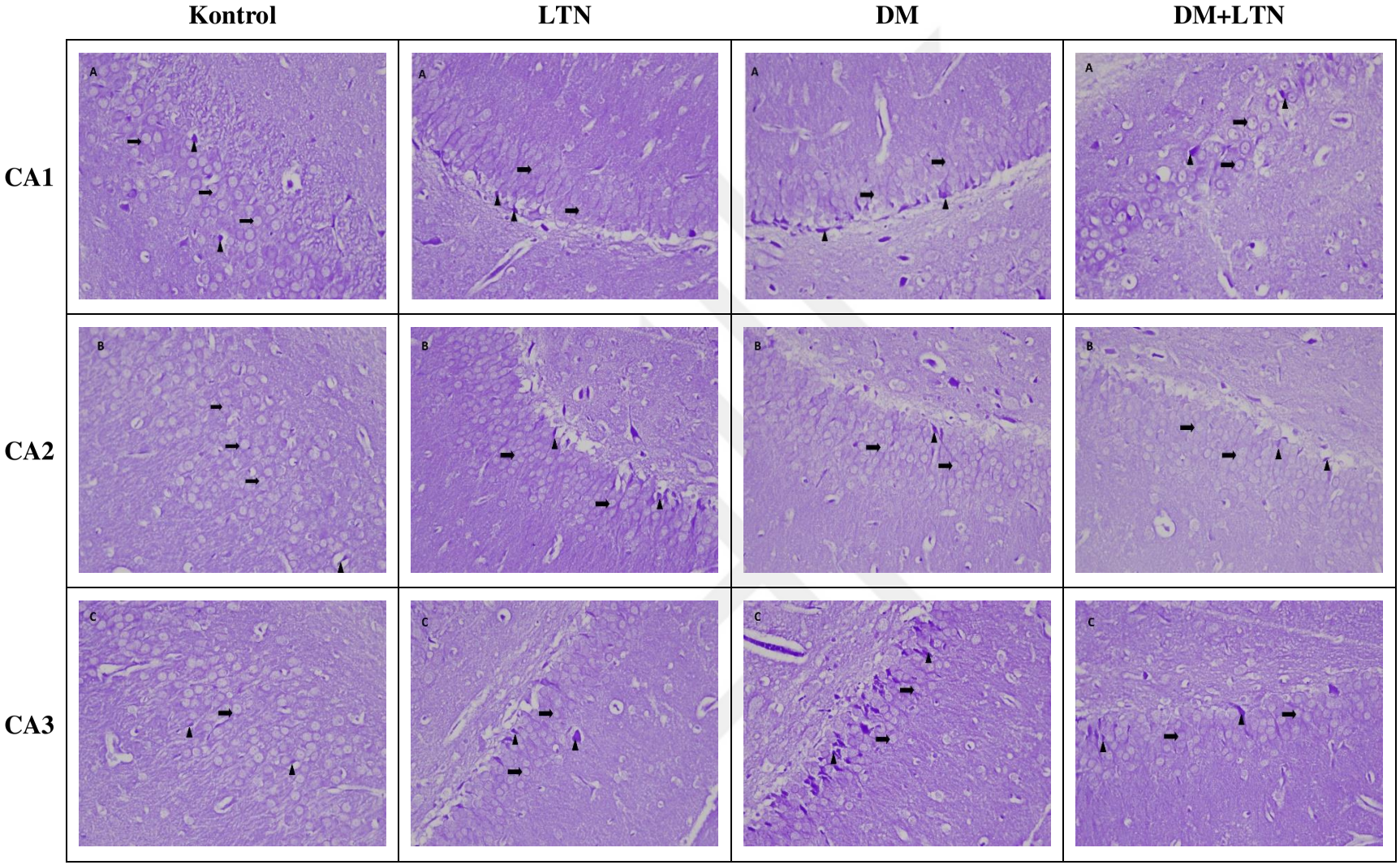



**Şekil 9.** Deney gruplarında hipokampus dokusu toplam hasar skorları
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)




**Şekil 10.** Deney gruplarında hipokampus bölgeleri (A: CA1; B: CA2; C: CA3) hasar skorları

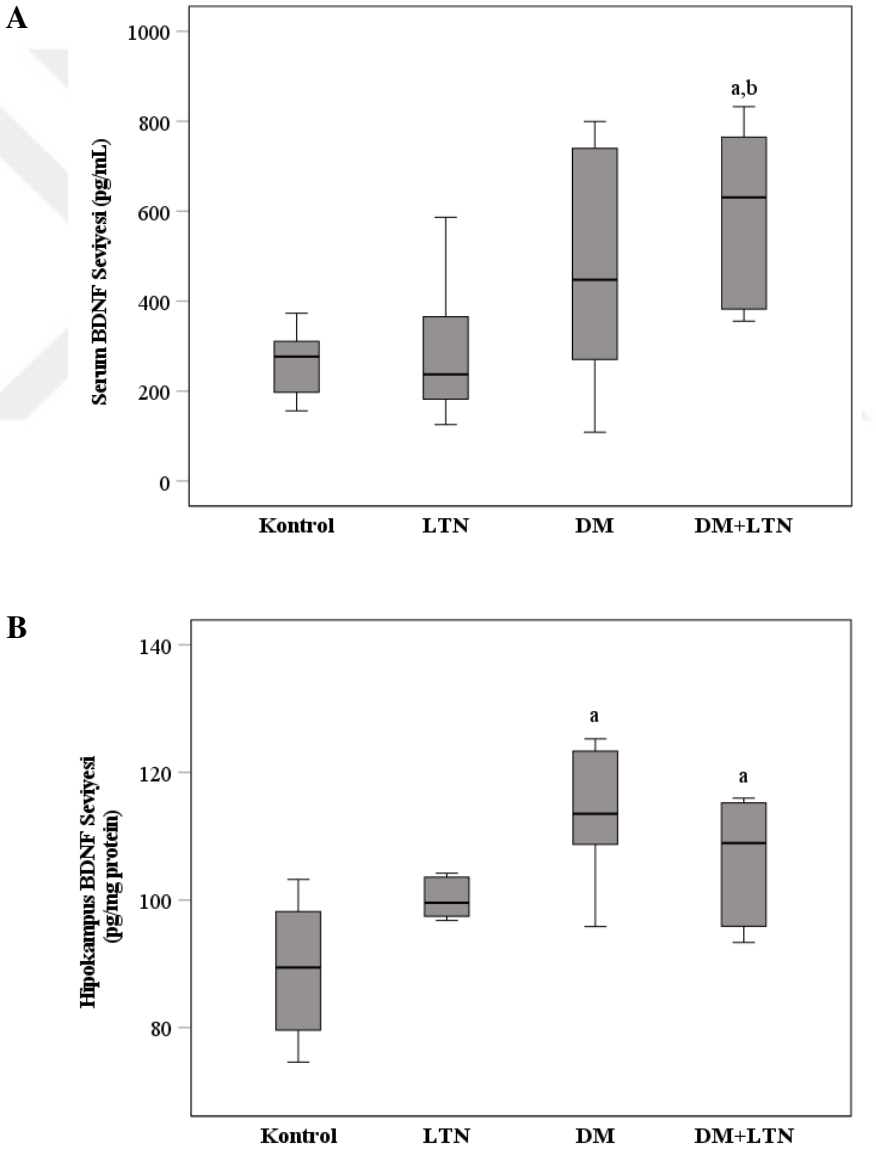
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)




**Resim 1.** Deney grupları hipokampus dokusu kesitleri fitomikrograf görüntüleri
➡ : Normal piramidal nöronlar; ▲: Anormal piramidal nöronlar (Krezil Viyole X 200)

### 4.5. BDNF Seviyeleri

Deney gruplarında serumda ve hipokampus dokusunda BDNF seviyeleri Şekil 11'de gösterilmiştir. Serum DM grubunda BDNF seviyesi kontrole göre artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.810). Deney hayvanlarındaki DM+LTN grubuna ait serum BDNF seviyesi DM'ye göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (p=0.210). Doku BDNF seviyeleri DM grubu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artışa sahipti (p=0.003). Dokuda DM+LTN grubuna ait BDNF seviyesi DM'ye göre düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.409).

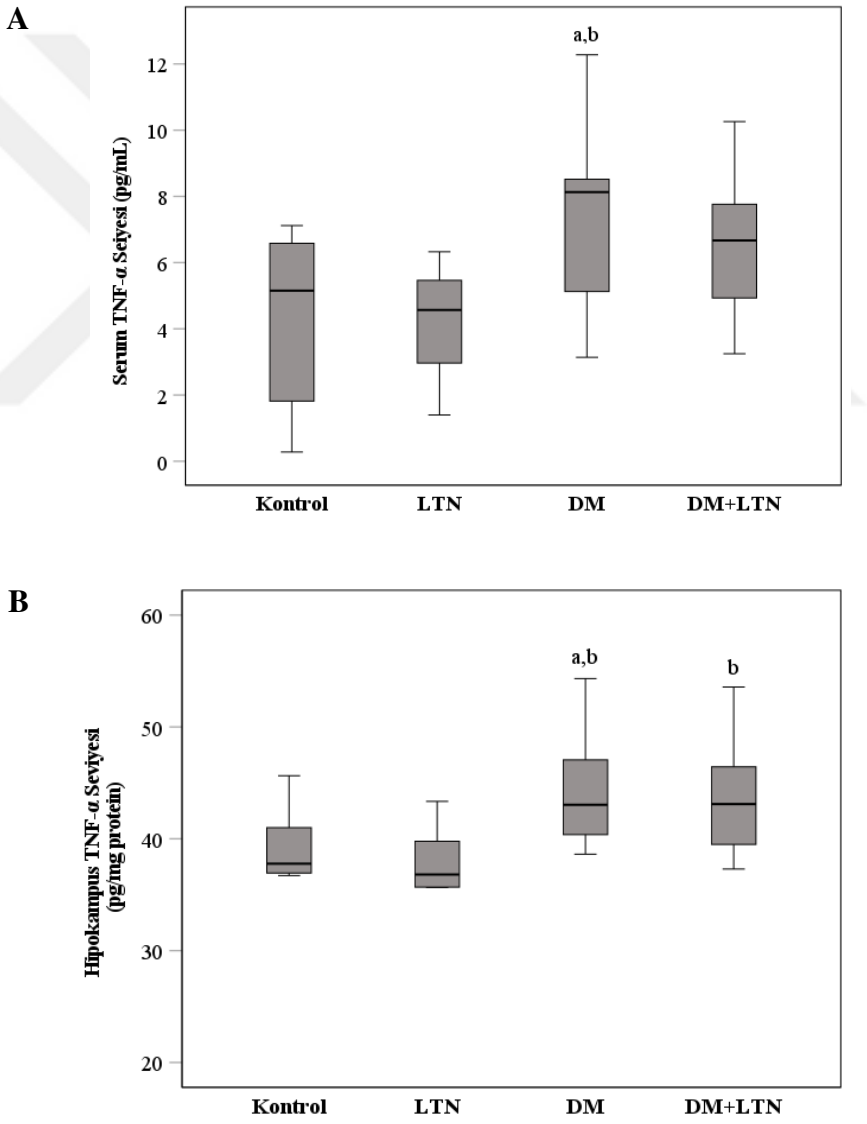



**Şekil 11.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) BDNF seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)

### 4.6. TNF-α Seviyeleri

Deney gruplarında serumda ve hipokampus dokusunda TNF-α düzeyleri Şekil 12'de gösterilmiştir. Serum TNF-α düzeyi DM grubunda kontrole göre anlamlı bir artışa sahipti (p=0.035). DM+LTN'nin serumdaki TNF-α seviyesi DM grubuyla karşılaştırlıdığında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark bulunmadı (p=0.585).

DM grubundaki doku TNF-α seviyesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p=0.023). Doku TNF-α seviyesi DM+LTN grubunda DM ile kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0.749).

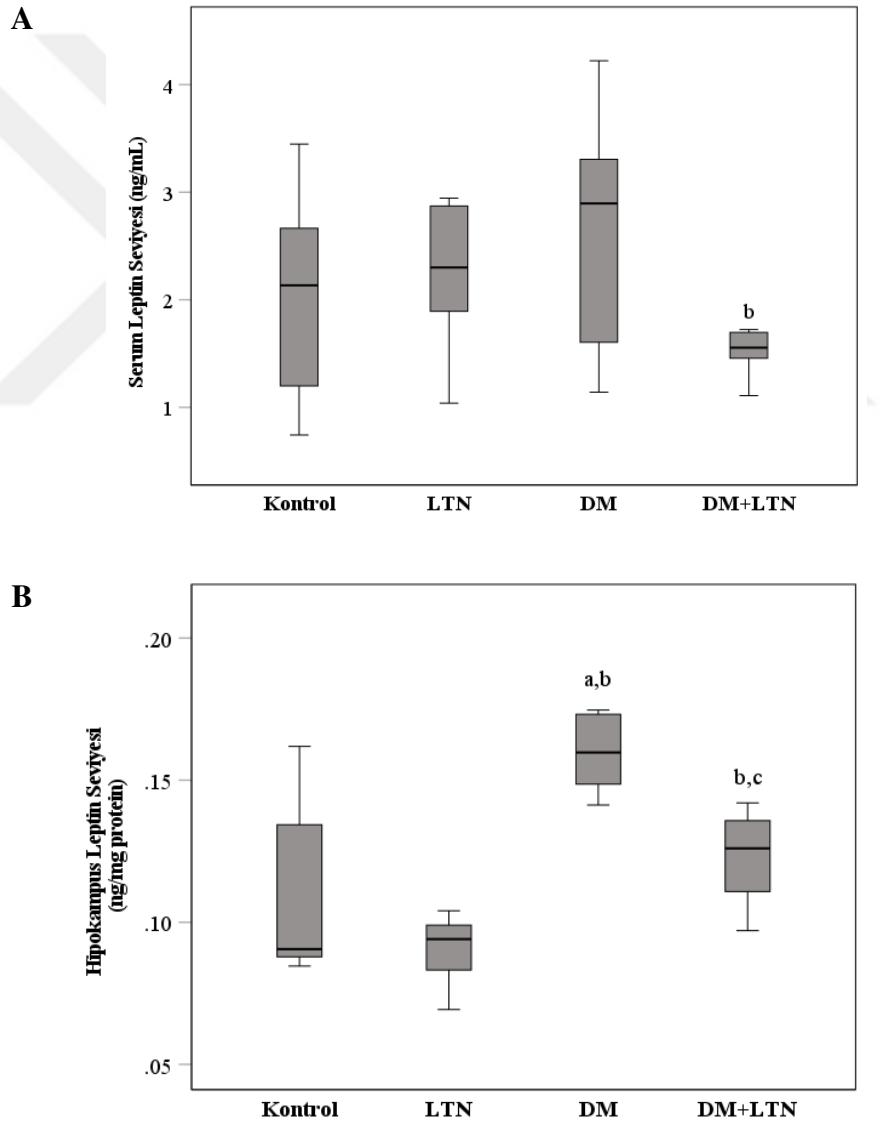



**Şekil 12.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) TNF-α seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

### 4.7. Leptin Seviyeleri

Deney gruplarında serumda ve hipokampus dokusunda leptin seviyeleri Şekil 13'te gösterilmiştir. Serum DM leptin seviyesi kontrol grubundan istatistiksel olarak farklılık göstermedi (p=0.172). Buna ilaveten serum leptin seviyesi DM+LTN grubunda DM'ye göre düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.074).

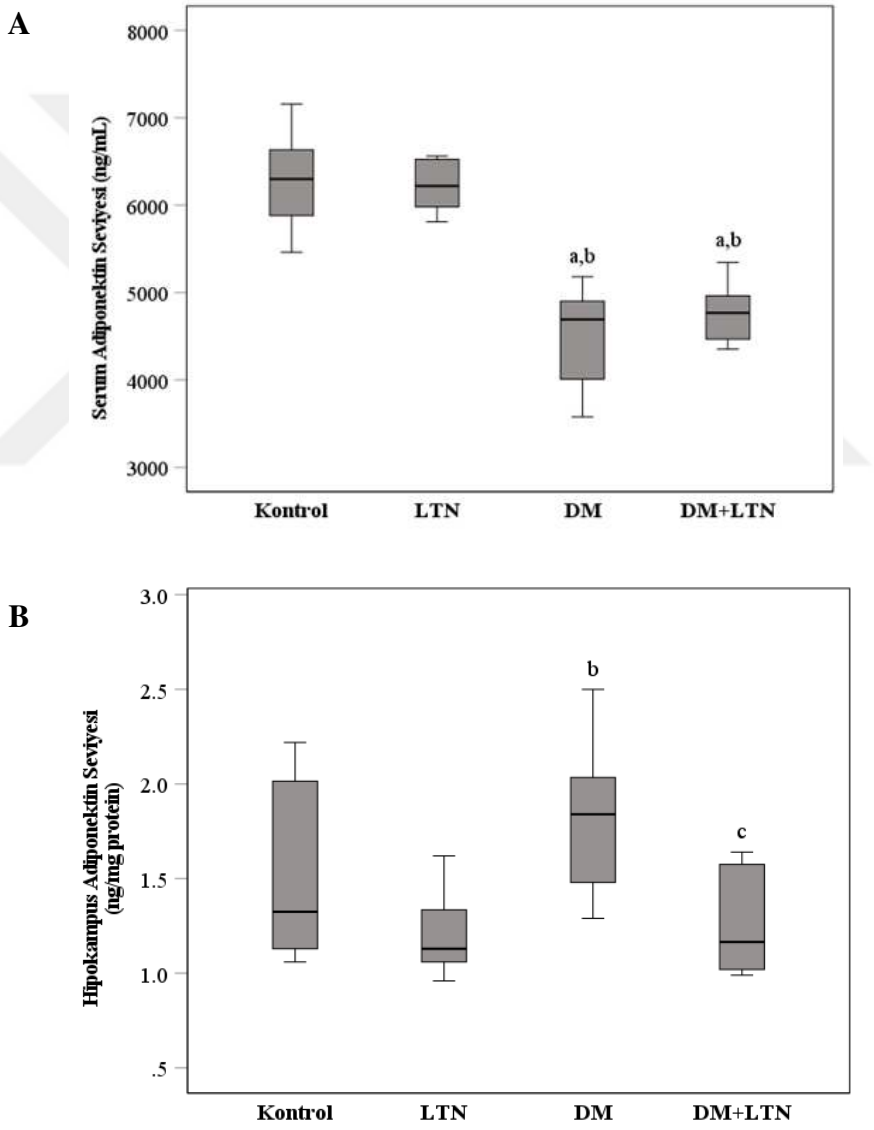
Dokuda ve DM grubundaki leptin seviyesi kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi (p=0.001). Bunun yanı sıra DM+LTN grubundaki leptin seviyesi DM'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü (p=0.033).




**Şekil 13.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) leptin seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

### 4.8. Adiponektin Seviyeleri

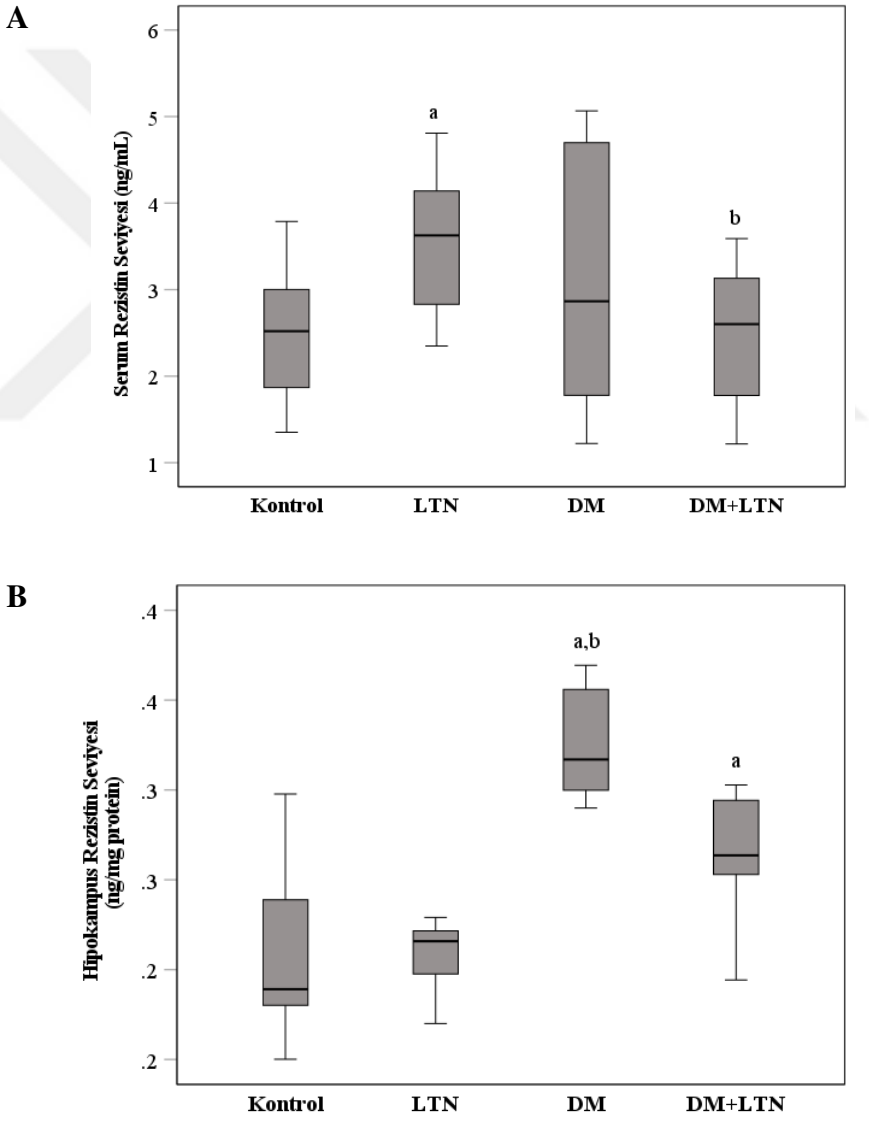
Serum adiponektin seviyeleri DM grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu (p=0.001). DM+LTN grubundaki serum adiponektin seviyesi DM ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0.749). Doku DM grubundaki adiponektin seviyesinin kontrole göre anlamlı farkı yokken (p=0.196), adiponektin seviyesi DM+LTN grubunda DM'ye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p=0.015) (Şekil 14).




**Şekil 14.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) adiponektin seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).

### 4.9. Rezistin Seviyeleri

Deney gruplarında serumda ve hipokampus dokusunda rezistin seviyeleri Şekil 15'te gösterilmiştir. Serum DM grubuda rezistin seviyesi kontrole göre yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.529). DM+LTN grubu DM'ye göre düşük rezistin seviyesine sahip olsa da bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.401). Doku DM grubundaki rezistin seviyesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p=0.001). Bunun yanı sıra DM+LTN grubu DM'ye göre düşük rezistin seviyesine sahip olup bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.055).




**Şekil 15.** Deney gruplarında serumda (A) ve hipokampus dokusunda (B) rezistin seviyeleri
[a]: Kontrol; [b]: LTN; [c]: DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

DM, hiperglisemi ile karakterize, her geçen yıl görülme sıklığı artan global epidemik bir halk sağlığı sorunudur. Bu hastalıkta, beyin dahil birçok organda patolojik komplikasyonlar görülmektedir (247). Diyabet, beyin mikrovaskülatöründe değişikliğe ve kan-beyin bariyerinde işlev bozukluğuna neden olur (248). Bu bariyerin bozulduğu yerlerden birisi de hipokampustur (249). Bu nedenle bazı moleküllerin ve endokrin sinyallerin geçişi kolaylaşır (248). Neticede, DM'de hipokampusta nöronal kayıp nedeniyle öğrenme, hafıza ve algıda zorluklar yaşanabilmektedir (250).

Hipokampusa ve astrositlere glukoz girişinin GLUT4 ile olduğu düşünülmektedir (7). Glukoz, beyin için sadece ATP üretimi sağlayan molekül olmakla kalmaz, aynı zamanda nörotransmitterlerin ve nöromodülatörlerin sentezi için de gereklidir (251). Ayrıca hipokampus hacmini ve fonksiyonunu da etkileyebilmektedir (252). İnsülin, glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde etkili bir hormon olup, beyin gelişimi ve nörojenik kontrolü için önemli bir trofik faktördür. İnsülinin pankreas β hücrelerine ilaveten, nöronlar ve hipokampusun olgun nöral progenitör hücreleri tarafından sentezlendiği ve salgılandığı raporlanmıştır. Hipokampustaki insülin kademesindeki değişiklikler hipokampus proteinlerini ve dolayısıyla fonksiyonlarını etkiler (7). Nöronal insülin sinyali, esas olarak glutamat reseptör trafiğini düzenleyerek, sinaptik plastisite ve hafızayı etkiler (13).

LTN, L-tipi amino asit taşıyıcıları vasıtasıyla kan-beyin bariyerini geçebilmektedir (253) ve hipokampal nöronları uyarmaktadır (254). Sıçanlara 4 g/kg LTN verilerek yapılan bir çalışmada, verilmeyen gruba göre, karaciğerde etilamin, glutamin, glisin ve fenilalanin; beyinde etilamin ve glutamin; ve serumda etilamin, glutamik asit ve aspartik asit seviyelerinin yüksek, metiyonin ve lizinin düşük olduğu belirlenmiştir (255). Beyinde glutamin, hem uyarıcı hem de inhibe edici nörotransmitterlerin (glutamat ve γ-aminobütirik asit) üretimi için ana substrattır. Ayrıca, hücredeki ATP'nin ana kaynağı olan trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne doğrudan beslendiği için sinir sistemi için hayati bir enerji kaynağıdır (256). Diğer taraftan antioksidan olan glutatyonun sentezi için gereklidir. Bu yönü ile astrositleri oksidatif strese karşı korumaktadır (257). Astrositler, MSS'de en bol bulunan hücre tipidir. Normal beyin fonksiyonunun sürdürülmesine katılırlar ve nöronlar, oligodendrositler ve endotel hücreleri ile sürekli iletişim halindedirler. Ayrıca glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde kritik öneme sahiptirler. Adipokinler ile olası

bir rolü olduğu düşünülmektedir (258). Yapılan bir çalışmada i.p. LTN uygulanan farelerde, beyaz adipoz dokusunun kahverengileşmesini sağladığı ortaya koyulmuş ve bu yolla da LTN'in enerji harcanmasına katkı sağladığı ifade edilmiştir (259). Japonlar üzerinde yapılan bir araştırmada ise LTN'nin metaboliti olan etilamin seviyesi yüksek olanlarda düşük T2DM riski olduğu belirlenmiştir (21).

DM'de hipokampal nöroplastisiteyi etkileyen, nöroregülatör etkiler sergileyen adipositokinlerin düzeylerinde de değişiklikler olmaktadır (16). DM'nin adipositokinler ve beyin hipokampal fonksiyonlarına etkileri göz önüne alınarak, bu çalışmada LTN'nin diyabet oluşturulmuş sıçanlarda hipokampus ve serumda BDNF ve adipositokinleri üzerine etkileri incelendi.

Çalışmamızda DM oluşturmak için sıçanlara 120 m/kg i.p. NA enjeksiyonundan 15 dk. sonra tek doz i.p. 60 mg/kg STZ enjeksiyonu yapıldı (260, 261). İki gün sonra kuyruk kanı glukoz değeri 250 mg/dL olan sıçanlar diyabetik kabul edildi. Bu DM modeli, insan DM'ye benzer özellikler sergilediğinden, hiperglisemi çalışmalarına iyi bir model olarak kabul edilmekte ve bu nedenle akut/kronik çalışmalar için deneysel DM modeli oluşturmakta yaygın olarak kullanılmaktadır (261). T1DM ve T2DM modeli oluşturmakta kullanılan STZ, glukozamin nitrozüre olan bir ilaç olup, pankreas için oldukça toksiktir; glukoz metabolizmasını ve insülin sekresyonu etkilemektedir. Bu ilaç, glukoza benzer olduğundan β hücrelerinde yüksek düzeyde olan GLUT-2 vasıtasıyla hücreye girer (260). Pankreas β hücrelerinde DNA alkilasyonuna ve nihayetinde hücre ölümüne neden olmaktadır (262). STZ'nin sitotoksik etkisine, apoptoz aktivasyonu ve insülin sentezinin zayıflaması yoluyla β hücrelerine zarar veren oksidatif hasara neden olan aşırı reaktif oksijen türlerinin üretimi aracılık eder. DM kaynaklı modelde STZ öncesi NA enjeksiyonu ise STZ'nin β hücreleri üzerindeki yıkıcı etkisini hafifletir. NA/STZ ile indüklenen DM'de hem insülin sekresyonunda bozulma hem de T2DM'nin karakteristik özelliği olan insülin direncinde bozulma meydana gelmektedir (260).

Çalışmamızda LTN çözeltisi, literatürdeki çalışmalar göz önüne alınarak 200 mg/kg/gün olacak şekilde LTN ve DM+LTN gruplarına 28 gün boyunda gavaj ile verildi. Daha önce yapılan çalışmalarda 50, 200 ve 400 mg/kg/gün oral LTN uygulanmıştır. Bu çalışmaların sonucuna göre LTN'nin koruyucu etkiler gösterdiği dozunun özellikle 200 mg olduğu ifade edilmiştir, dolayısıyla 200 mg/kg/gün LTN uygulamasına karar verildi (20, 203, 236).

Bu çalışmada, başlangıçta deney grupları ağırlıkları arasında anlamlı bir fark yokken, 28'inci gün sonunda diyabetik gruplarda kontrollere göre daha düşük ağırlık tespit edildi. Ayrıca başlangıç ağırlıklarına göre diyabetik sıçanlar kontrollere göre daha az kilo aldı. Diğer taraftan LTN takviyesi sıçan ağırlığı üzerinde anlamlı bir etki göstermedi.

Diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre serum glukoz düzeyleri daha yüksek iken, serum insülin düzeyleri daha düşüktü (Tablo 9, Şekil 8A). İnsülin azalmasının nedeni STZ'nin insülin üretim merkezi olan pankreas hücrelerine gösterdiği hasarlayıcı etiye bağlanabilir (263). Normalde, pankreastan salınan insülin serebral biyoenerjetiği etkilemektedir; sinaptik canlılığı ve dendritik omurga oluşumunu artırmakta, amiloid β peptidinin temizlenmesinde ve tau'nun fosforilasyonunu etkileyen proteostazda da rol oynamaktadır. İnsülin yetersizliği ise nörodejenerasyona katkıda bulunmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda insülin, reseptör aracılı taşıma yoluyla kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilmekte iken geçiş hızı obezite, inflamasyon gibi durumlardan etkilenmektedir. Diğer taraftan, kemirgenlerde insülin mRNA'sı hipokampusta da tespit edilmiştir (264-266). Çalışmamızda da hipokampusta insülin seviyesinin DM ile arttığı gözlendi (Şekil 8B). Bu da pankreastan bağımsız bir sentez olabileceğini göstermektedir. Ancak insülin seviyesi artsa da DM'de hipokampusta insülin rezistansı muhtemiyeti ile hipokampus fonksiyonları etkilenmiş olabilir (267).

LTN'in, diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanlara glukoz seviyelerine anlamlı bir etki yapmaz iken insülin seviyelerini düşürdüğü tespit edildi (Tablo 9, şekil 8A). Pankreas β hücre kültürü ile yapılan bir çalışmada LTN'in insülin sekresyonunu artırdığı bulunmuştur (268). Ancak diğer bir çalışmada sıçan ince bağırsağında amino asitlerin emilimi ile ilgili genlerin ekspresyonunu baskılayarak amino asitlerin emilimini engellediğini, bağırsakta glukoz taşıyıcılarını inhibe ettiğini ve bu yolla serumda glukoz ve insülin düzeylerini düşürdüğü ifade edilmektedir (20). Primer aminlerin pankreastan insülin salınımını engellediği ifade edilmektedir (269). Serumdaki (anlamlı düzeyde) ve hipokampustaki (anlamlı olmayan düzeyde) insülin seviyesinin azalması LTN metaboliti primer amin olan etilamin artışı muhtemeliyetine bağlanabilir.

Serum lipid parametrelerinin diyabetik grupta arttığı gözlendi (Tablo 9). STZ ile uyarılan diyabetik sıçanların lipid parametrelerinin seviyelerinde artış olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (270). Serum lipid anormallikleri (dislipidemi), insülin eksikliği veya insülin direncinden bağımsız olarak diyabetiklerde yaygın olarak görülür.

Hiperkolesterolemiden ziyade hipertrigliseridemi daha yaygındır (271). LTN tedavisi lipid parametrelerine anlamlı bir etki göstermedi. Ancak Lin ve ark. (272) 28 gün boyunca 200 mg/kg LTN verilen sıçanlarda kolesterol sentezinin kontrol enzimi olan HMG-CoA redüktaz ekspresyonunun anlamlı arttığını, ancak TK, TG, HDL-K seviyeleri istatistiksel olarak farklılık göstermezken LDL-K seviyesinin anlamlı düştüğünü bulmuşlardır.

DM grubumuzda hipokampusun CA1, CA2 ve CA3'ün hasar skorunda ve bunların toplam skorunda kontrol grubuna göre artış mevcut idi (Resim 1). Ayrıca dejeneratif piramidal nöronlarda artış tespit edildi. Özellikle CA3 bölgesinde dejenerasyon daha belirgindi. CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri hipokampustaki başlıca piramidal hücre alanlarıdır. Genellikle hafıza ve hatırlama ile igili fonksiyon görürler (6). STZ kaynaklı DM'de de öğrenmeyi ve hafıza performansının bozulduğu, hipokampal nörogenezin azaldığı belirtilmektedir (182). Hiperglisemi ve hiperinsülinemiye bağlı olarak gelişen kan damarlarındaki mikro ve makrovasküler değişiklikler, patolojik anjiogenezi arttırır ve vasküler endotel hücre apoptozuna neden olur (273).

LTN tedavisi ile diyabetik sıçanlarda dejenerasyonun anlamlı azaldığı tespit edildi (Resim 1). Histopatolojisinde normal piramidal nöronlar arasında az miktarda dejeneratif nöronlar gözlendi. Benzer şekilde, Chandrasekhar ve ark. (274) LTN'nin farelerde kronik stres ile uyrarılmış nöroinflamasyona karşı koruyucu etki sergilediğini, hipokampusta apoptozu azalttığını göstermişlerdir.

BDNF hipotalamus, korteks, beyinsapı ve hipokampusta eksprese olur (273). Ayrıca, lökositler, trombositler ve endotel hücrelerinde de eksprese olmaktadır. Dolaşımdaki BDNF'nin önemli bir kısmı lökosit ve trombosit kaynaklıdır (12, 275, 276). BDNF, insülin ve lipid metabolizmasında ve kardiyovasküler homeostazda hayati rol alır (275). Esas olarak nöronal hücrelerden salınan nörotropik faktör BDNF, merkezi sinir sisteminde strese bağlı nöronal hasarın oluşmasına karşı kruyucu etki sergiler (276). Ayrıca, MSS'de nöronal hücre hayatı için ve sinaptik plastisite için önemlidir. Buna ilaveten, beyinde öğrenme ve hafıza fonksiyonları ile ilişkilidir. Diyabette beyinde BDNF'nin düşük salgılanması ve ileri glikasyon ürün reseptörlerinin (RAGE) artması serebrovasküler işlev bozukluklarına ve bilişsel gerilemeye yol açar (273).

Çalışmamızda BDNF düzeyleri diyabetik sıçanlarda serumda ve hipakampusta kontrol grubuna göre yüksek bulundu (Şekil 11). STZ ile oluşturulmuş DM'de BDNF düzyelerinin düştüğünü belirten birçok çalışma olmasına rağmen yükseldiğini belirten

yayınlar da mevcuttur. BDNF'nin antioksidan savunmanın bir parçası olarak oksidatif stres ile arttığı raporlanmıştır. Nöronal dejenerasyona geçici yanıt olarak BDNF artabilir (12, 262), STZ'nin hipokampusta BDNF sekresyonunu arttırdığı da beyan etmiş ve bunu da hasar oluştuğunda astrositlerde BDNF ekspresyonu ve salgılanmasının artmasına bağlamışlardır. Çünkü, astrositler, nöronlar tarafından salınan pro-BDNF'yi BDNF'ye dönüştürebilir (262, 275). T2DM hastalarında serum BDNF seviyesinin daha yüksek olduğu ve HOMA-IR ile doğru orantı gösterdiğini ifade edilmiştir. Serumdaki BDNF artışı kan hücreleri kaynaklı olabilir. Çünkü, DM'de oluşan AGE, trombositlerden BDNF salınımını artırmaktadır (277).

LTN diyabetik sıçanlarda serumda BDNF seviyesini yükseltirken hipokampusta anlamlı bir etki sergilemedi (Şekil 11). LTN diyabetik olmayan sıçanlarda ise serum ve hipokampusta BDNF düzeylerini yükseltmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi. LTN, antipsikotik ve antidepresan benzeri etkilerin hipokampusta BDNF'yi indüklemesine ve NMDA reseptörü antagonisti etkisine bağlanmıştır (22). Hücre içi $Ca^{2+}$ konsantrasyonundaki bir artış, kalmodulin kinaz II'nin (CaMKII) aktivasyonunda rol oynar ve sonuçta BDNF ekspresyonunda bir artış olur. NMDA reseptörü üzerindeki glisin modülatör bölgesi, şizofreni hastalarının tedavisi için en çekici terapötik hedeflerden biridir. LTN'nin ayrıca AMPA ve kainat reseptörleri gibi diğer glutamat reseptörlerine de bağlandığı gösterilmiştir (22). Baba ve ark. (17), 12 haftalık LTN alımının dikkati geliştirdiği, sorulan sorulara doğru cevapları arttırdığı, ancak serum BDNF seviyesine anlamlı bir etki etmediğini bulmuşlardır. BDNF, nöronlardan glutamat salımını indükler iken glutamat ise BDNF ekspresyonunu arttırmaktadır (255, 278), Astrositlerde glutamin ile BDNF seviyesinde artış olduğu belirtilmiştir (257).

TNF-α, esas olarak makrofaj ve adipositlerden salınan pro-inflamatuvar ortamı düzenleyen ana sitokinlerden biridir (279, 280). Diğer sitokinlerin salınımını da teşvik etmektedir (281). Fagositoz, apoptoz, çoğalma, mitokondriyal dinamik gibi çeşitli hücre fonksiyonları ile ilişkilidir. Çözünür TNF ve transmembran TNF olmak üzere iki aktif formu mevcut olup TNFR1 ve TNFR2 reseptörleri ile etkileşimleri ile mekanizmaları yönlendirir (279, 282). Pankreastan insülin salınımını azaltıcı yönde etki gösterdiği ifade edilmektedir (283). Beyinde nöronlar, mikroglia ve astrositlerden de salınır (282, 284). Astrositik ve mikroglial TNF-α'nın inflamatuvar koşullarda salınımı nörodejeneratif hastalıkların bir özelliğidir (285). Yüksek TNF-α konsantrasyonu TNFR1 aktivasyonu ile

glutamat taşıyıcılarını bloklayabilir glutamat nörotoksikliğine yol açabilir. Sitokinlerin yükseldiği, inflamasyon esnasında hafıza mekanizmalarına, ilişkili davranışlara ve homeostatik plastisiteye zarar verir (285).

Bu çalışmada serum ve hipokampusta DM grubunda kontrole göre TNF-α seviyelerinde artış gözlendi (Şekil 12). Benzer şekilde Sedky ve ark. (286) STZ ile uyarılan diaybetik sıçanlarda serum ve hipokampus TNF-α seviyesini yüksek bulmuşlardır. Yine Xianchu ve ark. (287) STZ ile diyabetik yapılan sıçanlarda hipokampusta TNF-α mRNA ekspresyonunun arttığını tespit etmişlerdir. DM'de adacıklarda makrofaj infiltrasyonu artmasıyla (288) sitokin salınımı artmaktadır. Bu da apoptoz ve β hücre kaybına, ve akabinde insülin yetersizliğine neden olmaktadır (289, 290).

LTN tedavisi TNF-α seviyesini düşürücü yönde meyil göstermiş olsa da bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 12). LTN'nin TNF'yi düşürücü etki sergileyerek antiinflamatuvar özellikler sergilediğini ifade eden çalışmalar mevcuttur (291, 292). LTN, glutamin metabolizmasını ve inflamatuvar proteinlerin ekspresyonunu baskılayarak immün mekanizmaları düzenlediği belirtilmektedir (293).

Adipositlerde üretilip salgılanan leptin, kan yolu ile beyne gelerek burada kan-beyin bariyerini geçebilmektedir (294). Bariyerini aşan leptin beyne, muhtemelen reseptör aracılı transsitoz yoluyla alınır. Leptin ayrıca beyin omurilik sıvısı yolu ile de beyne gelir (295). Adipositlere ilaveten, merkezi sinir siteminde hipotalamusta, hipokampusta, kortekste ve beyincikte de leptin mRNA ekspresyonları tespit edilmiştir (295). Hipotalamusta yeme ve enerji metabolizmasının, hipokampusta ise depresyonla ilgili davranışların düzenlenmesinde rol alır (294). Leptin reseptörleri hipokampusta astrositler ve nöronlar arasındaki iletişimi sağlar (14). Leptin, BDNF ile etkileşerek davranışları etkiler. Leptinin, özellikle hipokampusun CA1 bölgesinde NMDA ve AMPA reseptör trafiğini hedefleyerek sinaptik plastisiteyi düzenlediği ifade edilmiştir (13). Hiperleptinemi veya leptin direncinde hipokampal glutamerjik iletim etkilenir ve nöroplastisite bozulur (14). Leptinin hipokampusta astrosit morfolojisine ve glukoz alma kapasitesine de etkisi vardır (14).

Bu çalışmada diyabetik sıçanlarda leptin düzeyi serumda anlamlı fark göstermezken hipoklampus dokusunda arttı (Şekil 13). Onyemelukwe ve ark. (296), diyabetik olan ve olmayan kişilerde serum leptin konsanstrasyonları açısından anlamlı bir fark bulamadıklarını ifade etmişlerdir. Diğer taraftan Gulen ve Dincer (297), STZ-DM'li

sıçanlarda plazma leptin seviyesinin azaldığını gözlemişlerdir. Tersine, Aktaş ve ark. (298), STZ-DM'li sıçanlarda serum leptin seviyelerini kontrole göre yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda, diyabette serumda leptin seviyesi etkilenmezken, hipokampusta etkilenmesi, hipokampusta da sentezinin olduğunu ve buraya özel fonksiyonlar yürütebileceğini göstermektedir. Arıca hipokampusta leptinin artması diyabetik sıçanlarda leptin rezistansının artmış olabileceğini, yani leptin reseptör sinyalinin bozulmuş olabileceğini düşündürmektedir. Leptinin artışı, pro-iflamatuvar sitokin özelliğine sahip olduğundan dolayı, beyin fonksiyonlarını olumsuz etkileyebilir (299).

LTN takviyesi diyabetik sıçanlarda serum ve hipokampus leptin seviyeleri düşürürken DM olmayanlarda anlamlı etki sergilemedi (Şekil 13). LTN'nin leptin üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılamadı. Ancak bir çalışmada (259) LTN uygulanan farelerde adipositlerde α-ketoglutarat seviyesinin arttığı, beyaz adipoz dokusunun kahverengileşmesini sağladığı, obeziteyi iyileştirdiğini göstermişlerdir. Bu durum göz önüne alındığında serumdaki bu düşüş muhtemel olmaktadır. Bir çalışmada leptin geni ekspresyonunun yavru (10 günlük) sıçanlarda kahverengi yağ dokusunda daha yüksek iken, yetişkin sıçanlarda beyaz yağ dokusunda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (300). Diğer taraftan, Chen ve Song (301) glutamin seviyesi yüksek olan kişilerde leptin seviyesinin düşük olduğunu bulmuşlardır.

Adiponektin, adipositler tarafından salgılanan insan plazmasındaki en zengin adipokin olup hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkiler gösterebilir (302). Ayrıca, antioksidan, antifibrotik ve antiaterosklerotik etkilere de sahiptir (302, 303). Buna ilaveten enerji homeostazını, karbohidrat ve lipid metabolizmasını etkiler; insülin duyarlılığını düzenlemektedir (303). Metabolik etkilerini adiponektin reseptörleri vasıtası ile gerçekleştirir (303). Bu reseptörler hipokampusta da bol miktarda eksprese olur (182). Ayrıca adiponektin (özellikle düşük molekül ağırlık adiponektin) kan-beyin bariyerini geçebilmekte ve hipokampal hücre proliferasyonunu artırmaktadır (182). Diğer taraftan memeli beyninde adiponektin mRNA ekspresyonu ve proteini tespit edildiği de raporlanmıştır (13). Adiponektinin, hipokampus nöronlarında glukoz metabolizmasını düzenlediği, glukoz alımını, glikolizi ve ATP üretim oranlarını artırdığı bulunmuştur (258).

Çalışmamızda adiponektin seviyeleri diyabetik sıçanlarda serumda düşük iken hipokampusta yüksek olduğu gözlendi (Şekil 14). İnsülin direnci ile plazma adiponektin seviyeleri arasında ters bir ilişki olduğu iyi bilinmektedir. Diyabetik sıçanlarda adipoz

dokuda GLUT-4 ve adiponektin ekspresyon düzeyleri azaldığı bildirilmiştir (260). Ancak yapılan bir araştırmada T1DM ve mikrovasküler komplikasyonları olan hastalarda, komplikasyonsuz hastalara göre daha yüksek serum adiponektin seviyeleri tespit edilmiştir (304). Diğer bir çalışmada ise mikrokomplikasyonlu T2DM hastalarında yüsek bulmuşlardır (305). Diğer taraftan, Yau ve ark. (182), STZ ile DM oluşturulan fare hipokampusunda adiponektin seviyelerini düşük bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda diyabetik hipokampusta yüksek bulunması adiponektinin pro-inflamatuvar sitokin olmasına bağlanabilir. T2DM'deki hiperglisemi, nöroinflamasyonu tetikleyen, astrositler gibi hücrelerden pro-inflamatuvar proteinlerin salınımının artışına yol açmaktadır (306). Tam uzunluktaki adiponektinin, makrofajda inflamasyonu azalttığı, globüler adiponektinin ise NF-κB'yi aktive ederek inflamatuvar reaksiyonları artırdığı rapor edilmiştir (307). Bu bilgiler göz önüne alındığında, plazma ve hipokampusta görülen farklı yönde etkiler, adiponektinin hipokampusta plazmadan muhtemelen farklı formda bulunabileceğini ve muhtemelen de globüler formda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda LTN tedavisi, diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanlarda adiponektin seviyelerine serumda anlamlı bir etki etmez iken, hipokampusta azalmaya neden oldu. Aroklor ile oksidatif stress oluşturulmuş sıçanlara 30 gün boyunca 200 mg/kg LTN verilerek yapılan bir çalışmada, hipokampusta, serebellum ve serebral kortekste LTN'nin oksidatif stresi düşürdüğünü, antioksidan düzeyi artırdığını ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu baskıladığını bulmuşlardır (308). Bu da gösteriyor ki LTN antiinflamatuvar özelliği ile hipokampusta adiponektin seviyelerini düşürmüş olabilir.

Rezistin adiposit, makrofaj, pankreas, hipokampus gibi dokularda üretildiği için çok yönlü fonksiyonu olduğu düşünülen bir proteindir (309-311). Bir şaperon görevi de gören rezistinin aslında proinflamatuvar sitokin özelliği hakimdir (312). İnsanda rezistinin ana kaynağı makrofajdır (311, 313). Fakat kemirgenlerde ana kaynağı adipositlerdir (313). Normal insan pankreas langerhans adacıklarında rezistin ekspresyonu olması, adacık fonksiyonu için rol alabileceğini göstermektedir (314). Rezistin, insülin etkisine direnir ve T2DM'ye katkıda bulunur (312). İnsülin etkisini antagonize ettiği ve inflamasyonu teşvik ettiği için demans için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir (258). Çünkü kan-beyin bariyerini aktif transport ile geçebilmektedir (310). Ayrıca rezistin, astrosit farklılaşmasını engelleyerek kan-beyin bariyer geçirgenliğini artırıcı özelliği de vardır (313). Hipokampus nöronlarında glukoz metabolizmasını düzenlediği ifade edilmektedir (312).

Çalışmamızda DM oluşturulmuş sıçanlarda serum ve hipokampusta rezistin seviyeleri bulundu (Şekil 15). Bir çalışmada, NA/STZ ile DM oluşturulan sıçanlarda insülin ve rezistin seviyeleri yüksek bulunmuştur (315). Tersine, diğer bir çalışmada NA/STZ ile DM oluşturulan sıçanlarda insülin ve rezistin seviyeleri düşük bulunmuştur (316). Ancak rezistinin DM'de proinflamatuvar özellik gösterdiği belirtilmektedir (317). LTN diyabetik hayvanlarda serum ve hipokampusta rezistin seviyelerini düşürücü etki gösterirken diyabetik olmayan sıçanlarda anlamlı olmayan düzeyde de olsa hafif arttırıcı etki sergilemesi dikkati çekmektedir. LTN diyabetik sıçanlardaki rezistin düşürücü etkisi antiiflamatuvar özelliğinden kaynaklanabilir ve bu sayede diyabette inflamasyonu baskılamış olabilir.

Sonuç olarak LTN, NA/STZ ile uyarılan diyabetik sıçanlarda serum ve hipokampusta BNDF ve adipositokin seviyelerini etkileyerek metabolizmanın düzenlenmesine katkı sağladığı söylenebilir. Ayrıca DM'ye bağlı olarak artan hipokampal dejenerasyonu baskılayabilmektedir. Bu yönleri ile diyabetiklerde gelişen LTN'nin beyin fonksiyonlarındaki kaybı azaltıcı yönde etki gösterdiğini söylemek doğru olacaktır. Ancak bu sonuçların hayvanlar ve insanlar üzerine yapılan çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı vardır.

## 6. KAYNAKLAR


1. Choudhury H, Pandey M, Hua CK, Mun CS, Jing JK, Kong L, Ern LY, Ashraf NA, Kit SW, Yee TS, Pichika MR, Gorain B, Kesharwani P (2018). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. J Tradit Complement Med 8: 361-376.
2. Doğan Z (2021). Diyabetik obez ve diyabetik obez olmayan hastalarda bazı gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin incelenmesi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bililimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul.
3. Lee CB, Baek SS (2020). Impact of exercise on hippocampal neurogenesis in hyperglycemic diabetes. J Exerc Rehabil 16(2): 115-117.
4. Chireh B, Li M, D'Arcy C (2019). Diabetes increases the risk of depression: A systematic review, meta-analysis and estimates of population attributable fractions based on prospective studies. Prev Med Rep 14: 100822.
5. Zhao X, Han Q, Lv Y, Sun L, Gang X, Wang G (2017). Biomarkers for cognitive decline in patients with diabetes mellitus: evidence from clinical studies. Oncotarget 9: 7710-7726.
6. Tzakis N, Holahan MR (2019). Social memory and the role of the hippocampal CA2 region. Front Behav Neurosci 13: 233.
7. Spinelli M, Fusco S, Grassi C (2019). Brain insulin resistance and hippocampal plasticity: Mechanisms and biomarkers of cognitive decline. Front Neurosci 13: 788.
8. Rozanska O, Uruska A, Zozulinska-Ziolkiewicz D (2020). Brain-derived neurotrophic factor and diabetes. Int J Mol Sci 21: 841.
9. Castrén E, Monteggia L (2021). Brain-derived neurotrophic factor signaling in depression and antidepressant action. Biol Psychiatry 90: 128-136.
10. Frohlich J, Chaldakov GN, Vinciguerra M (2021). Cardio- and neurometabolic adipobiology: consequences and implications for therapy. Int J Mol Sci 22: 4137.
11. Zierold S, Buschmann K, Gachkar S, Bochenek ML, Velmeden D, Hobohm L, Vahl CF, Schäfer K (2021). Brain-derived neurotrophic factor expression and signaling in different perivascular adipose tissue depots of patients with coronary artery disease. J Am Heart Assoc 10: e018322.

12. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P (2019). Brain-derived neurotrophic factor: A key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. Front Cell Neurosci 13: 363.

13. Forny-Germano L, De Felice FG, Vieira MNDN (2019). The role of leptin and adiponectin in obesity-associated cognitive decline and Alzheimer's disease. Front Neurosci 12: 1027.

14. Naranjo V, Contreras A, Merino B, Plaza A, Lorenzo MP, García-Cáceres C, García A, Chowen JA, Ruiz-Gayo M, Del Olmo N, Cano V (2020). Specific deletion of the astrocyte leptin receptor ınduces changes in hippocampus glutamate metabolism, synaptic transmission and plasticity. Neuroscience 447: 182-190.

15. Brown RE (2008). Could there be a fine-tuning role for brain-derived adipokines in the regulation of bodyweight and prevention of obesity? Mcgill J Med 11: 177-184.

16. Lee TH, Cheng KK, Hoo RL, Siu PM, Yau SY (2019). The novel perspectives of adipokines on brain health. Int J Mol Sci 20: 5638.

17. Baba Y, Inagaki S, Nakagawa S, Kaneko T, Kobayashi M, Takihara T (2021). Effects of L-Theanine on cognitive function in middle-aged and older subjects: A randomized placebo-controlled study. J Med Food 24: 333-341.

18. Yang CC, Chang KC, Wang MH, Tseng HC, Soung HS, Fang CH, Lin YW, Li KY, Tsai CC (2020). L-Theanine improves functional recovery after traumatic spinal cord injury in rats. J Formos Med Assoc 119: 1405-1414.

19. Williams J, Sergi D, McKune AJ, Georgousopoulou EN, Mellor DD, Naumovski N (2019). The beneficial health effects of green tea amino acid l-theanine in animal models: Promises and prospects for human trials. Phytother Res 33: 571-583.

20. Yan Q, Tong H, Tang S, Tan Z, Han X, Zhou C (2017). L-theanine administration modulates the absorption of dietary nutrients and expression of transporters and receptors in the intestinal mucosa of rats. Biomed Res Int 2017: 9747256.

21. Ninomiya T, Kanzaki N, Hirakawa Y, Yoshinari M, Higashioka M, Honda T, Shibata M, Sakata S, Yoshida D, Teramoto T, Takemoto S, Nishimoto S, Hata J, Kitazono T (2019). Serum ethylamine levels as an indicator of L-theanine consumption and the

risk of type 2 diabetes in a general japanese population: The hisayama study. Diabetes Care 42: 1234-1240.

22. Wakabayashi C, Numakawa T, Ninomiya M, Chiba S, Kunugi H (2012). Behavioral and molecular evidence for psychotropic effects in L-theanine. Psychopharmacology (Berl) 219: 1099-1109.

23. Priya G, Kalra S (2018). A review of insulin resistance in type 1 diabetes: is there a place for adjunctive metformin? Diabetes Therapy 9: 349-361.

24. Kerner W, Brückel J (2014). Classification and diagnosis of diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes 122: 384-386.

25. Cole JB, Florez JC (2020). Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. Nat Rev Nephrol 16: 377-390.

26. International Diabetes Federation (2019). IDF diabetes atlas, 9th edn. Belgium, Brussels: International Diabetes Federation.

27. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. Phys Ther 88: 1254-1264.

28. Sørgjerd EP (2019). Type 1 diabetes-related autoantibodies in different forms of diabetes. Curr Diabetes Rev 15: 199.

29. Knip M, Simell O (2012). Environmental triggers of type 1 diabetes. Cold Spring Harb Perspect Med 2: 007690.

30. American Diabetes Association (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 37: 81-90.

31. Colberg SR (2010). Exercise and type 2 diabetes. Diabetes Care 33: 147-167.

32. Oldroyd J, Banerjee M, Heald A (2005). Diabetes and ethnic minorities. Postgrad Med J 81: 486-490.

33. Xu H, Verre MC (2018). Type 2 diabetes mellitus in children. Am Fam Physician 98(9): 590-594.

34. Roden M (2016). Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis. Wien Klin Wochenschr 128(2): 37-40.

35. İzci Y, Erbaş YC (2015). Hipokampus: yapısı ve fonksiyonları. Türk Nöroşir Derg 25: 287-295.

36. Hartley T, Lever C, Burgess N, O'Keefe J (2013). Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 369: 20120510.

37. Gilbert PE, Brushfeld AM (2009). The role of the CA3 hippocampal subregion in spatial memory: A process oriented behavioral assessment. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 33: 774-781.

38. Santos VR, Melo IS, Pacheco ALD, Castro OW (2019). Life and death in the hippocampus: What's bad? Epilepsy Behav 20: 106595.

39. Mercer A, Trigg HL, Thomson AM (2007). Characterization of neurons in the CA2 subfield of the adult rat hippocampus. J Neurosci 27: 7329-7338.

40. Bird CM, Burgess N (2008). The hippocampus and memory: insights from spatial processing. Nat Rev Neurosci 9(3): 182-94.

41. Alahmari A (2020). Inaccurate visual grading systems in neuroradiology: topic highlights. Int J Radiol 7(1): 242-243.

42. Ji Y, Xie Y, Wang T (2020). Four patients with infarction in key areas of the Papez circuit, with anterograde amnesia as the main manifestation. J Int Med Res 48: 1-7.

43. Toyoda H, Li XY, Wu LJ, Zhao MG, Descalzi G, Chen T, Koga K, Zhuo M (2011). Interplay of amygdala and cingulate plasticity in emotional fear. Neural Plast 2011: 1-9.

44. Molnar E (2011). Long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. Semin Cell Dev Biol 22: 506-513.

45. Anand KS, Dhikav V (2012). Hippocampus in health and disease: An overview. Ann Indian Acad Neurol 15: 239-246.

46. Bir SC, Ambekar S, Kukreja S, Nanda A (2015). Julius Caesar Arantius (Giulio Cesare Aranzi, 1530-1589) and the hippocampus of the human brain: history behind the discovery. J Neurosurg 122: 971-975.

47. Salehi A, Delcroix JD, Belichenko PV, Zhan K, Wu C, Valletta JS, Takimoto-Kimura R, Kleschevnikov AM, Sambamurti K, Chung PP, Xia W, Villar A, Campbell WA, Kulnane LS, Nixon RA, Lamb BT, Epstein CJ, Stokin GB, Goldstein LS, Mobley WC (2006). Increased App expression in a mouse model of Down's syndrome disrupts NGF transport and causes cholinergic neuron degeneration. Neuron 51: 29-42.

48. Marosi K, Mattson MP (2014). BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. Trends Endocrinol Metab 25: 89-98.

49. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J (2018). BDNF: a key factor with multipotent ımpact on brain signaling and synaptic plasticity. Cell Mol Neurobiol 38: 579-593.

50. McGregor CE, English AW (2019). The role of BDNF in peripheral nerve regeneration: Activity-dependent treatments and Val66Met. Front Cell Neurosci 12: 522.

51. Bergami M, Santi S, Formaggio E, Cagnoli C, Verderio C, Blum R, Benedikt B, Matteoli M, Canossa M (2008). Uptake and recycling of pro-BDNF for transmitter-induced secretion by cortical astrocytes. JCB 2: 213-221.

52. Yang J, Harte-Hargrove LC, Siao CJ, Marinic T, Clarke R, Ma Q, Jing D, Lafrancois JJ, Bath KG, Mark W, Ballon D, Lee FS, Scharfman HE, Hempstead BL (2014). proBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission, and synaptic plasticity in hippocampus. Cell Rep 7: 796-806.

53. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL (2010). A simple role for BDNF in learning and memory? Front Mol Neurosci 3: 1.

54. Pluchino N, Cubeddu A, Begliuomini S, Merlini S, Giannini A, Bucci F, Casarosa E, Luisi M, Cela V, Genazzani AR (2009). Daily variation of brain-derived neurotrophic factor and cortisol in women with normal menstrual cycles, undergoing oral contraception and in postmenopause. Hum Reprod 24: 2303-2309

55. Giralt A, Friedman HC, Caneda-Ferrón B, Urbán N, Moreno E, Rubio N, Blanco J, Peterson A, Canals JM, Alberch J (2010). BDNF regulation under GFAP promoter provides engineered astrocytes as a new approach for long-term protection in Huntington's disease. Gene Therapy 17: 1294-1308.

56. Prickaerts J, De Vry J, Boere J, Kenis G, Quinton MS, Engel S, Melnick L, Schreiber R (2012). Differential BDNF responses of triple versus dual reuptake inhibition in neuronal and astrocytoma cells as well as in rat hippocampus and prefrontal cortex. J Mol Neurosci 48: 167-175.

57. Serra-Millàs M (2016). Are the changes in the peripheral brain-derived neurotrophic factor levels due to platelet activation? World J Psychiatr 6: 84-101.

58. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, Secher NH, Pedersen BK, Pilegaard H (2009). Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. Exp Physiol 94: 1062-1069.

59. Klein BA, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, Knudsen GM, Aznar S (2011). Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. Int J Neuropsychopharmacol 14: 347-353.

60. Balietti M, Giuli C, Conti F (2018). Peripheral blood brain-derived neurotrophic factor as a biomarker of alzheimer's disease: Are there methodological biases? Mol Neurobiol 55: 6661-6672.

61. Bathina S, Das UN (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. Arch Med Sci 11(6): 1164-1178.

62. Foltran RB, Diaz SL (2016). BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? J Neurochem 138(2): 204-221.

63. Meyer-Franke A, Wilkinson GA, Kruttgen A, Hu M, Munro E, Hanson MG Jr, Reichardt LF, Barres BA (1998). Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit Trkβ to the plasma membrane of CNS neurons. Neuron 21: 681-693.

64. Du J, Feng LY, Yang F, Lu B (2000). Activity- and $Ca^{2+}$-dependent modulation of surface expression of brain-derived neurotrophic factor receptors in hippocampal neurons. J Cell Biol 150: 1423-1434.

65. Reichardt LF (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 361: 1545-1564.

66. Gonzalez A, Moya-Alvarado G, Gonzalez-Billaut C, Bronfman FC (2016). Cellular and molecular mechanisms regulating neuronal growth by brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Cytoskeleton (Hoboken) 73 :612-628.

67. Baydyuk M, Xu B (2014). BDNF signaling and survival of striatal neurons. Front Cell Neurosci 8: 254.

68. Jaworski J, Spangler S, Seeburg DP, Hoogenraad CC, Sheng M (2005). Control of dendritic arborization by the phosphoinositide-3′-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin pathway. J Neurosci 25: 11300-11312.

69. Kumar V, Zhang MX, Swank MW, Kunz J, Wu GY (2005). Regulation of dendritic morphogenesis by Ras-PI3K-Akt-mTOR and Ras-MAPK signaling pathways. J Neurosci 25: 11288-11299.

70. Kwon M, Fernandez JR, Zegarek GF, Lo SB, Firestein BL (2011). BDNF-promoted increases in proximal dendrites occur via CREB dependent transcriptional regulation of cypin. J Neurosci 31: 9735-9745.

71. Mangesh K, Ashwini K, Srinivas B, Shivram G, Aaditi K (2014). Phytochemical and pharmacological accounts of some reviewed plants with antidiabetic potential. Scholars Academic Journal of Pharmacy 3: 162-177.

72. Nishi M, Sanke T, Nagamatsu S, Bell GI, Steiner DF (1990). Islet amyloid polypeptide. A new beta cell secretory product related to islet amyloid deposits. J Biol Chem 265: 4173-4176.

73. Daghlas SA, Mohiuddin SS (2021). Biochemistry, Glycogen. [Updated 2021 May 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

74. Fu Z, Gilbert ER, Liu D (2013). Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. Curr Diabetes Rev 9: 25-53.

75. Najjar SM, Perdomo G (2019). Hepatic insulin clearance: Mechanism and physiology. Physiology (Bethesda) 34: 198-215.

76. Slater T, Haywood NJ, Matthews C, Cheema H, Wheatcroft SB (2019). Insulin-like growth factor binding proteins and angiogenesis: from cancer to cardiovascular disease. Cytokine Growth Factor Rev 46: 28-35.

77. Vargas E, Joy NV, Carrillo Sepulveda MA (2021). Biochemistry, insulin metabolic effects. [Updated 2021 Feb 01]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

78. Czech MP (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. Nat Med 23: 804-814.

79. Hatting M, Tavares CDJ, Sharabi K, Rines AK, Puigserver P (2018). Insulin regulation of gluconeogenesis. Ann N Y Acad Sci 1411: 21-35.

80. Zhao J, Wu Y, Rong X, Zheng C, Guo J (2020). Anti-lipolysis induced by insulin in diverse pathophysiologic conditions of adipose tissue. Diabetes Metab Syndr Obes 13: 1575-1585.

81. Meigs JB, Muller DC, Nathan DM, Blake DR, Andres R (2003). The natural history of progression from normal glucose tolerance to type 2 diabetes in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. Diabetes 52: 1475-1484.

82. Defronzo RA, Banting Lecture (2009). From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Diabetes 58: 773-795.

83. Ruige JB, Assendelft WJ, Dekker JM, Kostense PJ, Heine RJ, Bouter LM (1998). Insulin and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. Circulation 97: 996-1001.

84. Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Ingelsson E, Lawlor DA, Selvin E, Stampfer M, Stehouwer CD, Lewington S, Pennells L, Thompson A, Sattar N, White IR, Ray KK, Danesh J (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. Lancet 375: 2215-2222.

85. Begg DP (2015). Insulin transport into the brain and cerebrospinal fluid. Vitamins and Hormones 98: 229-248.

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

87. Banks WA, Jaspan JB, Huang W, Kastin AJ (1997). Transport of insulin across the blood–brain barrier: Saturability at euglycemic doses of insulin. Peptides 18: 1423-1429.

88. Banks A (2004). The source of cerebral insulin. Eur J Pharmacol 490: 5-12.

89. Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA (2004). Insulin and the CNS: Effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. Physiol Behav 83: 47-54.

90. van der Heide LP, Ramakers GM, Smidt MP (2006). Insulin signaling in the central nervous system: Learning to survive. Prog Neurobiol 79: 205-221.

91. Marra F, Bertolani C (2009). Adipokines in liver diseases. Hepatology 50: 957-969.

92. Lee MW, Lee M, Oh KJ (2019). Adipose tissue-derived signatures for obesity and type 2 diabetes: Adipokines, batokines and microRNAs. J Clin Med 8: 854.

93. Cesur G, Gökçimen A (2012). Yağ dokusunun işlevsel sırları. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 13: 47-53.

94. Parimisetty A, Dorsemans AC, Awada R, Ravanan P, Diotel N, Lefebvre d'Hellencourt C (2016). Secret talk between adipose tissue and central nervous system via secreted factors-an emerging frontier in the neurodegenerative research. J Neuroinflammation 13: 67.

95. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell 104: 487-501.

96. Elgueta R, Benson MJ, de Vries VC, Wasiuk A, Guo Y, Noelle RJ (2009). Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. Immunol Rev 229: 152-172.

97. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC (2011). Osteoporosis: now and the future. Lancet 377: 1276-1287.

98. Vilcek J, Lee TH (1991). Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. J Biol Chem 266: 7313-7316.

99. Spriggs DR, Deutsch S, Kufe DW (1992). Genomic structure, induction, and production of TNF-alpha. Immunol Ser 56: 3-34.

100. Parameswaran N, Patial N (2010). Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 20: 87-103.

101. Dinarello CA (2000). Proinflammatory cytokines. Chest 118: 503-508.

102. Read MA, Whitley MZ, Gupta S, Pierce JW, Best J, Davis RJ, Collins T (1997). Tumor necrosis factor alpha-induced E-selectin expression is activated by the nuclear factor-kappaB and c-JUN N-terminal kinase/p38 mitogen-activated protein kinase pathways. J Biol Chem 272: 2753-2761.

103. van der Poll T, Büller HR, ten Cate H, Wortel CH, Bauer KA, van Deventer SJ, Hack CE, Sauerwein HP, Rosenberg RD, ten Cate JW (1990). Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects. N Engl J Med 322: 1622-1627.

104. Arruda AP, Milanski M, Romanatto T, Solon C, Coope A, Alberici LC, Festuccia WT, Hirabara SM, Ropelle E, Curi R, Carvalheira JB, Vercesi AE, Velloso LA (2010). Hypothalamic actions of tumor necrosis factor alpha provide the thermogenic core for the wastage syndrome in cachexia. Endocrinology 151: 683-694.

105. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, Vinh DC (2003). Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. Lancet Infect Dis 3: 148-155.

106. Sedger LM, McDermott MF (2014). TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. Cytokine Growth Factor Rev 25: 453-472.

107. Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG (2018). Role of TNF–TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. Front Immunol 9: 784.

108. Ihnatko R, Kubes M (2007). TNF signaling: early events and phosphorylation. Gen Physiol Biophys 26: 159-167.

109. Dopp JM, Sarafian TA, Spinella FM, Kahn MA, Shau H, de Vellis J (2002). Expression of the p75 TNF receptor is linked to TNF-induced NFkappaB translocation and oxyradical neutralization in glial cells. Neurochem Res 27: 1535-1542.

110. Krippner-Heidenreich A, Tubing F, Bryde S, Willi S, Zimmermann G, Scheurich P (2002). Control of receptor-induced signaling complex formation by the kinetics of ligand/receptor interaction. J Biol Chem 277: 44155-44163.

111. Waetzig GH, Rosenstiel P, Arlt A, Till A, Brautigam K, Schafer H, Rose-John S, Seegert D, Schreiber S (2005). Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptor-1 induces apoptosis via reverse TNF signaling and autocrine transforming growth factor-beta1. FASEB J 19: 91-93.

112. Bradley JR (2008). TNF-mediated inflammatory disease. J Pathol 214: 149-160.

113. Sabio G, Davis RJ (2014). TNF and MAP kinase signalling pathways. Semin Immunol 26: 237-245.

114. Guma M, Firestein GS (2012). c-Jun N-terminal kinase in inflammation and rheumatic diseases. Open Rheumatol J 6: 220-231.

115. Yang Y, Kim SC, Yu T, Yi YS, Rhee MH, Sung GH, Yoo BC, Cho JY (2014). Functional roles of p38 mitogen-activated protein kinase in macrophage-mediated inflammatory responses. Mediators Inflamm 2014: 352371.

116. Cai W, Kerner ZJ, Hong H, Sun J, (2008). Targeted cancer therapy with tumor necrosis factor-alpha. Biochem Insights 2008: 15-21.

117. Dobrzycka B, Terlikowski SJ, Garbowicz M, Niklińska W, Bernaczyk PS, Nikliński J, Kinalski M, Chyczewski L (2009). Tumor necrosis factor-alpha and its receptors in epithelial ovarian cancer. Folia Histochem Cytobiol 47: 609-613.

118. Lejeune FJ (2002). Clinical use of TNF revisited: improving penetration of anti-cancer agents by increasing vascular permt6eability. J Clin Invest 110: 433-435.

119. 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.

120. Ghadge AA, Khaire AA (2019). Leptin as a predictive marker for metabolic syndrome. Cytokine 121: 154735.

121. Wasim M, Awan FR, Najam SS, Khan AR, Khan HN (2016). Role of leptin deficiency, ınefficiency, and leptin receptors in obesity. Biochem Genet 54: 565-572.

122. Taouis M, Chen JW, Daviaud C, Dupont J, Derouet M, Simon J (1998). Cloning the chicken leptin gene. Gene 208: 239-242.

123. Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG (1997). Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. Proc Natl Acad Sci U S A 94: 11073-11078.

124. Yook JS, Rakwal R, Shibato J, Takahashi K, Koizumi H, Shima T, Ikemoto MJ, Oharomari LK, McEwen BS, Soya H (2019). Leptin in hippocampus mediates benefits of mild exercise by an antioxidant on neurogenesis and memory. Proc Natl Acad Sci U S A 116: 10988-10993.

125. Caron A, Lee S, Elmquist JK, Gautron L (2018). Leptin and brain–adipose crosstalks. Nat Rev Neurosci 19: 153-165.

126. Wauman J, Zabeau L, Tavernier J (2017). The leptin receptor complex: Heavier than expected? Front Endocrinol (Lausanne) 8: 30.

127. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature Jul 382: 250-252.

128. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I (1996). Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. J Clin Endocrinol Metab 81: 3419-3423.

129. Chan JL, Matarese G, Shetty GK, Raciti P, Kelesidis I, Aufiero D, De Rosa V, Perna F, Fontana S, Mantzoros CS (2006). Differential regulation of metabolic, neuroendocrine, and immune function by leptin in humans. Proc Natl Acad Sci U S A 103: 8481-8486.

130. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: Identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. Cell 84: 491-495.

131. Rosenbaum M, Leibel RL (2014). Role of leptin in energy homeostasis in humans. J Endocrinol 223: 83-96.

132. Golden PL, Maccagnan TJ, Pardridge WM (1997). Human blood-brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels. J Clin Invest 99: 14-18.

133. Gong Y, Ishida-Takahashi R, Villanueva EC, Fingar DC, Münzberg H, Myers MG Jr (2007). The long form of the leptin receptor regulates STAT5 and ribosomal protein S6 via alternate mechanisms. J Biol Chem 282: 31019-31027.

134. Maures TJ, Kurzer JH, Carter-Su C (2007). SH2B1 (SH2-B) and JAK2: a multifunctional adaptor protein and kinase made for each other. Trends Endocrinol Metab 18: 38-45.

135. Villanueva EC, Myers MG Jr (2008). Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. Int J Obes (Lond) 32: 8-12.

136. Ahima RS (2005). Central actions of adipocyte hormones. Trends Endocrinol Metab 16: 307-313.

137. Steppan CM, Swick AG (1999). A role for leptin in brain development Biochem. Biophys Res Commun. 256: 600-602.

138. Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB (2004). Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. Science 304: 108-110.

139. Matochik JA, London ED, Yildiz BO, Ozata M, Caglayan S, DePaoli AM, Wong ML, Licinio J (2005). Effect of leptin replacement on brain structure in genetically leptin-deficient adults. J Clin Endocrinol Metab 90: 2851-2854.

140. London ED, Berman SM, Chakrapani S, Delibasi T, Monterosso J, Erol HK, Paz-Filho G, Wong ML, Licinio J (2011). Short-term plasticity of gray matter associated with leptin deficiency and replacement. J Clin Endocrinol Metab 96: E1212-1220.

141. Russo VC, Metaxas S, Kobayashi K, Harris M, Werther GA (2004). Antiapoptotic effects of leptin in human neuroblastoma cells. Endocrinology 145: 4103-4112.

142. Udagawa J, Nimura M, Otani H (2006). Leptin affects oligodendroglial development in the mouse embryonic cerebral cortex. Neuro Endocrinol Lett 27: 177-182.

143. Hashimoto R, Matsumoto A, Udagawa J, Hioki K, Otani H (2013). Effect of leptin administration on myelination in ob/ob mouse cerebrum after birth. Neuroreport. 24: 22-29.

144. Shanley LJ, O'Malley D, Irving AJ, Ashford ML, Harvey J (2002). Leptin inhibits epileptiform-like activity in rat hippocampal neurones via PI 3-kinase-driven activation of BK channels. J Physiol 545: 933-944.

145. McGregor G, Harvey J (2019). Leptin regulation of synaptic function at hippocampal TA-CA1 and SC-CA1 synapses: Implications for Health and Disease. Neurochem Res 44: 650-660.

146. Li XL, Aou S, Oomura Y, Hori N, Fukunaga K, Hori T (2002). Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. Neuroscience 113: 607-615.

147. Winocur G, Greenwood CE, Piroli GG, Grillo CA, Reznikov LR, Reagan LP, McEwen BS (2005). Memory impairment in obese Zucker rats: an investigation of cognitive function in an animal model of insulin resistance and obesity. Behav Neurosci 119: 1389-1395.

148. Moran C, Phan TG, Chen J, Blizzard L, Beare R, Venn A, Münch G, Wood AG, Forbes J, Greenaway TM, Pearson S, Srikanth V (2013). Brain atrophy in type 2 diabetes: regional distribution and influence on cognition. Diabetes Care 36: 4036-4042.

149. Farr OM, Tsoukas MA, Mantzoros CS (2015). Leptin and the brain: influences on brain development, cognitive functioning and psychiatric disorders. Metabolism. 64: 114-130.

150. Díez JJ, Iglesias P (2003). The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. Eur J Endocrinol 148: 293-300.

151. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF (1995). A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. J Biol Chem 270: 26746-26749.

152. Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG (2000). Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A 97: 14478-14483.

153. Mori Y, Otabe S, Dina C, Yasuda K, Populaire C, Lecoeur C, Vatin V, Durand E, Hara K, Okada T, Tobe K, Boutin P, Kadowaki T, Froguel P (2002). Genome-wide search for type 2 diabetes in Japanese affected sib-pairs confirms susceptibility genes on 3q, 15q, and 20q and identifies two new candidate Loci on 7p and 11p. Diabetes 51: 1247-1255.

154. Achari AE, Jain SK (2017). Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. Int J Mol Sci 18(6): 1321.

155. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE (2004). Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. J Biol Chem 279: 12152-12162.

156. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 2005-2010.

157. Frizzell N, Rajesh M, Jepson MJ, Nagai R, Carson JA, Thorpe SR, Baynes JW (2009). Succination of thiol groups in adipose tissue proteins in diabetes: succination inhibits polymerization and secretion of adiponectin. J Biol Chem 284: 25772-25781.

158. Bloemer J, Pinky PD, Govindarajulu M, Hong H, Judd R, Amin RH, Moore T, Dhanasekaran M, Reed MN, Suppiramaniam V (2018). Role of adiponectin in central nervous system disorders. Neural Plast 2018: 4593530.

159. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y (2000). Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 1595-1599.

160. Wang ZV, Scherer PE (2016). Adiponectin, the past two decades. J Mol Cell Biol 8(2): 93-100.

161. Yildiz Y, Ozaksit G, Serdar Unlu B, Ozgu E, Energin H, Kaba M, Ugur M (2014). Serum adiponectin level and clinical, metabolic, and hormonal markers in patients with polycystic ovary syndrome. Int J Fertil Steril 7: 331-336.

162. Dalğın D, Çon M, Çenesiz M, Çenesiz S (2017). Leptin ve adiponektinin enerji ve egzersiz ilişkisi. Spor ve Performans Araştırmaları Dergisi 8: 166-174.

163. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M (2010). Adiponectin receptor binding proteins–recent advances in elucidating adiponectin signalling pathways. FEBS letters 584: 4280-4286.

164. Caselli C (2014). Role of adiponectin system in insulin resistance. Mol Genet Metab 113: 155-160.

165. Thundyil J, Pavlovski D, Sobey CG, Arumugam TV (2012). Adiponectin receptor signalling in the brain. Br J Pharmacol 165: 313-327.

166. Francisco V, Ruiz-Fernández C, Pino J, Mera A, González-Gay MA, Gómez R, Lago F, Mobasheri A, Gualillo O (2019). Adipokines: Linking metabolic syndrome, the immune system, and arthritic diseases. Biochem Pharmacol 165: 196-206.

167. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. Nature 423: 762-769.

168. Formolo DA, Lee TH, Yau SY (2019). Increasing adiponergic system activity as a potential treatment for depressive disorders. Mol Neurobiol 56: 7966-7976.

169. Mao X, Kikani CK, Riojas RA, Langlais P, Wang L, Ramos FJ, Fang Q, Christ-Roberts CY, Hong JY, Kim RY, Liu F, Dong LQ (2006). APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. Nat Cell Biol 8: 516-523.

170. Nechamen CA, Thomas RM, Dias JA (2007). APPL1, APPL2, Akt2 and FOXO1a interact with FSHR in a potential signaling complex. Mol Cell Endocrinol 260: 93-99.

171. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. J Clin Invest 116: 1784-1792.

172. Deepa SS, Dong LQ (2009). APPL1: Role in adiponectin signaling and beyond. Am J Physiol Endocrinol Metab 296: 22-36.

173. Ruan H, Dong LQ (2016). Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. J Mol Cell Biol 8: 101-109.

174. Ryu J, Galan AK, Xin X, Dong F, Abdul-Ghani MA, Zhou L, Wang C, Li C, Holmes BM, Sloane LB, Austad SN, Guo S, Musi N, DeFronzo RA, Deng C, White MF, Liu F, Dong LQ (2014). APPL1 potentiates insulin sensitivity by facilitating the binding of IRS1/2 to the insulin receptor. Cell Rep 7: 1227-1238.

175. Kadowaki T, Yamauchi T (2005). Adiponectin and adiponectin receptors. Endocrine reviews 26: 439-451.

176. Wang Y, Ma XL, Lau WB (2017). Cardiovascular adiponectin resistance: The critical role of adiponectin receptor modification. Trends Endocrinol Metab. 28: 519-530.

177. Yoon MJ, Lee GY, Chung JJ, Ahn YH, Hong SH, Kim JB (2006). Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha. Diabetes 55: 2562-2570.

178. Holland WL, Miller RA, Wang ZV, Sun K, Barth BM, Bui HH, Davis KE, Bikman BT, Halberg N, Rutkowski JM, Wade MR, Tenorio VM, Kuo MS, Brozinick JT, Zhang BB, Birnbaum MJ, Summers SA, Scherer PE (2011). Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. Nat Med 17: 55-63.

179. Pousti F, Ahmadi R, Mirahmadi F, Hosseinmardi N, Rohampour K (2018). Adiponectin modulates synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus. Neurosci Lett 662: 227-232.

180. Weisz F, Piccinin S, Mango D, Ngomba RT, Mercuri NB, Nicoletti F, Nisticò R (2017). The role of adiponectin receptors in the regulation of synaptic transmission in the hippocampus. Synapse 71(5): e21964.

181. Zhang D, Wang X, Wang B, Garza JC, Fang X, Wang J, Scherer PE, Brenner R, Zhang W, Lu XY (2017). Adiponectin regulates contextual fear extinction and intrinsic excitability of dentate gyrus granule neurons through AdipoR2 receptors. Mol Psychiatry 22: 1044-1055.

182. Yau SY, Lee TH, Li A, Xu A, So KF (2018). Adiponectin mediates running-restored hippocampal neurogenesis in streptozotocin-ınduced type 1 diabetes in mice. Front Neurosci 12: 679.

183. Filková M, Haluzík M, Gay S, Šenolt L (2009). The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. Clinical Immunology 133: 157-170.

184. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, Nelson C, Lowman HB, Wright BD, Skelton NJ, Frantz GD, Tumas DB, Peale FV Jr, Shelton DL, Hébert CC (2000). FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. EMBO J 19: 4046-4055.

185. Gupta V, Singh AK, Pant AB (2010). Could resistin be a noble marker for metabolic syndrome? Diabetes Metab Syndr: Clin Res Rev 4: 239-244.

186. Azab N, Abdel-Aziz T, Ahmed A, El-deen IM (2016). Correlation of serum resistin level with insulin resistance and severity of retinopathy in type 2 diabetes mellitus. J Saudi Chem Soc 20: 272-277.

187. Kalkan Y, Doğan B (2017). Resistinin kronik periodontitisteki rolü. Yeditepe Dental Journal 14: 87-93.

188. Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P (2019). Resistin: A reappraisal. Mech Ageing Dev 178: 46-63.

189. Aruna B, Ghosh S, Singh AK, Mande SC, Srinivas V, Chauhan R, Ehtesham NZ (2003). Human recombinant resistin protein displays a tendency to aggregate by forming intermolecular disulfide linkages. Biochemistry 42: 10554-10559.

190. Aruna B, Islam A, Ghosh S, Singh AK, Vijayalakshmi M, Ahmad F, Ehtesham NZ. Biophysical analyses of human resistin: oligomer formation suggests novel biological function. Biochemistry 47: 12457-12466.

191. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. Science 304: 1154-1158.

192. Codoñer-Franch P, Alonso-Iglesias E (2015). Resistin: insulin resistance to malignancy. Clin Chim Acta 438: 46-54.

193. Lee KS, Chung JH, Choi TK, Suh SY, Oh BH, Hong CH (2009). Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. Dement Geriatr Cogn Disord 28: 281-287.

194. Banerjee RR, Lazar MA (2001). Dimerization of resistin and resistin-like molecules is determined by a single cysteine. J Biol Chem 276(28): 25970-25973.

195. Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ghosh S, Ehtesham NZ (2005). Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependent pathway. Biochem Biophys Res Commun 334: 1092-1101.

196. Sudan SK, Deshmukh SK, Poosarla T, Holliday NP, Dyess DL, Singh AP, Singh S (2020). Resistin: An inflammatory cytokine with multi-faceted roles in cancer. Biochim Biophys Acta Rev Cancer 1874: 188419.

197. Avtanski D, Chen K, Poretsky L (2019). Resistin and adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) regulate the expression of genes related to insulin resistance in BNL CL.2 mouse liver cells. Data Brief 25: 104112.

198. Tarkowski A, Bjersing J, Shestakov A, Bokarewa MI (2010). Resistin competes with lipopolysaccharide for binding to toll-like receptor 4. J Cell Mol Med 14: 1419-1431.

199. Benomar Y, Gertler A, De Lacy P, Crepin D, Ould Hamouda H, Riffault L, Taouis M (2013). Central resistin overexposure induces insulin resistance through tolllike receptor 4. Diabetes 62: 102-114.

200. Green JL, Kuntz SG, Sternberg PW (2008). Ror receptor tyrosine kinases: orphans no more. Trends Cell Biol 18: 536-544.

201. Sanchez-Solana B, Laborda J, Baladron V (2012). Mouse resistin modulates adipogenesis and glucose uptake in 3T3-L1 preadipocytes through the ROR1 receptor. Mol Endocrinol 26: 110-127.

202. Jamaluddin MS, Yan S, Lü J, Liang Z, Yao Q, Chen C (2013). Resistin increases monolayer permeability of human coronary artery endothelial cells. PLoS One 8: e84576.

203. Altınkaynak Y (2018). L-theaninin doksorubisin uygulanan sıçanlarda nefrotoksisite üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

204. Narukawa M, Toda Y, Nakagita T, Hayashi Y, Misaka T (2014). L-theanine elicits umami taste via the T1R1 C T1R3 umami taste receptor. Amino Acids 46: 1583-1587.

205. Kural BV, Patan H (2019). Teanin. GÜSBD 8: 128-135.

206. Chatterjee S, Chatterjee A, Bandyopadhyay SK (2016). L-theanine: a prospective natural medicine. Int J Pharm Sci Rev Res 41: 95-103.

207. Türközü D, Şanlier N (2017). L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. Crit Rev Food Sci Nutr 57: 1681-1687.

208. Vuong QV, Bowyer MC, Roach PD (2011). L-theanine: properties, synthesis and isolation from tea. J Sci Food Agric 91: 1931-1939.

209. Deng WW, Ogita S, Ashihara H (2008). Biosynthesis of theanine (g-ethylamino-l-glutamic acid) in seedlings of camellia sinensis. Phytochem Lett 1: 115-119.

210. Saeed M, Khan MS, Kamboh AA, Alagawany M, Khafaga AF, Noreldin AE, Qumar M, Safdar M, Hussain M, Abd El-Hack ME, Chao S (2020). L-theanine: an astounding sui generis amino acid in poultry nutrition. Poult Sci 99: 5625-5636.

211. Williams J, Sergi D, McKune AJ, Georgousopoulou EN, Mellor DD, Naumovski N (2019). The beneficial health effects of green tea amino acid L-theanine in animal models: Promises and prospects for human trials. Phytother Res 33: 571-583.

212. Adhikary R, Mandal V (2017). L-theanine: A potential multifaceted natural bioactive amide as health supplement. Asian Pac J Trop Biomed 7: 842-848.

213. Patan H (2019). Deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda L-Theaninin karaciğer dokusu üzerine etkilerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

214. Mancini E, Beglinger C, Drewe J, Zanchi D, Lang UE, Borgwardt S (2017). Green tea effects on cognition, mood and human brain function: A systematic review. Phytomedicine 34: 26-37.

215. Yoto A, Motoki M, Murao S, Yokogoshi H (2012). Effects of L-theanine or caffeine intake on changes in blood pressure under physical and psychological stresses. J Physiol Anthropol 31: 28.

216. van der Pijl PC, Chen L, Mulder TPJ (2010). Human disposition of L-theanine in tea or aqueous solution. J Funct Foods 2: 239-244.

217. Alagawany M, Abd El-Hack ME, Saeed M, Naveed M, Arain MA, Arif M, Tiwari R, Khandia R, Khurana SK, Karthik K, Yatoo MI, Munjal A, Bhatt P, Sharun K, Iqbal HMN, Sun C, Dhama K (2020). Nutritional applications and beneficial health

applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 104: 245-256.

218. Lee JE, Lee BJ, Chung JO, Kim HN, Kim EH, Jung S, Lee H, Lee SJ, Hong YS (2015). Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (Camellia sinensis) metabolites dependent on geography. Food Chem 174: 452-459.

219. Khan SH (2014). The use of green tea (Camellia sinensis) as a phytogenic substance in poultry diets. Onders J Vet Res 81: 1-8.

220. Inoue K, Miyazaki Y, Unno K, Min JZ, Todoroki K, Toyo'oka T (2016). Stable isotope dilution HILIC-MS/MS method for accurate quantification of glutamic acid, glutamine, pyroglutamic acid, GABA and theanine in mouse brain tissues. Biomed Chromatogr 30: 55-61.

221. Kakuda T (2011). Neuroprotective effects of theanine and its preventive effects on cognitive dysfunction. Pharmacol Res 64: 162-168.

222. Zhu G, Yang S, Xie Z and Wan X (2018). Synaptic modification by L-theanine, a natural constituent in green tea, rescues the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in AD mice. Neuropharmacology 138: 331-340.

223. Kim TI, Lee YK, Park SG, Choi IS, Ban JO, Park HK, Nam SY, Yun YW, Han SB, Oh KW, Hong JT (2009). L-Theanine, an amino acid in green tea, attenuates beta-amyloid-induced cognitive dysfunction and neurotoxicity: reduction in oxidative damage and inactivation of ERK/p38 kinase and NF-kappaB pathways. Free Rad Biol Med 47: 1601-1610.

224. Deb S, Dutta A, Phukan BC, Manivasagam T, Justin Thenmozhi A, Bhattacharya P, Paul R, Borah A (2019). Neuroprotective attributes of L-theanine, a bioactive amino acid of tea, and its potential role in Parkinson's disease therapeutics. Neurochem Int 129: 104478.

225. Egashira N, Hayakawa K, Osajima M, Mishima K, Iwasaki K, Oishi R, Fujiwara M (2007). Involvement of GABA(A) receptors in the neuroprotective effect of theanine on focal cerebral ischemia in mice. J Pharmacol Sci 105: 211-214.

226. Yamada T, Terashima T, Okubo T, Juneja LR, Yokogoshi H (2005). Effects of theanine, r-glutamylethylamide, on neurotransmitter release and its relationship with glutamic acid neurotransmission. Nutr Neurosci 8: 219-226.

227. Yamada T, Terashima T, Kawano S, Furuno R, Okubo T, Juneja L.R and Yokogoshi H (2009). Theanine, gamma-glutamylethylamide, a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. Amino Acids 36: 21-27.

228. Zukhurova M, Prosvirnina M, Daineko A, Simanenkova A, Petrishchev N, Sonin D, Galagudza M, Shamtsyan M, Juneja LR, Vlasov T (2013). L-theanine administration results in neuroprotection and prevents glutamate receptor agonist-mediated injury in the rat model of cerebral ischemia-reperfusion. Phytother Res 27: 1282-1287.

229. Cho HS, Kim S, Lee SY, Park JA, Kim SJ, Chun HS (2008). Protective effect of the green tea component, L-theanine on environmental toxins-induced neuronal cell death. Neurotoxicology 29: 656-662.

230. Rao TP, Ozeki M, Juneja LR (2015). In search of a safe natural sleep aid. J Am Coll Nutr 34: 436-447.

231. Zhang G, Miura Y, Yagasaki K (2001). Inhibitory effects of theanine and sera from theanine-fed rats on receptor-mediated cancer cell invasion beneath mesothelial-cell monolayers. Cytotechnology 36: 195-200.

232. Takeda A, Tamano H, Suzuki M, Sakamoto K, Oku N, Yokogoshi H (2012). Unique induction of CA1 LTP components after intake of theanine, an amino acid in tea leaves and its effect on stress response. Cell Mol Neurobiol 32: 41-48.

233. Pérez-Vargas JE, Zarco N, Vergara P, Shibayama M, Segovia J, Tsutsumi V, Muriel P (2016). l-Theanine prevents carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of nuclear factor κB and down-regulation of transforming growth factor β and connective tissue growth factor. Hum Exp Toxicol 35: 135-146.

234. Thangarajan S, Deivasigamani A, Natarajan SS, Krishnan P, Mohanan SK (2014). Neuroprotective activity of L-theanine on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rat striatum. Int J Neurosci 124: 673-684.

235. Jo M, Park MH, Choi DY, Yuk DY, Lee YM, Lee JM, Jeong JH, Oh KW, Lee MS, Han SB, Hong JT (2011). Neuroprotective effect of L-theanine on Aβ-induced neurotoxicity through anti-oxidative mechanisms in SK-N-SH and SK-N-MC cells. Biomol Ther 19: 288-295.

236. Sumathi T, Shobana C, Thangarajeswari M, Usha R (2015). Protective effect of L-theanine against aluminium induced neurotoxicity in cerebral cortex, hippocampus and cerebellum of rat brain–histopathological, and biochemical approach. Drug Chem Toxicol 38: 22-31.

237. Egashira N, Hayakawa K, Mishima K, Kimura H, Iwasaki K, Fujiwara M (2004). Neuroprotective effect of gamma-glutamylethylamide (theanine) on cerebral infarction in mice. Neurosci Lett 363: 58-61.

238. Jamwal S, Singh S, Gill JS, Kumar P (2017). L-theanine prevent quinolinic acid induced motor deficit and striatal neurotoxicity: reduction in oxido-nitrosative stress and restoration of striatal neurotransmitters level. Eur J Pharmacol 811: 171-179.

239. Yoneda Y (2017). An L-glutamine transporter isoform for neurogenesis facilitated by L-theanine. Neurochem Res 42: 2686-2697.

240. Takeshima M, Miyazaki I, Murakami S, Kita T, Asanuma M (2016). L-theanine protects against excess dopamine-induced neurotoxicity in the presence of astrocytes. J Clin Biochem Nutr 59: 93-99.

241. Sultan FA (2013). Dissection of different areas from mouse hippocampus. Bio Protoc 3: 955.

242. Sabine Spijker (2011). Dissection of rodent brain regions. Neuromethods 57: 13-26.

243. Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72: 248-254.

244. Stevens A, Wilson I (1996). The haematoxylins and eosin. In: Bancroft JD, Stevens A, Eds. Theory and practice of histological techniques. 4th ed. Churchill Livingstone, New York; Sayfa: 99-112.

245. James L (1996). Techniques in neuropathology. In: Bancroft JD, Stevens A, Eds. Theory and practice of histological techniques. 4th ed. Churchill Livingstone, New York; Sayfa: 343.

246. Kesim M, Yulug E, Kadioglu M, Erkoseoglu I, Aykan DA, Kalyoncu NI, Yaris E (2012). The effect of simvastatin on picrotoxin-induced seizure in mice. J Pak Med Assoc 62: 1187-1191.

247. Hamed SA (2017). Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. Expert Rev Clin Pharmacol 10: 409-428.

248. Salameh TS, Mortell W, Banks WA (2018). Resistin is associated with blood-brain barrier disruption in mice resistant to diet-induced obesity and treated with topiramate. Diabetes 67: 2043.

249. Salameh TS, Shah GN, Price TO, Hayden MR, Banks WA (2016). Blood-brain barrier disruption and neurovascular unit dysfunction in diabetic mice: protection with the mitochondrial carbonic anhydrase ınhibitor topiramate. J Pharmacol Exp Ther 359: 452-459.

250. Sadeghi A, Hami J, Razavi S, Esfandiary E, Hejazi Z (2016). The effect of diabetes mellitus on apoptosis in hippocampus: Cellular and molecular aspects. Int J Prev Med 7: 57.

251. Dienel GA (2019). Brain glucose metabolism: Integration of energetics with function. Physiol Rev 99: 949-1045.

252. Murray M, Stanley M, Lugar HM, Hershey T (2014). Hippocampal volume in type 1 diabetes. Eur Endocrinol 10: 14-17.

253. Kawashiri T, Kobayashi D, Egashira N, Tsuchiya T, Shimazoe T (2020). Oral administration of Cystine and Theanine ameliorates oxaliplatin-induced chronic peripheral neuropathy in rodents. Sci Rep 10: 12665.

254. Sebih F, Rousset M, Bellahouel S, Rolland M, de Jesus Ferreira MC, Guiramand J, Cohen-Solal C, Barbanel G, Cens T, Abouazza M, Tassou A, Gratuze M, Meusnier C, Charnet P, Vignes M, Rolland V (2017). Characterization of L-Theanine excitatory actions on hippocampal neurons: toward the generation of novel N-Methyl-d-

aspartate receptor modulators based on ıts backbone. ACS Chem Neurosci 8: 1724-1734.

255. Terashima T, Takido J, Yokogoshi H (1999). Time-dependent changes of amino acids in the serum, liver, brain and urine of rats administered with theanine. Biosci Biotechnol Biochem 63: 615-618.

256. Chen J, Chen Y, Vail G, Chow H, Zhang Y, Louie L, Li J, Hart RP, Plummer MR, Herrup K (2016). The impact of glutamine supplementation on the symptoms of ataxia-telangiectasia: a preclinical assessment. Mol Neurodegener 11: 60.

257. Luo LL, Li YF, Shan HM, Wang LP, Yuan F, Ma YY, Li WL, He TT, Wang YY, Qu MJ, Liang HB, Zhang ZJ, Yang GY, Tang YH, Wang YT (2019). L-glutamine protects mouse brain from ischemic injury via up-regulating heat shock protein 70. CNS Neurosci Ther 25: 1030-1041.

258. Cisternas P, Martinez M, Ahima RS, William Wong G, Inestrosa NC (2019). Modulation of glucose metabolism in hippocampal neurons by adiponectin and resistin. Mol Neurobiol 56: 3024-3037.

259. Peng WQ, Xiao G, Li BY, Guo YY, Guo L, Tang QQ (2021). L-Theanine activates the browning of white adipose tissue through the AMPK/α-Ketoglutarate/Prdm16 axis and ameliorates diet-induced obesity in mice. Diabetes 16: db201210.

260. Ali AM, Gabbar MA, Abdel-Twab SM, Fahmy EM, Ebaid H, Alhazza IM, Ahmed OM (2020). Antidiabetic potency, antioxidant effects, and mode of actions of citrus reticulata fruit peel hydroethanolic extract, hesperidin, and quercetin in nicotinamide/streptozotocin-ınduced wistar diabetic rats. Oxid Med Cell Longev 2020: 1730492.

261. Abdel Aziz SM, Ahmed OM, Abd El-Twab SM, Al-Muzafar HM, Amin KA, Abdel-Gabbar M (2020). Antihyperglycemic effects and mode of actions of musa paradisiaca leaf and fruit peel hydroethanolic extracts in nicotinamide/streptozotocin-induced diabetic rats. Evid Based Complement Alternat Med 2020: 9276343.

262. Rodrigues L, Wartchow KM, Suardi LZ, Federhen BC, Selistre NG, Gonçalves CA (2019). Streptozotocin causes acute responses on hippocampal S100B and BDNF proteins linked to glucose metabolism alterations. Neurochem Int 128: 85-93.

263. Lin CY, Higginbotham DA, Judd RL, White BD (2002). Central leptin increases insulin sensitivity in streptozotocin-induced diabetic rats. Am J Physiol Endocrinol Metab 282: 1084-1091.

264. Kellar D, Craft S (2020). Brain insulin resistance in Alzheimer's disease and related disorders: mechanisms and therapeutic approaches. Lancet Neurol 19: 758-766.

265. Csajbók ÉA, Tamás G (2016). Cerebral cortex: a target and source of insulin? Diabetologia 59: 1609-1615.

266. Kuwabara T, Kagalwala MN, Onuma Y, Ito Y, Warashina M, Terashima K, Sanosaka T, Nakashima K, Gage FH, Asashima M (2011). Insulin biosynthesis in neuronal progenitors derived from adult hippocampus and the olfactory bulb. EMBO Mol Med 3: 742-754.

267. Arnold SE, Arvanitakis Z, Macauley-Rambach SL, Koenig AM, Wang HY, Ahima RS, Craft S, Gandy S, Buettner C, Stoeckel LE, Holtzman DM, Nathan DM (2018). Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. Nat Rev Neurol 14: 168-181.

268. Saha A, Chatterjee S, Chatterjee A, Roy S, Roy N, Mukhopadhyay S, Bandyopadhyay SK (2018). Insulinotropic and cytoprotective effect of L-theanine: An in vitro dose dependent study. Phcog Mag 14: 36-39.

269. Bungay PJ, Potter JM, Griffin M (1984). The inhibition of glucose-stimulated insulin secretion by primary amines. A role for transglutaminase in the secretory mechanism. Biochem J 219: 819-827.

270. Draganescu D, Andritoiu C, Hritcu D, Dodi G, Popa MI (2021). Flaxseed lignans and polyphenols enhanced activity in streptozotocin-ınduced diabetic rats. Biology (Basel) 10: 43.

271. Hirano T (2018). Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. J Atheroscler Thromb 25: 771-782.

272. Lin L , Zeng L , Liu A , Peng Y , Yuan D , Zhang S , Li Y , Chen J , Xiao W , Gong Z (2020). L-Theanine regulates glucose, lipid, and protein metabolism via insulin and AMP-activated protein kinase signaling pathways. Food Funct 11: 1798-1809.

273. Kim OY, Song J (2020). The importance of BDNF and RAGE in diabetes-induced dementia. Pharmacol Res 160: 105083.

274. Chandrasekhar BVS, Elango P, Maheswari SU, Rajukumar D (2017). A focus on the effect of L-Theanine on improving depression and cognition in C57BL/J male mice subjected for chronic stress induced neuroinflammation. Biomed Pharmacol J 10: 1015-1027.

275. Zheng T, Ge B, Qin L, Chen B, Tian L, Gao Y, Xiao L, Hu X, Pan H, Chen Y (2020). Association of plasma DPP4 activity and brain-derived neurotrophic factor with moderate to severe depressive symptoms in patients with type 2 diabetes: Results from a cross-sectional study. Psychosom Med 82: 350-358.

276. Jo D, Son Y, Yoon G, Song J, Kim OY (2020). Role of adiponectin and brain derived neurotrophic factor in metabolic regulation ınvolved in adiposity and body fat browning. J Clin Med 10: 56.

277. Furukawa K, Fuse I, Iwakura Y, Sotoyama H, Hanyu O, Nawa H, Sone H, Takei N (2017). Advanced glycation end products induce brain-derived neurotrophic factor release from human platelets through the Src-family kinase activation. Cardiovasc Diabetol 16: 20.

278. Numakawa T, Chiba S, Richards M, Wakabayashi C, Adachi N, Kunugi H (2011). Production of BDNF by stimulation with antidepressant-related substances. Journal of Biological Medicine 1: 1-10.

279. Ruiz A, Palacios Y, Garcia I, Chavez-Galan L (2021). Transmembrane TNF and its receptors TNFR1 and TNFR2 in mycobacterial infections. Int J Mol Sci 22: 5461.

280. Jiménez-Maldonado A, Montero S, Lemus M, Cerna-Cortés J, Rodríguez-Hernández A, Mendoza MA, Melnikov V, Gamboa-Domínguez A, Muñiz J, Virgen-Ortiz A, Roces de Alvarez-Buylla E (2019). Moderate and high intensity chronic exercise reduces plasma tumor necrosis factor alpha and increases the langerhans islet area in healthy rats. J Musculoskelet Neuronal Interact 19: 354-361.

281. Chu WM (2013). Tumor necrosis factor. Cancer Lett 328: 222-225.

282. Chang R, Yee KL, Sumbria RK (2017). Tumor necrosis factor α Inhibition for Alzheimer's Disease. J Cent Nerv Syst Dis 9: 1179573517709278.

283. Sato S, Imachi H, Lyu J, Miyai Y, Fukunaga K, Dong T, Ibata T, Kobayashi T, Yoshimoto T, Kikuchi F, Yonezaki K, Yamaji N, Iwama H, Murao K (2018). Effect of TNF-α on the expression of ABCA1 in pancreatic β-cells. J Mol Endocrinol 61: 185-193.

284. Shen Y, Hu H, Fan C, Wang Q, Zou T, Ye B, Xiang M (2021). Sensorineural hearing loss may lead to dementia-related pathological changes in hippocampal neurons. Neurobiol Dis 2021: 105408.

285. Bourgognon JM, Cavanagh J (2020). The role of cytokines in modulating learning and memory and brain plasticity. Brain Neurosci Adv 4: 2398212820979802.

286. Sedky AA, Magdy Y (2021). Reduction in TNF alpha and oxidative stress by liraglutide: Impact on ketamine-induced cognitive dysfunction and hyperlocomotion in rats. Life Sci 278: 119523.

287. Xianchu L, Kang L, Huan P, Ming L (2021). Ursolic acid mitigates cognitive dysfunction through amelioration of oxidative stress, inflammation and apoptosis in diabetic rats. Trop J Pharm Res 20: 803-807.

288. Böni-Schnetzler M, Meier DT (2019). Islet inflammation in type 2 diabetes. Semin Immunopathol 41: 501-513.

289. Dahlén E, Dawe K, Ohlsson L, Hedlund G (1998). Dendritic cells and macrophages are the first and major producers of TNF-alpha in pancreatic islets in the nonobese diabetic mouse. J Immunol 160: 3585-3593.

290. Wang C, Guan Y, Yang J (2010). Cytokines in the progression of pancreatic β-cell dysfunction. Int J Endocrinol 2010: 515136.

291. Hwang YP, Jin SW, Choi JH, Choi CY, Kim HG, Kim SJ, Kim Y, Lee KJ, Chung YC, Jeong HG (2017). Inhibitory effects of L-theanine on airway inflammation in ovalbumin-induced allergic asthma. Food Chem Toxicol 99: 162-169.

292. Zeng WJ, Tan Z, Lai XF, Xu YN, Mai CL, Zhang J, Lin ZJ, Liu XG, Sun SL, Zhou LJ (2018). Topical delivery of L-theanine ameliorates TPA-induced acute skin inflammation via downregulating endothelial PECAM-1 and neutrophil infiltration and activation. Chem Biol Interact 284: 69-79.

293. Liu A, Lin L, Xu W, Gong Z, Liu Z, Xiao W (2021). L-Theanine regulates glutamine metabolism and immune function by binding to cannabinoid receptor 1. Food Funct 12: 5755-5769.

294. Li C, Meng F, Lei Y, Liu J, Liu J, Zhang J, Liu F, Liu C, Guo M, Lu XY (2020). Leptin regulates exon-specific transcription of the BDNF gene via epigenetic modifications mediated by an AKT/p300 HAT cascade. Mol Psychiatry doi: 10.1038/s41380-020-00922-0.

295. Harvey J, Solovyova N, Irving A (2006). Leptin and its role in hippocampal synaptic plasticity. Prog Lipid Res 45: 369-378.

296. Onyemelukwe OU, Ogoina D, Onyemelukwe GC (2020). Leptin concentrations in type 2 diabetes and non-diabetes Nigerian-Africans. Am J Cardiovasc Dis 10: 444-454.

297. Gulen S, Dincer S (2007). Effects of leptin on oxidative stress in healthy and Streptozotocin-induced diabetic rats. Mol Cell Biochem 302: 59-65.

298. Aktaş ŞH, Pençe HH, Özçelik F, Sayir N, Sapmaz T, Kutlu O, Karabela ŞN, Elcioglu HK (2020). Vaspin, adiponectin and leptin levels in type 1 diabetic rats induced by streptozotocin. Acta Endocrinol (Buchar) 16: 136-141.

299. Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Vilariño-García T, Sánchez-Margalet V (2020). Role of leptin in inflammation and vice versa. Int J Mol Sci 21: 5887.

300. Zhang Y, Hufnagel C, Eiden S, Guo KY, Diaz PA, Leibel R, Schmidt I (2001). Mechanisms for LEPR-mediated regulation of leptin expression in brown and white adipocytes in rat pups. Physiol Genomics 4: 189-199.

301. Chen MD, Song YM (2016). The relationship between plasma levels of large neutral amino acids and leptin in women with or without obesity. Arch Prev Med 1: 1-3.

302. Choi HM, Doss HM, Kim KS (2020). Multifaceted physiological roles of adiponectin in inflammation and diseases. Int J Mol Sci 21: 1219.

303. Nguyen TMD (2020). Adiponectin: Role in physiology and pathophysiology. Int J Prev Med 11: 136.

304. Frystyk J, Tarnow L, Hansen TK, Parving HH, Flyvbjerg A (2005). Increased serum adiponectin levels in type 1 diabetic patients with microvascular complications. Diabetologia 48: 1911-1918.

305. Pradeepa R, Surendar J, Indulekha K, Chella S, Anjana RM, Mohan V (2015). Association of serum adiponectin with diabetic microvascular complications among south Indian type 2 diabetic subjects - (CURES-133). Clin Biochem 48: 33-38.

306. Bahniwal M, Little JP, Klegeris A (2017). High glucose enhances neurotoxicity and inflammatory cytokine secretion by stimulated human astrocytes. Curr Alzheimer Res 14: 731-741.

307. Jin X, Wang Y (2021). Mechanisms of adiponectin in regulation of proinflammatory cytokine production and migration in macrophages. J Inflamm Res 14: 981-993.

308. Sumathi T, Asha D, Nagarajan G, Sreenivas A, Nivedha R (2016). L-Theanine alleviates the neuropathological changes induced by PCB (Aroclor 1254) via inhibiting upregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress in rat brain. Environ Toxicol Pharmacol 42: 99-117.

309. Wilkinson M, Wilkinson D, Wiesner G, Morash B, Ur E (2005). Hypothalamic resistin immunoreactivity is reduced by obesity in the mouse: co-localization with alpha-melanostimulating hormone. Neuroendocrinology 81: 19-30.

310. Badoer E, Kosari S, Stebbing MJ (2015). Resistin, an adipokine with non-generalized actions on sympathetic nerve activity. Front Physiol 6: 321.

311. Badoer E (2021). Cardiovascular and metabolic crosstalk in the brain: Leptin and resistin. Front Physiol 12: 639417.

312. Tripathi D, Kant S, Pandey S, Ehtesham NZ (2020). Resistin in metabolism, inflammation, and disease. FEBS J 287: 3141-3149.

313. Xiaoying L, Li T, Yu S, Jiusheng J, Jilin Z, Jiayi W, Dongxin L, Wengang F, Xinyue Z, Hao Y, Yuhua C, Deshu S (2019). Resistin-inhibited neural stem cell-derived astrocyte differentiation contributes to permeability destruction of the blood-brain barrier. Neurochem Res 44: 905-916.

314. Saeedi Borujeni MJ, Esfandiary E, Taheripak G, Codoñer-Franch P, Alonso-Iglesias E, Mirzaei H (2018). Molecular aspects of diabetes mellitus: Resistin, microRNA, and exosome. J Cell Biochem 119: 1257-1272.

315. Mohammad P, Esfandiar KZ, Abbas S, Ahoora R (2019). Effects of moderate-intensity continuous training and high-intensity interval training on serum levels of Resistin, Chemerin and liver enzymes in Streptozotocin-Nicotinamide induced Type-2 diabetic rats. J Diabetes Metab Disord 18: 379-387.

316. Zarei S, Saidijam M, Karimi J, Yadegarazari R, Rezaei Farimani A, Hosseini-Zijoud SS, Goodarzi MT (2016). Effect of resveratrol on resistin and apelin gene expressions in adipose tissue of diabetic rats. Turk J Med Sci 46: 1561-1567.

317. Huang J, Peng X, Dong K, Tao J, Yang Y (2021). The association between ınsulin resistance, leptin, and resistin and diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus patients with different body mass ındexes. Diabetes Metab Syndr Obes 14: 2357-2365.

# EKLER

**Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi**

**EK 1.** (Devam)

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER


**Soyadı, Adı** HAJIZADEH TEKMEH, Hamed

**Uyruğu**

**Doğum Tarihi ve Yeri**

**Telefon (İş)**

**E-Posta**

**Yazışma Adresi (İş)**


## EĞİTİM BİLGİLERİ

| Derece | Mezun Olduğu Kurumun Adı | Mezuniyet Yılı |
|---|---|---|
| **Doktora** | KTÜ Tıbbi Biyokimya AbD | 2021 |
| **Yüksek Lisans** | KTÜ Tıbbi Biyokimya AbD | 2015 |
| **Lisans** | Payam-i Nur Üniversitesi, Urmiye | 2010 |
| **Lise** | Salmas Chamran Lisesi | 2004 |

## YABANCI DİL

1. Türkçe
2. İngilizce
3. Farsça

## BİLDİRİLER

1. **Hajizadeh Tekmeh H**, Vanizor Kural B, Demir S, Us Altay D, Ozer Yaman S, Kor S, Orem A, Alasalvar C and Turan I. "Effect of instant black tea on gene expression of paraoxonase-1 in hepatocyte (HepG2) cell lines" The 2nd International and 14th Iranian Nutrition Congress, Tehran, Iran, September 2016, pp. 83.

## HOBİLER

1. Doğa yürüyüşü
2. Yüzme