

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBU TÜKETEN
SIÇANLARDA OLASI DAVRANIŞ DEĞİŞİKLİKLERİNİN
GÖRÜNTÜ İŞLEME TEKNİKLERİYLE ANALİZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖKHAN ZORLU

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi İhsan SERHATLIOĞLU

ELAZIĞ- 2018

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Mete ÖZCAN

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

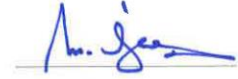
Dr.Öğretim Üyesi. İhsan SERHATLIOĞLU



Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN



Sayın Doç. Dr. Ayşe DEMİRKAZIK



Sayın Dr. Öğretim Üyesi. İhsan SERHATLIOĞLU



Değerli AİLEM'e



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, Çalışmaların planlanmasından, bulguların elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışımın olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Gökhan ZORLU

09/07/2018

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Gökhan ZORLU, written over the date.

TEŞEKKÜR

Bizlere ilim ve irfan kaynağı olan büyük bilim insanı değerli hocamız Sayın Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR’a, Yüksek Lisansa başladığım ilk günden bu yana bizleri ilk önce iyi bir insan sonrasında da iyi bir bilim insanı olma yolunda çabalayan gerekirse bize ailesinden daha fazla zaman ayıran, Sayın Dr. Öğr. Üyesi İhsan SERHATLIOĞLU, Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emine KAÇAR, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ ve Sayın Prof. Dr. Sinan Canpolat’a, yüksek lisans eğitimim süresince gösterdikleri sabır ve verdikleri desteklerden dolayı minnettarım.

Eğitim sürecinde benimle bütün tecrübelerini paylaşan, her türlü sorunlarıma çözüm arayan ve maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen değerli abla ve abi ve kardeşlerim Dr. Öğr. Üyesi Zübeyde Ercan’a, Arş. Gör. Nazife Ülker’e, Arş. Gör. Ahmet Yardımcı’ya, Arş. Gör. Serdar Şahintürk’e, Fatih Tan’a, Sedef Doğru’ya, Batuhan Bilgin’e sonsuz teşekkür ve minneti bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ONAY SAYFASI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ETİK BEYAN	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	1
3. GİRİŞ	3
3.1. Fruktoz	3
3.1.1. Fruktozun Tanımı	3
3.1.2. Fruktozun Metabolizması	5
3.1.3. Fruktoz ve Oksidatif Stres	9
3.1.4. Fruktozun Sağlığa Etkileri	10
3.1.5. Fruktozun Neden Olduğu Hastalıklar	11
3.2. Stres	12
3.2.1. Stres Tanımı	12
3.2.1.1. Selye'nin Genel Adaptasyon Sendromu	13
3.2.2. Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı (HPA)	14
3.2.3. Stres Mediatorleri	16
3.2.3.1. Monoaminler	16
3.2.3.1.1. Serotonin ve Dopamin	16

3.2.3.1.2. Adrenalin ve Noradrenalin	17
3.2.3.2. Nöropeptidler	18
3.2.3.2.1. Kortikotropin- Serbestleştirici hormon (CRH)	18
3.2.3.2.2. Ürokortinler (UCN)	19
3.2.3.2.3. Arjinin Vazopressin (AVP)	19
3.2.3.2.4. Oksitosin	19
3.2.3.2.5. Adrenokortikotropik Hormon (ACTH)	20
3.2.3.3. Adrenal Bez	21
3.2.3.3.1. Kortizol ve Kortikosteroidler	21
3.2.3.4. Limbik Sistem	23
3.3. Oksidatif Stres	24
3.4. TRPM2 Kanalları	27
3.4.1. TRP Kanalları	27
3.4.1.1. TRPM Kanalları	29
3.4.1.1.1. TRPM2 Kanalları	30
3.4.1.1.1.1. TRPM2 Kanallarının Yapısı	31
3.4.1.1.1.2. TRPM2 Kanallarının Aktivasyonu ve Modülasyonu	34
3.4.1.1.1.3. Nöronal Hücrelerde TRPM2 Kanallarının Rolü	36
3.4.1.1.1.5. Hipokampal Nöronlardaki TRPM2 Kanalları Üzerinde Oksidatif Stresin Rolü	38
3.4.1.1.1.6. TRPM2 ve Hücre Ölümü	39
3.5. LabVIEW	40
3.5.1. LabVIEW Grafiksel Arayüz Programı	40
3.5.2. LabVIEW Çalışma Şekli	41
3.5.3. LABVIEW’de Nesne Tanımlama	42
3.5.4. Görüntü İzleme	44

3.5.5. Vision and Motion Modülü	47
3.5.6. Vision Utilities Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları	49
3.5.7. Vision Acquisition Express VI Kullanımı	51
3.5.8. IMAQdx Kullanımı	53
3.5.9. Image Processing Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları	53
3.5.10. Machine Vision Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları	56
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER	59
4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	59
4.1.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	60
4.1.2. Davranış Testleri Analizi	61
4.1.3. YFMS Çözeltilisinin Hazırlanışı	61
4.1.4. Hayvanların Vücut Ağırlığının Takibi	62
4.1.5. Yem ve Su Tüketiminin Belirlenmesi	62
4.2. Stres Modelleri	62
4.2.1. Kronik İmmobilizasyon Stresi	63
4.3. Davranış Testleri	63
4.3.1. Kuyruktan Asma Testi	64
4.3.2. Açık Alan Testi	65
4.3.3. Aydınlık-Karanlık Testi	67
4.4. Cerrahi İşlemler	69
4.4.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Yapılacak Analizler	70
4.4.1.1. ELISA Yöntemi	70
4.5. İmmünohistokimya	72
4.6. LabVIEW ile Görüntü işleme	74

4.7. İstatistiksel Analiz	74
5. BULGULAR	75
5.1. Gıda Alımı ve Vücut Ağırlık Değişimine İlişkin Veriler	75
5.2. Doku Ağırlıkları	77
5.3. Kuyruktan Asma Test Sonuçları	78
5.4. Aydınlık-Karanlık Test Sonuçları	80
5.5. Açık Alan Test Sonuçları	81
5.5. Biyokimya Sonuçları	84
5.5.1. Serum Glikoz Düzeyleri	84
5.5.2. Serum İnsülin Düzeyleri	85
5.5.3. Serum Kortikosteron Düzeyleri	86
5.5.4. Serum Trigliserit Düzeyleri	87
5.5.5. Serum TAS Düzeyleri	89
5.5.6. Serum TOS Düzeyleri	90
5.5.7. Serum OSI Düzeyleri	91
5.5.8. Serum Total Kolesterol Düzeyleri	92
5.5.9. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri	93
5.6. İmmünohistokimya	95
5.6.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi	95
5.6.1.1. Amigdala	95
5.6.1.2. Accumbens	98
5.6.1.3. Hipokampus	100
5.6.1.4. Prefrontal Korteks	103
6. TARTIŞMA	106
6.1. Yem, Su ve Ağırlık Değerleri	107
6.2. Biyokimyasal Parametreler	110

6.2.1. HDL, LDL ve VLDL	110
6.2.2. Kortikosteron	111
6.2.3. Total Kolesterol	112
6.2.4. Trigliserit	112
6.2.5. Glikoz ve İnsülin	113
6.2.6. TAS ve TOS	114
6.3. Davranış Testleri	115
6.3.1. Anksiyete Testleri	115
6.3.2. Depresyon Testleri	117
6.4. Bazı Beyin Bölgelerinde TRPM-2 Aktivasyonu	117
7. KAYNAKÇA	122
8. EKLER	144
Ek 1: Aydınlık Karanlık Testi Blok Diyagramı	145
Ek 2:Aydınlık Karanlık Testi Ön Panel	146
Ek 3: Kuyruktan Asma Testi Blok Diyagramı	147
Ek 4: Kuyruktan Asma Testi Ön Panel	148
Ek 5: Açık Alan Testi Blok Diyagramı	149
Ek 6: Açık Alan Testi Ön Panel	150
9. ÖZGEÇMİŞ	151

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Kullanılan Sıçan Yemi İçeriği	60
Tablo 2. Davranış Test Programı	64
Tablo 3. Doku Ağırlıkları	78
Tablo 4. Kuyruktan Asma Testi	78
Tablo 5. Aydınlık Karanlık Testi	80
Tablo 6. Açık Alan Testi	82
Tablo 7. Serum Glikoz Düzeyi	84
Tablo 8. Serum İnsülin Düzeyi	85
Tablo 9. Serum Kortikosteron Düzeyi	87
Tablo 10. Serum Trigliserit Düzeyi	88
Tablo 11. Serum TAS Düzeyi	89
Tablo 12. Serum TOS Düzeyi	90
Tablo 15. Serum OSI Düzeyi	91
Tablo 16. Serum Total Kolesterol Düzeyi	92
Tablo 17. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri	94
Tablo 18. TRPM2 İmmünreaktivitesi Histoskor	105

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Fruktozun besin kaynaklarına göre yüzde olarak dağılımı	4
Şekil 2. Monosakkaritlerin ince bağırsak çeperinden hücreye ve hücreden kana geçiş şeması.	7
Şekil 3. Karaciğerde fruktoz metabolizması	8
Şekil 4. Stresle HPA aksının aktivasyonu	15
Şekil 5. Oksidatif denge	25
Şekil 6. TRPM Alt Ailesi	29
Şekil 7. A, TRPM2 protein yapısı, B, TRPM2 transmembran topolojisi	32
Şekil 8. TRPM2 aktivasyonu için sinyal mekanizması	35
Şekil 9. Oksidatif stres in TRPM2 kanal aktivasyon mekanizması	37
Şekil 10. Şablon düzenleyicisi	45
Şekil 11. Örüntü tanıma	46
Şekil 12. Vision and Motion modülü	48
Şekil 13. Vision Utilities nesne grubunda bulunan nesne ve alt nesne grupları	49
Şekil 14. Bitmiş LabVIEW programının basitçe görüntüsü	52
Şekil 15. NI-IMAQdx paletinin görüntüsü	53
Şekil 16. “Image Processing” Nesne Grubu	54
Şekil 17. “Processing” Nesne Grubu	54
Şekil 18. “Machine Vision” Nesne İçeriği	56
Şekil 19. Kısıtlama Aparatında Stres Uygulaması.	63
Şekil 20. Kuyruktan Asma Testi uygulaması.	65
Şekil 21. Açık Alan Testi Uygulaması.	67
Şekil 22. Aydınlık Karanlık Testi Uygulaması.	69
Şekil 23. Yem Tüketimi.	75
Şekil 24. Sıvı Tüketimi.	76
Şekil 25. Canlı Ağırlık Değişimi.	77
Şekil 26. Kuyruktan Asma Testi.	79
Şekil 27. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.	79

Şekil 28. Aydınlık Karanlık Testi.	81
Şekil 29. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.	81
Şekil 30. Açık Alan Testi	83
Şekil 31. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.	83
Şekil 32. Serum Glikoz Düzeyi	85
Şekil 33. Serum İnsülin Düzeyi	86
Şekil 34. Serum Kortikosteron Düzeyi	87
Şekil 35. Serum Trigliserit Düzeyi	88
Şekil 36. Serum TAS Düzeyi	89
Şekil 37. Serum TOS Düzeyi	90
Şekil 38. Serum OSI Düzeyi	91
Şekil 39. Serum Total Kolesterol Düzeyi	92
Şekil 40. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri	95
Şekil 41. Kontrol grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	96
Şekil 42. F20 grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	96
Şekil 43. F40 grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	97
Şekil 44. Stres grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	97
Şekil 45. Kontrol grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	98
Şekil 46. F20 grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	99
Şekil 47. F40 grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	99
Şekil 48. Stres grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	100
Şekil 49. Kontrol grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	101
Şekil 50. F20 grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	101
Şekil 51. F40 grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	102

Şekil 52.	Stres grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	102
Şekil 53.	Kontrol grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	103
Şekil 54.	F20 grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	104
Şekil 55.	F40 grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	104
Şekil 56.	Stres grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi	105



1. ÖZET

Bu tez çalışmasında, Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (YFMŞ) tüketiminin, strese bağlı olarak meydana gelen davranış değişiklikleri arasındaki olası ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca depresyon ve anksiyete benzeri davranışların tespitinde kullanılan aydınlık-karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testlerinden elde edilen verileri otomatik olarak değerlendirebilmek için kullanılacak yeni bir yazılım tasarlanmaya çalışılmıştır. Çalışmamızda 32 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar kontrol, %20' lik YFMŞ (F20), %40' lık YFMŞ (F40) ve stres uygulanan 4 eşit gruba ayrılmıştır. 14 günlük çalışma periyodunda hayvanlara içme suyuna %20 ve %40' lık YFMŞ karıştırılmış çözelti verilmiş, stres grubundaki hayvanlara ise ilk hafta 3 saat, 2. hafta 6 saat süren kısıtlama stresi uygulanmıştır. Çalışma süresince günlük olarak hayvanların yem, su ve ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir. Çalışmanın 10., 12. ve 14. günlerinde sırasıyla aydınlık-karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testleri uygulanmıştır. Çalışma sonunda sıçanlardan alınan kan örnekleri ile çeşitli biyokimyasal parametrelerin ölçümü yapılmış, beyin dokularında imminohistokimyasal yöntemler kullanılarak TRPM2 kanal aktivitesi belirlenmiştir. LabVIEW Vision geliştirme ortamı kullanılarak anksiyete ve stres testlerinde kaydedilen video verilerinin otomatik olarak değerlendirilmesinde kullanılabilecek bir yazılım tasarlanmıştır.

Çalışma sonucunda F20 grubunda sıvı tüketiminin ve canlı ağırlığının diğer gruplara göre önemli ölçüde arttığı, F40 grubunda ise istatistiksel anlam olmamasına rağmen sıvı tüketimi ve gıda tüketimi kontrole göre azalmışken canlı ağırlığın arttığı belirlenmiştir. Davranış testleri değerlendirildiğinde; kuyruktan

asma testinde, stres grubunda hareketsiz kalma süresi kotrole göre anlamlı ölçüde artmıştır. Benzer artış F20 ve F40 gruplarında da görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlam bulunamamıştır. Aydınlık karalık testinde, karanlıkta kalma süresi F20, F40 ve stres gruplarında kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Aydınlıktan karanlığa ilk geçiş anı azalmış fakat istatistiksel olarak anlam bulunamamıştır. Açık alan testinde ise geçilen çizgi sayısı F20, F40 ve stres gruplarında azalma görülürken sadece stres grubunda kontrole göre anlam bulunmuştur. Biyokimyasal parametrelere bakıldığında; serum glikoz, insülin, LDL, VLDL, trigliserit, total kolesterol, TOS, Kortikosteron düzeyleri F20 ve F40 gruplarında artış gösterirken TAS düzeyi değişmemiş, HDL düzeyi ise azalmıştır. Bu sonuçlar genel olarak stres grubu verileri ile benzer bulunmuştur. Yapılan immünohistokimyasal ölçümlerde F20, F40 ve stres gruplarında TRPM2 immünoaktivitesinin hipokampus, prefrontal korteks, nucleus accumbens ve amigdala bölgesinde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile YFMS tüketen hayvanların davranış testleri, immünohistokimyasal ve biyokimyasal verileri strese maruz bırakılan hayvanların verileri ile benzer bulunmuştur. Çeşitli beyin bölgelerinde immünohistokimyasal olarak YFMS'nin TRPM2 kanal aktivitesini artırdığı ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan davranış testlerinden elde edilen video görüntülerinin değerlendirilmesinde tamamen yenilikçi bir yazılım tasarlanarak bu yazılım verilerin analizinde kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fruktoz, Stres, Davranış, TRPM2, İmmünohistokimya

2. ABSTRACT

In this thesis, investigation between the possible relation between the consumption of High Fructose Corn Syrup (HFCS) and stress-related behavioral changes was aimed. Additionally, designing a software to evaluate the data acquired from the dark-light, open field and tail suspension tests to determine the depression- and anxiety-like tests was intended. In our study, we used 23 male Sprague-Dawley rats. Animals were equally divided into four groups as control, rats were administered with 20 % HFCS (F20) and 40 % HFCS (F40), and exposed stress. During the study period of 14 days, rats in the groups of F20 and F40 were administered with 20 and 40 % HFCS in drinking water, respectively, and stress group was subjected to restraint stress for 3 h in first week and 6 h in second week. The food and water consumption and weight of the rats were recorded. Rats were subjected to dark-light, open field and tail suspension tests on the study days of 10, 12 and 14, respectively. At the end of the study, blood samples were collected for various biochemical parameters were measured, and TRPM2 channel activity in brain tissues was determined by immunohistochemical methods in the rats. A software was designed evaluating the video recordings from the anxiety and stress tests automatically by using the LabVIEW Vision Development Module.

At the end of the study, F20 group was found to have increased liquid consumption and body weight significantly increased compared to other groups. On the other hand, F40 group had decreased liquid and food intake and increased body weight, but these differences were non-significant compared to other groups. When the behavioral tests were analysed, it was found that stress group had

significantly increased immobility time in the stress group during the tail suspension test compared to control group. Similar but non-significant increases in the immobility time were found in F20 and F40 groups. Light-dark test revealed a significant increase in the time spent in the dark compartment in the F20, F40 and stress groups compared to control group. The latency to time for the passage from the light to dark was found decreased but it was found non-significant. The number of crossing the lines in the open field test were found decreased in F20, F40 and stress groups but it was only significant for stress group compared to control. When the biochemical parameters were considered, serum glucose, insulin LDL, VLDL, triglyceride, total cholesterol, TOS and corticosterone levels were increased in F20 and F40 were increased, TAS levels did not change, and HDL levels were decreased. These were similar to the data from the stress group. The immunohistochemical analyses revealed that TRPM2 immunoreactivity in hippocampus, prefrontal cortex, nucleus accumbens and amygdala regions were significantly increased in the F20, F40 and stress groups compared to the control group.

In conclusion, the behavioral tests, immunohistochemical and biochemical parameters of the animals consuming HFCS and the animals exposed to stress were found similar. This study is the first study showing immunohistochemically that HFCS consumption increases the TRPM2 channel activity in different brain regions. A novel software was designed for evaluation of the video recordings acquired in the behavioral tests and it was used in this study.

Key words: Fructose, Stress, Behavior, TRPM2, Immunohistochemistry

3. GİRİŞ

3.1. Fruktoz

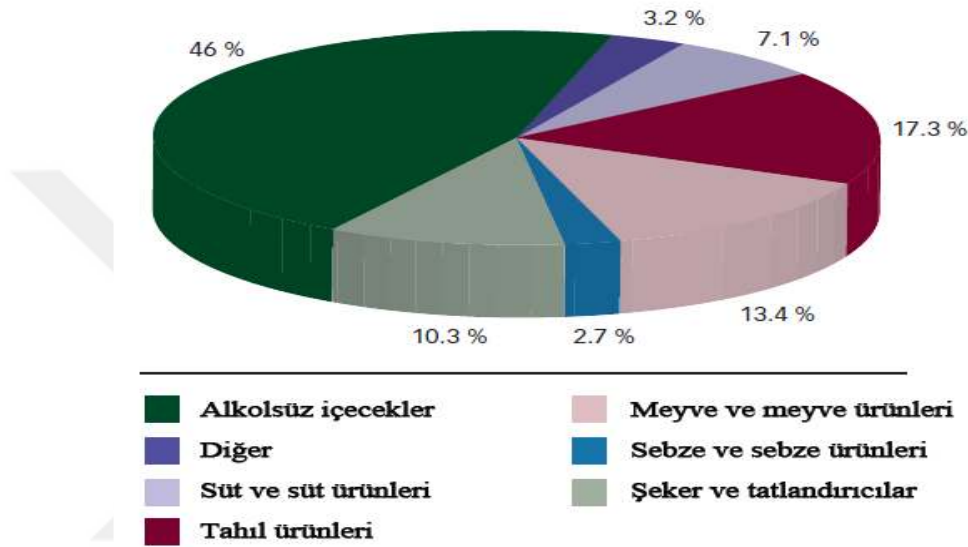
3.1.1. Fruktozun Tanımı

Fruktoz meyve şekeri olarak bilinen altı karbonlu bir monosakkarit türevidir. Kimyasal formülü $C_6H_{12}O_6$ 'dır (1). Fransız bir kimyager tarafından ilk kez 1847 yılında tanımı yapılmıştır (2). Saf, beyaz, kokusuz, kuru, tatlı ve kristal yapıya sahiptir. Bitkilerdeki fruktozun diğer monosakkarit türevleriyle birleşimi sonucunda disakkarit formu oluşur. Fruktoz üretiminde şeker kamışı, şeker pancarı ve mısır kullanılır. Kristal formdaki fruktoz yüksek saflıkta monosakkarit formundadır. Monosakkarit formdaki fruktoz ve glikozun bağ oluşturmada bulunmuş yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS) diğer formudur. Üçüncü form ise fruktoz ve glikozun bileşik yapısıyla oluşturduğu süktrozdur (3).

Fruktoz'un Önemli Özellikleri;

1. Tadı dil tarafından süktroz veya dekstroza göre daha erken algılanır.
2. Fruktozun, süktrozdan daha yüksek olan tat zirvesi süktrozdan daha çabuk azalmaktadır.
3. Fruktoz sistemdeki diğer tatların etkisini belirginleştirebilir (3).
4. Bilinen karbonhidrat türleri arasında tatlılık oranı en yüksek olan fruktozdur.
5. Tatlılık dereceleri karşılaştırıldığında süktrozun tatlılık oranının 100 kabul edildiği bir durumda fruktoz 105 ve 125 değerleri arasında olduğu kabul edilir (4).
6. Donma noktası düşüktür.

7. Birçok ürün ile çabuk karışıp çözünebilecek yapıdadır.
8. Nem tutma oranı fazladır.
9. Glikoz ile aynı enerji yüküne sahiptir.
10. Glikozdan daha az tokluk hissi verir.
11. Maliyeti düşük ve raf ömrü de uzundur (5).



Şekil 1. Fruktozun besin kaynaklarına göre yüzde olarak dağılımı (6).

YFMS 1957 yılında iki bilim insanı olan Marshall ve Kooi'nin izomerase enzimini keşfetmelerine takiben mısır şurubundaki glikozu fruktoza dönüştürerek YFMS nin üretilmesine olanak sağlamışlardır (7). 1960' lı yılların sonunda %42' lik YFMS, 1970' li yılların sonunda %55' lik YFMS ilk olarak üretilmiştir (8). 1980' li yıllarda birçok gazlı içecek ve meşrubatta asıl tatlandırıcı olarak kullanılan sükröz yerine %55' lik YFMS kullanılmaya başlanmıştır (9). YFMS üretim sürecinde hammadde olan mısır nişastası kimyasal ve enzimatik hidroliz yöntemleri aracılığıyla sıvılaştırma, parçalama ve izomerizasyon proses süreçlerinden geçerek son ürün haline dönüştürülür (7). Üretim sürecinde mısır

nişastasını basit şeker olan glikoz ve fruktoza dönüştürmek için üç farklı enzimden faydalanılmaktadır (10). İlk aşamada alfa amilaz enzimi ile uygun şartlarında nişasta granülleri hidrolize edilerek dekstrin zincirlerine ayrılır. Ardından glukoamilaz enzimi ile dekstrin zincirleri bireysel dekstrin moleküllerine ve son olarak glikoz, izomeraz enziminin de yardımıyla fruktoza dönüşümü gerçekleştirilmektedir (11). Hidroliz sürecinde asitlerden de faydalanılmaktadır (12). Kompleks bir damıtma ve kombine proses süreçlerinden sonra fruktoz içeriği %42, %55 ve %90 olan şuruplar elde edilir (13).

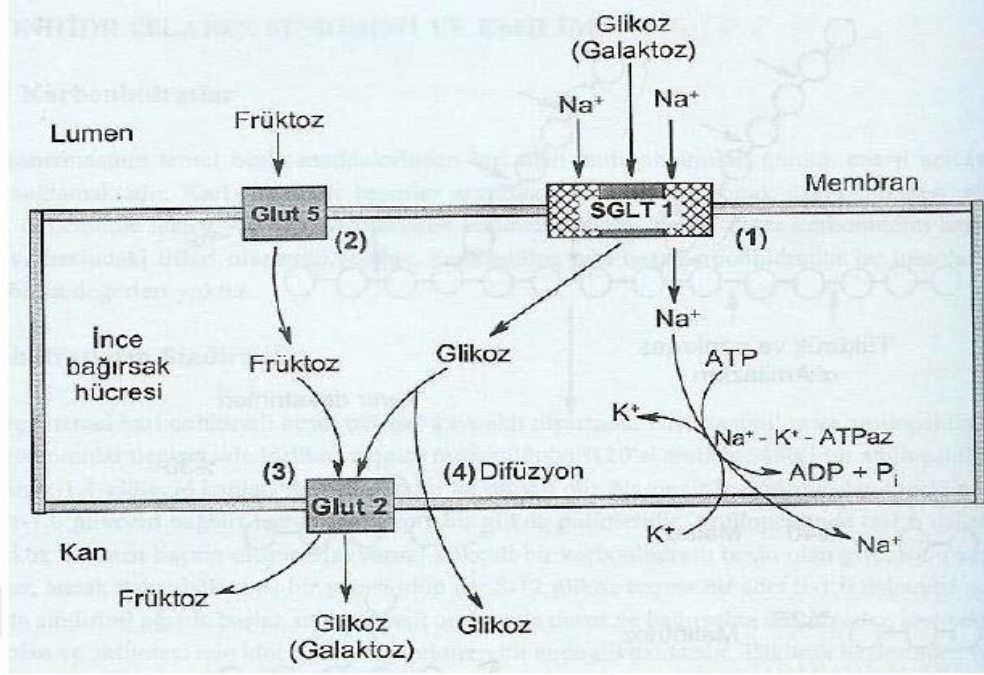
Mısır şurubu'nun sükroz ve glikoz'a kıyasla tercih nedenleri;

1. Gıdaların raf ömrünün uzamasına katkıda bulunması,
2. Daha tatlı yapıya sahip olması,
3. Kurumayı önleyici yapıda olması,
4. Geç kristalleşen formda olması,
5. Fermantasyona uygun yapıya sahip olması,
6. Özgün tadı maskeleyerek tadı değiştirmemesi ve piyasada kullanılan diğer şuruplara oranla daha ucuz olması nedeniyle daha efektif biçimde kullanılır (14).

3.1.2. Fruktozun Metabolizması

Fruktoz gıdalarda monosakkarit (saf fruktoz) veya disakkarit (sükroz) formda görülmektedir. Saf fruktoz sindirilmeden ve değişime uğramadan direkt olarak emilmektedir. Sükroz ise ince bağırsağa geldiğinde, sükras enzimi aracılığıyla fruktoz ve glikoza ayrıştırılmaktadır. Bağırsak hücrelerinin lümene bakan yüzünde sodyum- glukoz transporter 1 (SGLT-1) isimli bir taşıyıcı protein bulunmaktadır. Bu taşıyıcı protein sodyum için iki, glikoz için ise bir bağlanma

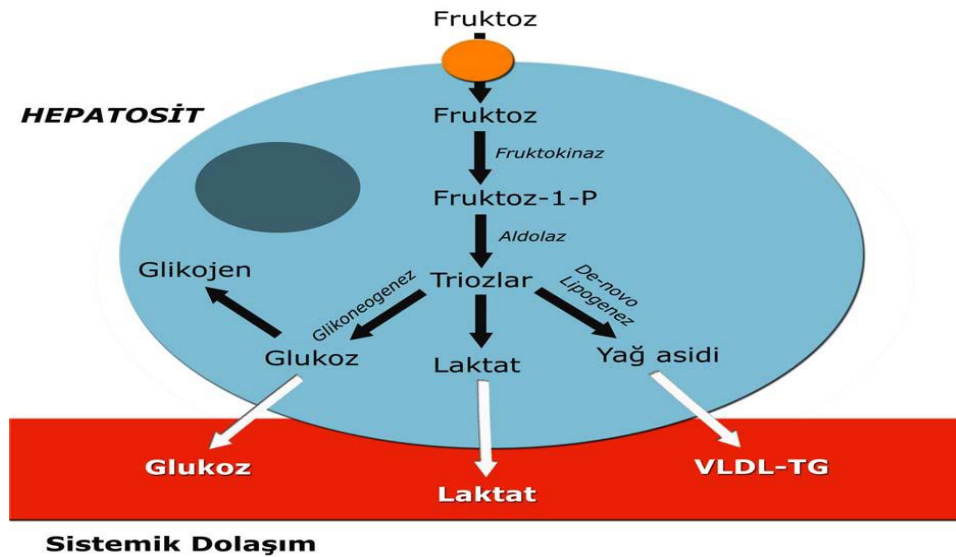
noktasını üzerinde bulundurmaktadır (15). Sodyumun bağlanması proteinde yapısal bir değişime sebep olarak glikozun SGLT-1' e kolay bir şekilde bağlanmasını sağlar. Bağırsak epitelyum hücresinde bulunan sodyum iyonları taşıyıcıdan uzaklaştırıldığında konformasyonu farklılaşan taşıyıcının glikoza ilgisi azalmakta ve glikoz serbest hale gelmektedir (15). Glikoz aracılığıyla hücre içine giren sodyum, aktif transport vasıtasıyla hücrelerarası boşluğa gönderilir. Hücrelerarası boşluğa göndermek için $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ az pompasından faydalanılır (15). Glikoz basit difüzyon veya GLUT2 denilen taşıyıcının yaptığı kolaylaştırılmış difüzyon aracılığıyla hücreler arası boşluğa ve devamında kapiller kana geçmektedir. Birçok bilim çevresince mukozal dokuda meydana gelen fruktoz emiliminin GLUT5 aracılı kolaylaştırılmış difüzyonla gerçekleştiği kabul görülmektedir (15). Diyetle alınan fruktoz özel bir fruktoz taşıyıcısı olan GLUT5 aracılığıyla bağırsak hücresine alınmaktadır. Fruktozun bağırsaklardan alınımı glikozun aksine Na^+ 'dan bağımsız olarak gerçekleşir ve enerjiye ihtiyaç duymaz. Bağırsak hücresine alınan fruktoz sonrasında enterositin bazolateralindeki GLUT2 taşıyıcıları vasıtasıyla kana geçişi sağlanır. Enterosit içinde fruktozun bir kısmının laktata dönüşümü sağlanır. Bir kısmı ise trioz fosfatlar üzerinden glikoza çevrilir (15).



Şekil 2. Monosakkaritlerin ince bağırsak çeperinden hücreye ve hücreden kana geçiş şeması.[1] aktif transport, [2] ve [3] kolaylaştırılmış transport,[4] pasif transport (15).

Fruktoz karaciğerde metabolize edilmektedir (16). Bağırsaklardan emilerek portal sisteme geçen fruktozun metabolitesi büyük oranla karaciğerde gerçekleşmektedir (17). Fruktozun ve glikozun karaciğer metabolizması birçok temel farklılıklar içerir. Fruktoz karaciğerde fruktokinaz enzimi aracılığıyla fosforile edildiğinde fruktoz-1-fosfata dönüşmektedir. Fruktoz-1-fosfattan dihidroksiaseton fosfat, gliseraldehit ve gliseraldehit-3-fosfat oluşur. Bu üç karbonlu moleküller sonrasında, glukoneogenez ile glikoz veya *de novo* trigliserid (TG) sentezine yönelir. Fruktoz metabolizması bu özelliği glikoz metabolizmasının tam tersidir (18). Glikozdan TG üretilmesini kontrol altında tutan metabolik bazı süreçler bulunur. Bu mekanizmalar, glikozdan glikojen üretilmesi, glikoliz ürünlerinden yağ asiti yerine glukoneogenez ile yeniden glikoz elde edilmesi ve bu metabolizmayı yavaşlatıcı enzim olan fosfofruktokinaz enzimi

ile kontrol edilir. Fruktozdan fruktoz-1-fosfatın oluşum aşaması, hız kısıtlayıcı fosfofruktokinaz enzimle bağlantısızdır ve fruktozdan kaynaklanan ara metabolitler bu enzimden sonra glikoliz basamaklarına katılırlar. Bu durum sonucunda fruktoz kaynaklı üç karbonlu moleküller gliserol ve yağ asiti sentezi için kullanılarak TG' leri oluşturur. Fruktoz metabolizmasının hız kısıtlayıcı fosfofruktokinaz basamağını atlaması sonucunda anabolik hormon türündeki insulin ile düzenlenen glikojenin ve yağ depolanmasının düzeni bozulur (19). Üretilen TG karaciğerde çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) olarak paketlenerek kana geçirilir. VLDL kanda bulunduğu süreçte lipoprotein lipaz tarafından monoaçıl gliserole ve non-esterifiye yağ asitlerine (NEFA) hidroliz yoluyla ayrıştırılır. Yağ dokusu bu ara ürünleri alarak yeniden TG sentezleyip depolar. Bu metabolik süreçler sebebiyle yüksek düzeyde fruktoz tüketimi kan yağ asiti seviyesini yükseltip, insülinin bağımsız şekilde yağ depolanmasını sağlar (20).



Şekil 3. Karaciğerde fruktoz metabolizması (20).

Bağırsaklardan GLUT5 taşıyıcı proteiniyle emilip, portal sisteme katılan fruktozun büyük çoğunluğu karaciğer hücresine geçer. Fruktozdan enzimatik basamaklarla üç karbonlu (trioz) ara ürünler oluşur. Triozlar, glukoneogenez aracılığıyla glikoz ve glikojen üretimi amacıyla kullanılabilir. Dışardan alınan glikoz hem karaciğer glikojen depolarını hem de kan şekerini arttırdığından dolayı, fruktoz metabolizması genel olarak TG sentezine yönlendirilmektedir (21).

3.1.3. Fruktoz ve Oksidatif Stres

Serbest radikallerin oluşum ve ortadan kaldırılma hızı canlı organizmalarda dengededir. Bu dengenin bozularak meydana gelen dengesizlik hali oksidatif stres olarak tanımlanır. Bu patolojik durumun sonucunda doku hasarı oluşabilir (22).

DeneySEL çalışmalar sonucunda, fruktozun çeşitli doku tiplerinde lipid peroksidasyonuna, dokuya infiltrate olan polimorfonükleer lökositler (PMNL)'deki indüklenabilir ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), NADPH oksidaz enzimlerinde aktivite artışına neden olduğu bildirilmiştir (24, 25). Endojen antioksidan türlerinden indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (24, 25). Fruktoz diyeti uygulanan rodentlerde, oksidan enzim ve reaktif oksijen (ROS) kaynağı olan mitokondrilerinde aktivasyon artışı sonucunda oksidatif stres gözlenmiştir (24, 25). Benzer şekilde, fruktoz etkisiyle oluşan ileri glikasyon son ürünlerinin antioksidan enzimlerin protein yapısında bozulmaya neden olarak antioksidan savunmayı inhibe edeceği düşünülmektedir. Hücre içinde biriken glikozun oto-oksidasyonu, araşidonik asit metabolizmasında görülen bozukluklar ve yağ asiti

oksidasyonunda artış, fruktoz indüklü oksidatif stresin önemli etkenlerindendir (24, 25).

3.1.4. Fruktozun Sağlığa Etkileri

İnsanların tarafından tüketilen fruktoz miktarında son yıllarda önemli derecede artış gözlenmiştir. Örneğin ABD’de, günlük fruktoz tüketimi çocuklarda yaklaşık 55 g ve gençlerde 73 g seviyesindedir (26). Yüksek fruktozlu besinlerin, oksidatif stres ve glikoz intoleransına, insülin direnci ve tip-2 diyabete, şişmanlık ve hipertansiyona, kardiyovasküler hastalıklara sebebiyet vererek beyne kadar ulaşan zararları olduğu belirlenmiştir (27).

Gerçekleştirilen bir çalışmada belli sürelerde farelere YFMS ve sükröz verilerek bu maddelerin vücut ağırlığı, yağ ve trigliserit seviyeleri üzerine etkisi incelenmiştir (28). Sonuçta fazla miktarda YFMS ile beslenen farelerde anormal ağırlık artışı, yüksek trigliserit seviyesi ve yağ birikimi görülmüştür (28). Saf fruktoz, plazma glikoz ya da insülin seviyelerini yükseltici etkide bulunmazken, YFMS içeriğindeki glikoz nedeniyle plazma glikoz ve insülin düzeyini artırıcı etkide bulunmaktadır (28). İnsanlarda açlık kan fruktoz değeri 1 mg/dl seviyelerindedir ve yüksek miktarda fruktozla beslenilmesi, plazma fruktoz seviyesinde yükselmeye sebep olmaktadır (29). Plazma fruktoz düzeyi arttığı durumda non-hepatik dokularda fruktoz metabolizması belirginleşebilir (30).

Ayrıca testislerde ve eritrositlerde fruktoz enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (31, 32). Santral sinir sisteminde (SSS) enerji kaynağı olarak genellikle glikoz kullanımına ilaveten, az miktarda fruktozun da kullandığı belirlenmiştir (33).

3.1.5. Fruktozun Neden Olduğu Hastalıklar

Fruktoz'un kronik hastalıklarla ilişkisini güçlendiren önemli bir mekanizma, endotelial nitrik oksit (NO) düzeyini baskılayarak ürik asit üretiminde artışa neden olmasıdır (34, 35). Yapılan birçok deneysel ve klinik çalışma sonucunda yüksek fruktozlu besin tüketiminin insülin direnci, hipertansiyon ve obezite (36-38) yanında ürik asit üretimindeki artış nedeniyle böbrek hastalıklarına (39, 40) sebebiyet verebileceği belirlenmiştir. Fruktoz içerikli besinlerden oluşan bir öğünün tüketilmesinin ardından serum ürik asit konsantrasyonunda 1-4 mg/gün kadar artış görülebilmektedir (5). Yapılan çeşitli çalışmalarda obezite, kardiyovasküler hastalıkları ve böbrek hastalığı multifaktöriyel yapıda olmalarına rağmen ürik asit düzeyindeki artışın belirtilen hastalıklar için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (5). Ürik asit vasküler düz kas hücre çoğalmasına neden olmakla birlikte kemotaktik ve inflamatuvar maddelerin salınımını harekete geçirmektedir. Bu durum monosit kemotaksisine sebep olmaktadır. Fruktoz endotelial hücre bölünmesini ve göçünü önleyerek adipositlerde oksidatif strese neden olmaktadır. Bu nedenle adiponektin salınımını azaltıcı etkiye bulunur (5). Yüksek fruktozlu besinler verilen deney hayvanlarında; fruktoz serbest oksijen radikallerinde artışa neden olarak NO üretimini baskılamaktadır (41,42). Artmış fruktoz katabolizması glikoza benzer şekilde serbest radikal üretimini arttırarak ve serbest radikal savunma sistemini bozarak oksidatif strese neden olmaktadır (43). Oksidatif stres de dokuların birçoğunda serbest radikallerin oluşumunu tetikler (44).

Yüksek fruktoz içerikli beslenme sonucunda meydana gelen hiperglisemi oksijen radikallerini oluşturmakta ve doku hasarına neden olan lipid

peroksidasyonu meydana gelmektedir (45). Fruktoz alımı hipertrigliseridemi ve lipogeneze sebebiyet verebilir. Yapılan araştırmalar sonucunda <50 g/gün fruktoz tüketiminin tokluk trigliserit düzeylerine etki etmediği, ≤ 100 g/gün fruktoz alımının ise açlık TG düzeyleri üzerine etki etmediği, ancak tokluk TG düzeylerinde artış sağladığı belirlenmiştir (46). Yüksek fruktozlu besin kullanımının hepatik ve periferik insülin direncine neden olduğuna dair çeşitli çalışmalara rastlanmaktadır (47-49). Kobayashi ve ark. yapmış oldukları çalışma sonucunda, fazla miktarda fruktoz tüketiminin renin-anjiyotensin yolağı üzerinden sempatik sinir sistemi aktivasyonu aracılığıyla sol ventrikül hipertrofisine sebep olduğunu gözlemlemişlerdir (50). Fruktoz tüketiminde artışla birlikte böbrek taşı oluşum riski de artmaktadır (51). Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketimindeki artışla orantılı olarak, nefrolitiasis görülme sıklığında da artış olduğu belirlenmiştir (52, 53). Fruktoz alımı idrarda okzalat atılımında da artışa neden olmaktadır. Bu durum ise, kalsiyum okzalat taşı için önemli bir risk faktörü niteliğindedir (51, 52). Metabolik sendrom; obezite, bozulmuş glikoz toleransı, hiperinsülinemi, dislipidemi ve hipertansiyonu içeren durumdur (54). Nakagawa ve ark. fruktozla beslenen sıçanlarda metabolik sendrom geliştiğini belirlemişlerdir (55).

3.2. Stres

3.2.1. Stres Tanımı

Stres kelimesi günümüzde hem bilimsel hem de günlük hayatta yaygın olarak kullanılmaktadır. Latince “estricia”, Fransızca “estrece” kelimelerinden köken almakta, “zorlanma, gerilme ve baskı” anlamına gelmektedir (56, 57). Stres, fizyolojik ve duyuşal değışikliklerle elde edilen deneyimleri tanımlamak

için kullanılan bir kavramdır. İyi stres, genelde sınırlı bir süre içinde insanın başarı elde edebileceği ve canlılık duyabileceği durum olarak ifade edilir. “Stresli olmak” olarak ifade edilen kötü stres ise sıklıkla uzatılmış veya tekrarlayan; rahatsız etme, duygusal tükenme ve fiziksel olarak yorgunluk ile karakterize edilen deneyimleri ifade eder (58). Hemostazise karşı fiziksel veya fizyolojik zorluktan sonra gözlenen fizyolojik değişiklikler ilk olarak Selye tarafından stres olarak tanımlanmıştır. Stres, nöroendokrin ve otonomik işlevlerdeki değişiklikleri içeren, homeostazi yeniden düzenleme ve organizmayı korumayı amaçlayan bir dizi adaptif mekanizma sonucu oluşmaktadır. Hipotalamo-hipofiz - adrenal (HPA) aksı, strese karşı nöroendokrin yanıtın temel bir bileşeni olarak bilinir ve homeostazın sürdürülmesinde kritik bir rol oynar (59).

3.2.1.1. Selye’nin Genel Adaptasyon Sendromu

Birey ne tür stresörle karşı karşıya kalırsa kalsın, hoşta giden, gitmeyen bu etmene yanıt verme durumundadır. Bu yanıt, Selye tarafından “genel adaptasyon sendromu (GAS)” ya da “biyolojik stres sendromu” olarak tarif etmiştir (60).

GAS ın üç aşaması aşağıda açıklanmıştır:

Alarm Safhası: Vücut, bir stresörün ilk maruz kalmasındaki karakteristik değişiklikleri gösterir. Aynı zamanda direnci azalır ve eğer stresör yeterince güçlü ise (ciddi yanıklar, aşırı sıcaklık), ölüm olabilir (61). Organizma hemen sempatik sistem aktivitelerini arttırarak enerji ve kuvvet sağlamaya çalışır. HPA sisteminde uyarılma, adrenal bezlerin boyutlarında ve katekolamin seviyelerinde artış görülür (62).

Adaptasyon Safhası: Strese maruz kalmaya devam edilip sonrasında adaptasyonla uyumlu olmadığı ortaya çıkarsa, alarm reaksiyonunun karakteristik

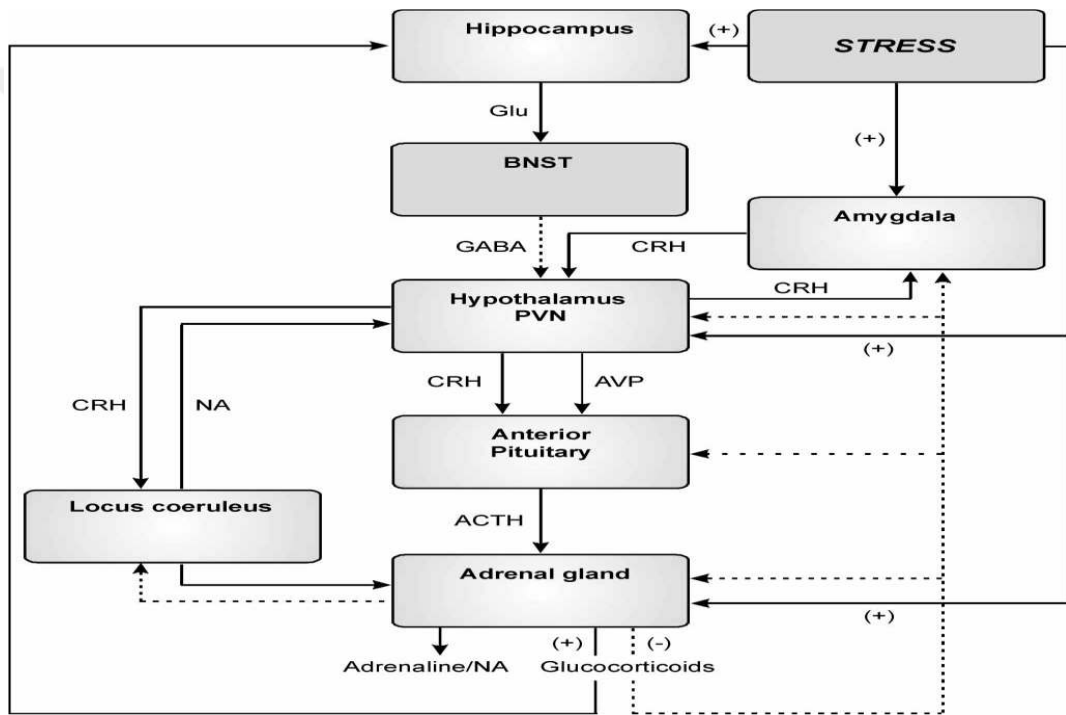
işaretleri neredeyse kaybolur ve direnç normalin üstünde yükselir (61). Adrenal hormonlardan kortizol, norepinefrin (NE) ve epinefrin (E) yüksek seviyede salgılanarak artan katabolik olaylar yerine bu evrede anabolik olaylar gözlenir (62,63).

Tükenme Safhası: Vücut benzer strese uzun süre maruz kaldıktan sonra adaptasyon enerjisi tükenir. Alarm reaksiyonunun işaretleri tekrar belirir, ancak şimdi bunlar geri döndürülemez (61). Kompanzatuvar mekanizmaları yıkılır, immün sistem baskılanır, kalp, böbrek problemleri ve diğerk bazı hastalıkların oluşumu gözlemlenir.

3.2.2. Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı (HPA)

HPA aksı, strese karşı nöroendokrin yanıtın temel bir bileşeni olarak bilinir ve homeostazın sürdürölmesinde kritik rol oynar (64). Bu hormonal tepki sistemi kuşlardan insana kadar değışen organizmalarda bulunur ve geniş bir zihinsel ve fiziksel stres faktörü ile aktive edilebilir (65, 66). HPA aksın stres cevabı, hipotalamik paraventriküler nükleusun (PVN) nöroendokrin nöronları ile strese duyarlı beyin bölgeleri arasındaki etkileşim yoluyla gerçekteşir (67). Ayrıca kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH) HPA aksını aktive eder. HPA aksı, PVN parvoselüler nöronlarında üretilen CRH ve vazopressin (VP) içerir; bu nöronlar adrenakortikotropik hormon (ACTH), opioid ve melanokortin peptidleri, ön hipofizdeki pro-opiomelanokortinin (POMC) sentezini aktive etmek için portal damar sistemine salgırlar. PVN'de CRH nöronlarını aktive eden çeşitli afferent yollar vardır; bunlar psikolojik stresörler tarafından aktive edilen limbik yolları, iç organları ve duyuşal uyarırları ifade eden artan beyin sapı yollarıdır (68,69). CRH ve VP sekresyonu glukortikoidlerin salınmasıyla beraber hipofizer ACTH

salınımına yol açar (70). Glukokortikoidler HPA aksı da dâhil olmak üzere çoklu hedef dokularda kendi reseptörleri ile etkileşime girerler ve burada hipotalamustan kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF) ve VP ye geri bildirim inhibisyonundan ilaveten doğrudan hipofiz kortikotroplarından ACTH salgılanmasından sorumludurlar (71). ACTH, adrenal korteksten kortizol (insanlarda) ve kortikosteronun (insanlarda, sıçanlarda ve farelerde) salınmasını uyarır (68, 69).



Şekil 4. Stresle HPA aksının aktivasyonu (72).

Kısaltmalar: AVP, arjinin vazopressin; BNST, stria terminalis bed nükleusu; CRH, kortikotropin salgılatıcı hormon; Glu, glutamat; PVN, paraventriküler nükleus; NA, noradrenalin (72).

Stres yanıtı, HPA aksının birçok seviyesinde glukokortikoidlerin negatif geri bildirim hareketi ile sınırlanmaktadır (kesikli çizgiler). Davranışsal tepkilere

aracılık etmede temel rol oynayan bazı CRH yolları (amigdala), stresörlere karşı sempatik aktivasyonda (locus coeruleus) görevlidirler.

HPA aksının bazal aktivitesini sürdürmeyle ilişkili kortikosteroidler tercihen hipokampal mineralokortikoid reseptörlerine bağlanırlarken, glukokortikoid reseptörler, reaktif modda homeostazı yeniden sağlamada rol alan kortikoidlerin etkilerine aracılık etmektedirler (72).

HPA aks aktivitesi yaşam için olduğu kadar; üreme ve büyümede bireylerin yaşamlarında önemli fizyolojik işlevlerin düzenlenmesinde rol alır. HPA aksının kronik hiperaktivasyonu obezite, hipertiroidizm ve diabetes mellitus gibi hastalıklara karşı duyarlılığa yol açabilen üreme, büyüme, tiroid ve bağışıklık fonksiyonlarının baskılanmasıyla ilişkilidir (70).

3.2.3. Stres Mediatorleri

Stresli durumda stres sinyali merkezi sinir sistemi (MSS)'ne ileterek, stres yanıtının düzenlenmesinde aracı olan moleküller "stres mediatorleri" olarak adlandırılır (73). Stres mediatorleri temel olarak üç ana başlık altında toplanabilir:

3.2.3.1. Monoaminler

3.2.3.1.1. Serotonin ve Dopamin

Stresli bir durumu takiben spesifik nöronal alanlardan noradrenalin, dopamin ve serotonin gibi monoamin yapılarının salınımında artış meydana gelmektedir. Monoamin salınımı, strese etkilenen beyin bölgeleri veya dolaylı olarak sempatik sinir sistemi aktivasyonu aracılığıyla uyarılmaktadır. Hangi monoaminerjik sistemlerin aktive olacağı ise strese maruziyet süresi, stresörün kontrol edilebilirlik derecesi veya frekansı gibi çeşitli etkenler çerçevesinde şekillenir (74-76).

Stresli durum takibinde hipokampus, amigdala, prefrontal korteks ve nükleus akkumbens başta olmak üzere beynin birçok bölgesinde monoamin salınımında artış görülmektedir (73).

Stresle uyarılan monoamin salınımı, stresörün etkisini takiben kısa bir süre zarfında hızlı bir şekilde meydana gelir ve etkilerini G protein aracılı reseptörler vasıtasıyla oluştururlar. Her monoaminin stres yanıtına tepkisi davranışsal olarak farklı yapıdadır. Noradrenalinin etkisi çevresel olarak tarama ve çözüm bulma (77); dopaminin risk analizi ve karar stratejisi (78); serotoninin ise post stres sonrası meydana gelen anksiyetenin baskılanması (79) gibi etkileri mevcuttur.

3.2.3.1.2. Adrenalin ve Noradrenalin

Stres maruziyetine tekabil sempatik sistemdeki postgangliyonik nöronlarından ve adrenal medulladan adrenalin ve noradrenalin salınır. Nöronlar ve adrenal medulladan salınan katekolaminlere verilen cevap benzer yapıda olmasına karşın; adrenal medulladan sekrete edilen katekolaminler hızlı metabolize edilmekte ve daha sınırlı etki göstermektedirler.

Katekolamin etkileri alfa (α_1 , α_2) ve beta (β_1 , β_2) reseptörler aracılığıyla meydana gelmektedir. Katekolaminlerin etkileri özetlemek gerekirse (80):

-Nöral yolla salınan ve dolaşım durumundaki noradrenalin vasküler düz kas hücrelerinde bulunan α_1 reseptörlerine bağlanarak, kaslarda kontraksiyona yol açar ve organlara kan akımını azaltır. Bu sayede sempatik aktivasyon aracılığıyla gastrointestinal sisteme, deri ve böbrek gibi çeşitli organlara kan akımında azalma görülürken; stresli bir durumda beyin, kalp ve iskelet kaslarına maksimum düzeyde kan akışı meydana gelir.

–Noradrenalin, karaciğer ve iskelet kaslarında glikojenin parçalanıp salınımını arttırarak kan glikoz seviyesinin yükselmesini sağlar. Bu sayede vücut için hazır enerji kaynağı oluşturur.

– Sempatik sinirler aracılığıyla salgılanan noradrenalin pupiller dilatasyona neden olmaktadır.

3.2.3.2. Nöropeptidler

CRH ve vazopressin başta olmak üzere; oreksin, ghrelin, dinorfin gibi stres etkisinede aracı olan; oksitosin ve nöropeptid-Y gibi stres cevabını inhibe eden; galanin ve P-maddesi gibi stresle bağlantılı anksiyeteyi regüle eden çeşitli etkilere sahip nöropeptidler stres yanıtında görev alırlar (81).

3.2.3.2.1. Kortikotropin- Serbestleştirici hormon (CRH)

Hipotalamusun paraventriküler çekirdeğindeki küçük nöronlar, 41 aminoasitli bir nöropeptid olan CRH' yi salgırlar (82). CRH bir kez salgılandıktan sonra onu bozulmadan koruyan yüksek afiniteli plazma bağlayıcı proteinlere bağlanır (83, 84). CRH' nin etkileri, iki farklı genin aracılık ettiği CRF-reseptör 1 ve CRF-reseptör 2 tarafından üretilir (85). Nöronlar, hipotalamusun median eminensindeki sinaptik terminallerde bulunan salgılayıcı veziküllerde CRH' yi depolar ve yeni sentez yokluğunda CRH' yi akut olarak serbest bırakabilir. CRH, median eminensin interstisyel sıvısına serbest bırakıldıktan sonra hipofiz portal venöz pleksusa girer ve anterior hipofize ilerler (82).

İnsanlarda CRH, pankreas ve testisler de dahil olmak üzere çeşitli dokularda ve aynı zamanda nörotransmitter olarak işlev gördüğü santral sinir sistemi boyunca mevcuttur (82). Hipotalamustaki PVN'den CRH salınımı, HPA aksı

tepkisini başlatır ve HPA aksı tepkisinde sonraki adım olan anterior hipofizden ACTH sekresyonunun ana uyarıcısıdır (86-88). CRH, hipotalamusun PVN'sinin parvoselüler nöronları tarafından sentezlenir, kaudal olarak PVN'den, hipotalamus tabanında (median eminence) aksonlar içine taşınır ve direkt olarak hipofiz portal kapiller sistemine sekrete edilir (89, 90).

3.2.3.2.2. Ürokortinler (UCN)

Ürokortinler (UCN1, UCN2 ve UCN3) de CRH reseptörlerine tutunarak farklı bölgelerde etkin olurlar. CRH; CRHR1'e CRHR2 ye kıyasla daha yüksek seçicilik ile bağlanırken, UCN1 her iki reseptöre de yüksek seçiciliktir. UCN1 strese adaptasyonu sağlayan bir etkide bulunur (91, 92).

3.2.3.2.3. Arjinin Vazopressin (AVP)

Arjinin vazopressin (AVP); hipotalamustaki paraventriküler nükleustan (PVN), supraoptik nükleustan (SON) ve suprakiazmatik nükleustan (SCN) salınır (93, 94).

PVN'nin parvoselüler nöronlarında AVP ekspresyonu ve hipofizer kortikotroplarda vazopressin V1b reseptör yoğunluğu kronik stres durumunda arttığı bilinmektedir. Bu durum; AVP'nin kronik stres sırasında dolaşımdaki yüksek glukokortikoid seviyelerinde ACTH'ın yeni stresörlere hassasiyetini sağlayarak strese cevapta önemli rol oynadığı bildirilmektedir (95).

3.2.3.2.4. Oksitosin

Yapısal olarak AVP ile paralel olarak, hipotalamustaki supraoptik ve paraventriküler nükleuslardan sentezlenerek arka hipofizden strese yanıt olarak salınmaktadır. Ancak, strese yanıtta ACTH ve kesin olmamakla CRH salınımı

inhibisyonu aracılığıyla strese karşı HPA aksı yanıtını inhibe edici etkiye sahiptir. Oksitosinin stres-azaltıcı etkilerine; stres algılama seviyelerinde azalma, anksiyete, saldırganlık ve depresyon düzeylerinde azalma, hafızada güçlenme örnek verilebilir (96, 80).

3.2.3.2.5. Adrenokortikotropik Hormon (ACTH)

ACTH, anterior hipofizde kortikotrop hücreleri tarafından salınan 39 amino asitlik bir peptittir (97). ACTH ayrıca ektopik kaynakla, özellikle akciğerin küçük hücreli karsinomları tarafından üretilir. ACTH, POMC adı verilen geniş bir prekürsör proteinin kompleks translasyon sonrası işlemi ile sentezlenir (82). POMC prekürsör peptid, gastrointestinal sistem, sayısız tümörler ve testis de dahil olmak üzere çeşitli ekstrapitotalamik dokularda bulunur. Bu peptid ayrıca b-lipotropin kaynağıdır. Buna ek olarak, ACTH ve b-LPH, a-MSH ve b-MSH, g-LPH, b- ve g-endorfin ve enkefalin bölümlerine ayrılırlar (97). POMC, sadece ACTH için değil, aynı zamanda çeşitli peptid hormonları için de öncüdür (82). Bir diğer pro-ACTH kısmı olan kortikotropin benzeri ara lob peptid (CLIP), sadece kemirgen ön hipofizinde yapılır (98). ACTH, siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerini yükseltmek için spesifik bir G proteinine bağlı reseptör aracılığıyla etki eder (99). cAMP, mitokondriye kolesterol taşınması üzerine kısa vadeli (dakika ila saat) etkileri vardır, ancak kortizol sentezlemek için gerekli olan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunda daha uzun vadeli (saatler ila günler arası) etkiye sahiptir (100). ACTH plazma lipoproteinlerinden kolesterol alımını etkiler. Ayrıca adrenal bezlerin boyutunu korur. Adrenal bez üzerindeki bu etkilere ek olarak, Addison hastalığında olduğu gibi melanositleri uyarır ve fazla

salındığında hipopigmentasyona neden olur (97). ACTH'yı fazla üreten bazı hastalarda, hiperpigmentasyon belirgin bir klinik bulgudur (82).

3.2.3.3. Adrenal Bez

İnsanlarda her biri sadece 4g ağırlığındaki adrenal bezi, retroperitoneal alanda her bir böbreğin üst kutbunda bulunur. Bu bezler dört temel hormon üretir: Epinefrin, norepinefrin, kortizol, aldosteron. Her adrenal bez, medulla ve korteksten oluşur (82). Korteks iki ana steroid hormon olan kortizol ve aldosteron ile birkaç androjenik steroid üretir. Medulla ise epinefrin ve norepinefrine üretir. Adrenal korteks üç hücresel tabakaya ayrılabilir: yüzeyin yakınındaki glomerulus tabakası, orta kortekste fasikulata tabakası ve kortikal-medüller birleşime yakın retiküler tabaka. İnsandaki ana mineralokortikoid olan aldosteron, glomeruloza hücre tabakasında yapılır. Başlıca glukokortikoid olan kortizol, fasikulata ve küçük bir oranda retiküler katmanda yapılır (82).

Her ne kadar kortizol ve aldosteron, kolesterolün enzimatik olarak modifiyeli hali ve yapısal olarak benzer formu olsa da, vücuda yaptıkları etki önemli ölçüde farklıdır. Kortizol bir glukokortikoid olarak düşünülür, çünkü erken dönemde plazma glikoz düzeylerini arttırdığı bilinmektedir, kortizol eksikliği hipoglisemi ile sonuçlanabilir. Aldosteron bir mineralokortikoid olarak düşünülür, çünkü böbrekler tarafından tuz ve su tutulmasını sağlar (82).

3.2.3.3.1. Kortizol ve Kortikosteroidler

İnsanlarda ve hayvanlarda kortizolün oluşumu, bir nörohormonal olayların basamaklandırılması ile sağlanır. Hipotalamustan CRH salınması ve lokus ceruleus'un uç projeksiyon bölgelerinde norepinefrinin hipofiz portal sistemine döngüsü artar ve ACTH sinyali adrenal bezlere periferik sirkülasyon yoluyla

taşınır, bu sayede adrenal bezlerdeki zona fasikulata olarak adlandırılan bir doku tabakasından kortizol sentezlenir ve salınır (101, 102).

Steroid hormonlar, eylemlerine göre üç ana sınıfa ayrılır: glukokortikoidler, mineralokortikoidler ve cinsiyet steroidleri. Kortizol, doğal olarak oluşan prototif glukokortikoiddir. Kortizol insanlarda birincil glukokortikoidken, diğer türlerde kortikosteron ana glukokortikoiddir (82). Glukokortikoidler, plazmada kortikosteroid bağlayıcı globülin (CBG) ile taşınır. CBG' nin rolü, serumdaki kortikosteroidleri bozulmadan korumaktır (103). Kortizol bir glukokortikoid olarak sınıflandırılmasına rağmen, ana glikoz düzenleyici dokulardan, yani karaciğer, yağ ve kaslardan daha fazla etkilenir. Glukokortikoidlerin, plazma glikoz seviyelerini yükseltme yeteneğine sahiptir. Çoğu vücut dokusu, kemik, deri, diğer iç organları, hematopoietik ve lenfoid doku, MSS glukokortikoid aktivitesi için hedef bölgelerdir (82).

Kortizol, öğrenme, hafıza ve duygu ile ilgili merkezi sinir sisteminde; glikozun depolanmasını ve kullanımını düzenleyen metabolik sistemde; lenfosit olgunlaşmasında ve inflamatuvar cevabının süresini ve büyüklüğünü düzenleyen bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynamaktadır (101). Güçlü ümmunosupresif, anti-inflamatuvar aktivite, protein ve yağ metabolitleri üzerinde etkiler, SSS üzerindeki hareketlerine bağlı davranışsal etkiler ile kalsiyum ve kemik metabolizmasında önemli etkiler içerir (82). Dahası, bunlar sadece kortizol işlevi

ile oluşan önemli örneklerdir; etkisi vücudun diğerk birçok sistemine de uzanır (104). Bu gözlemler, bilim insanlarının son 50 yılda stresörleri, kortizolü ve hastalığı birbirine bağlayan sayısız teori geliştirmelerine imkan sağlamıştır. Bu modellerin her birinde ortak olan, kortizolün kritik bir biyolojik aracı olduğu fikridir; kortizol hastalık yaratmak için vücuda giren kronik stres kaynaklarının birincil mekanizması olarak görülür. Bu tip modeller depresyon ve şizofreni gibi psikiyatrik bozukluklar (105, 106); kanser, artrit ve diyabet gibi tıbbi durumlar (107-109); obezite ve yorgunluk gibi gündelik yaşam sorunları için eklemlenmiştir. Kortizol, stres ve hastalığın daha genel modellerinde birincil şüpheli olarak ortaya çıkmaktadır (110). Bu modellerin büyük çoğunluğunda stres, kortizol üretimini artırarak hastalıkları tetikler, böylece vücuttaki dokular yükseltilmiş hormon konsantrasyonlarına maruz bırakılır. Devam etmesi durumunda, bu işlemin doku hasarına ve daha sonrasında biyolojik sistemlerde düzensizliğe yol açtığı düşünölmektedir (111). Bu modeller, genellikle, stres sonucu kortizol sinyalizasyonunun hastalık patogenezeine katkısı olan koşulları nasıl şiddetlendirdiğini açıklamak için geliştirilmiştir. Bu durumlar romatoid artrit, kronik yorgunluk sendromu ve travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) olabilir (111).

3.2.3.4. Limbik Sistem

Ön beyin limbik yapıları HPA aksın regölasyonunda önemli role sahiptir. Hipokampus, prefrontal korteks ve amigdaladaki nöronal bağlantılar emosyonel yanıtlar ve hafıza oluşumunda etkili alanlar olup; stres ile nöropsikiyatrik bozukluklar arasındaki bağlantının belirlenmesinde görevlidirler (112). Hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala glukokortikoid salınımı ve stresin

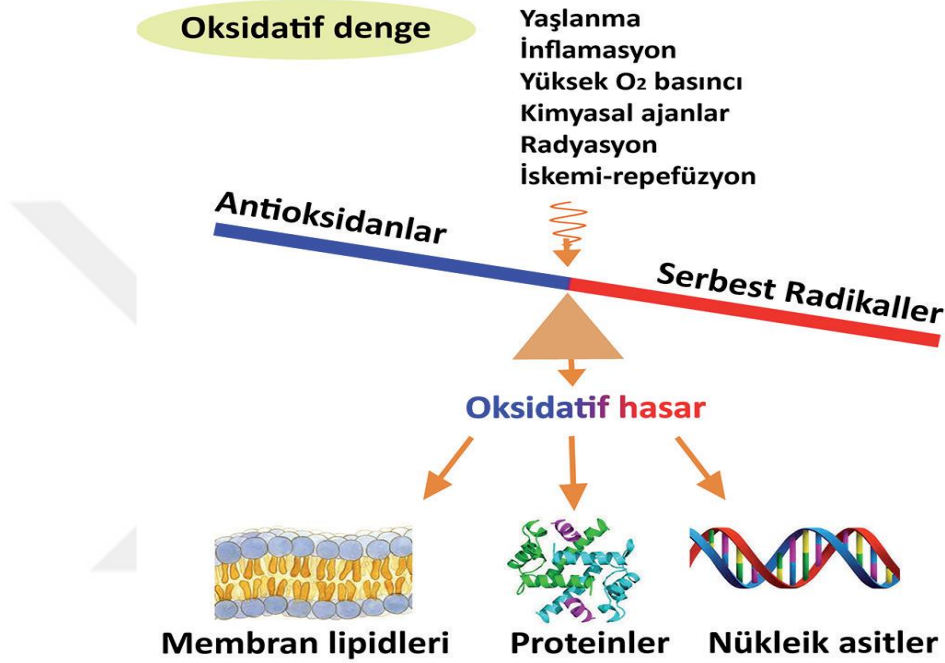
davranışsal etkilerinde önemlidirler (58- 60). Hipokampus, stresle başlayan HPA aks yanıtını sonlandırıcı niteliktedir (113, 116). Hipokampal nöronların uyarılması PVN parvosellüler alanındaki nöronların etkinliğini azaltıp glukokortikoid sekresyonunu baskılamaktadır (117, 118).

Medial prefrontal korteks (mPFC) nöronları akut ve kronik stres uygulandığı durumda aktive olarak katekolamin sekresyonunu gerçekleştirirler (119). Prelimbik mPFC hipotalamus benzeri etki ile psikojenik stresörlere karşı HPA aks yanıtını baskılayıp glukokortikoid sekresyon süresini düzenlerler. Bu sayede HPA aks yanıtının sonlanmasına katkıda bulunurlar (120). PFC nöronları ilaveten HPA aksında glukokortikoidlerin feed-back inhibisyonunun regülasyonunda görevlidirler (91). Amigdala HPA aksı aktive edici etkiye sahiptir. Amigdala nöronlarının uyarılması glukokortikoidlerin sentezini ve salınımını artırır. Amigdala merkezi nükleusu (CeA) stresle-ilişkili davranışlara ve otonom düzenlemeye katılması ile stres entegrasyonunda önemlidir (121). PFC; Nükleus Accumbens (NAc)'e yaptığı projeksiyonlar aracılığıyla duyuşal ve emosyonel bilgileri bütünleştirip hedefe yönelik davranışları düzenleyebilmektedir (122). Stresli durum anında NAc'de dopamin salınımının artar ve mezolimbik dopamin sistemi aktive olur (123, 124).

3.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, organizmada prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliğin sonucu görülen bir durumdur; böylelikle prooksidanlar baskın olduğunda serbest radikaller veya ROS denilen doku için toksik veya zararlı etki gösteren bileşimler üretilir (125). Literatürde oksidatif stres için yeni tanımlamalara da rastlanmaktadır. Dean Jones oksidatif stresi, redoks sinyali ve

kontrolünün bozulması olarak ifade etmiştir. Oksidatif stresin bu yeni tanımı; oksidan ve antioksidan arasındaki dengesizliğin, oksidanlar lehine kaymasına, redox sinyal ve kontrolünde düzensizliğe ve/veya moleküler hasara neden olabileceği şeklinde yeniden tanımlanmasına yol açmıştır (126).



Şekil 5. Oksidatif denge (127).

Serbest radikaller (SR), dış katmanında en az bir adet bağlanmamış elektrona sahip moleküllerdir ve bu nedenle kararlılıkları için diğer moleküllerden daha fazla elektron alma isteği duydukları zaman yüksek oranda reaktif olurlar (128). SR, bazı durumlarda nötrofillerde olduğu gibi kasıtlı olarak ve birçok biyokimyasal sürecin kaçınılmaz yan ürünü olarak büyük miktarlarda oluşurlar (129). SR mitokondride oksidatif fosforilasyon süresince, hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara

maruz kalma gibi sebeplere bağılı olarak üretilmektedir (126). Radikallerinin yaygın örnekleri arasında, hidroksil radikali (OH), süperoksit anyon (O_2^-), demir ve bakır gibi geçiş metalleri, nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) bulunur (129). SR, hücrenin herhangi bir biyokimyasal bileşenine saldırabilirler, ancak lipidler, proteinler ve nükleik asitler en önemli hedefleridir (130). Serbest radikallerin aşırı miktarı, lipid peroksidasyonu, DNA, proteinler, enzimler ve karbonhidrat hasarı gibi zararlı etkilere neden olur (131).

ROS oksijenden türetilen serbest radikallerin yanı sıra oksijenin reaktif formlarını tanımlamak için kullanılan bir terimdir (128). Çeşitli oksidasyon yollarından türetilen ROS (O_2U^- , H_2O_2 ve UOH), hücrel bozukluğa yol açan ürünler üretebilir. Aerobik organizmalarda üretilen başlıca ROS O_2U^- olup, oldukça reaktif ve sitotoksik bir ajandır (132).

ROS üreten enzimler arasında NADPH Oksidaz, eşlenmemiş nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz ve lipoksijenaz bulunur(132). ROS üretimi için spesifik alanlar arasında mitokondri ve peroksizomlar bulunmaktadır (133). Bunlara ilaveten, yabancı maddelere karşı koruyucu bir mekanizma olarak nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilmektedir; bu, yaygın olarak solunumsal ya da oksidatif patlama olarak adlandırılmaktadır (134). Hücrel antioksidan sistemler ROS'u inaktive etmezlerse, bunlar hücrel makromoleküller ile reaksiyona girebilir ve lipid peroksidasyon sürecini güçlendirebilir, DNA hasarına ve / veya protein ve nükleik asit modifikasyonlarına neden olabilirler (135). Vücut, ROS'u nötralize etmek için kapsamlı ve karmaşık bir enzimatik antioksidan savunma sistemine sahiptir. Enzimatik antioksidan sistemi SOD, CAT ve GPx içerir. Bu proteinler, radikal türlerin daha az zararlı ürünlere ayrışmasını sağlar (136).

ROS un oksitlenmiş veya nitratlanmış ürünleri, genellikle ateroskleroz ve inflamasyon gibi çeşitli hastalıkların patogenezi olarak gösterilen hücre fonksiyonlarda değişikliğe yol açan biyolojik aktiviteyi azaltırlar (137-141). Oksidatif stres, kanser, artrit, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, yaşlanma ve nörodejeneratif bozukluklar gibi çok çeşitli koşullarla ilişkilendirilmiştir (142). Grip gibi yaygın bir hastalığın nedeni de oksidatif stres olabilir (143). Ayrıca çalışmalar hiperglisemi ile oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (144-145). Oksidatif stresin yukarıda yazılanlar gibi daha pek çok hastalığa yol açmasının yanında pek çok hastalık ve fizyolojik durum da oksidatif stresin nedenidir; hipertansiyon, diabetes mellitus, osteoporoz ve hamilelik sürecinde oksidatif stres'te artış gözlenir (146). Farklı faktörlerden antioksidan enzim aktiviteleri etkilenmektedir. Bunlar yaş, cinsiyet, yaşam koşulları, hastalık, sigara içimi, alkol kullanımı gibi faktörlerdir (147).

3.4. TRPM2 Kanalları

3.4.1. TRP Kanalları

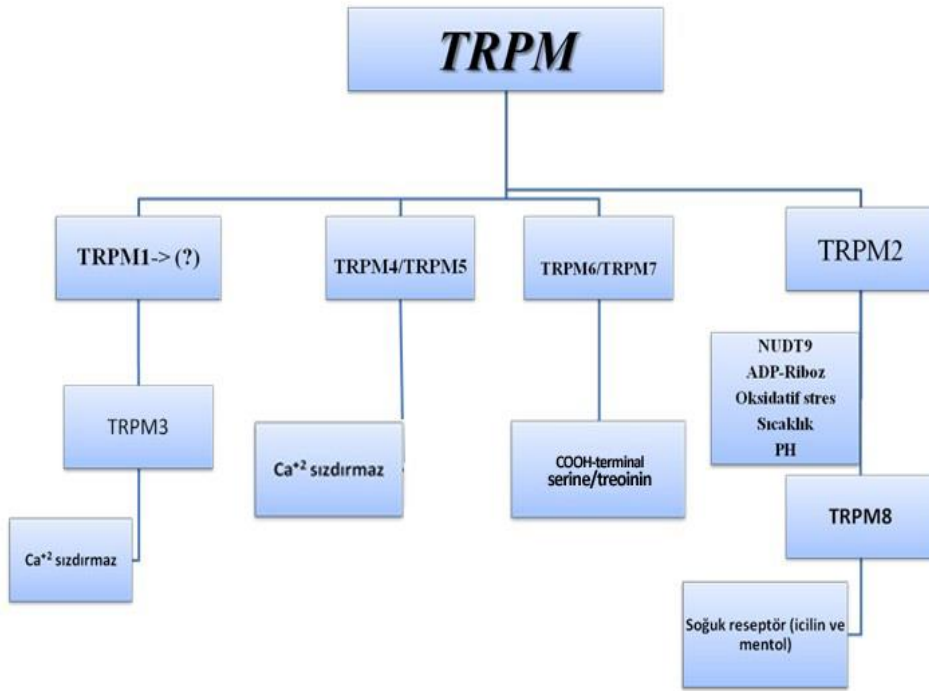
Geçici Reseptör Potansiyeli (TRP) proteinlerinin geçmişi, uzatılmış ışıktandırmaya anormal tepkiler veren ve dolayısıyla görme engelli bir mutant *Drosophila melanogaster* türünün keşfiyle başlamıştır ve TRP kanalları *Drosophila* türü sirke sineklerinin göz hücrelerinde gözlemlenmiştir (148). Omurgalılarda ışık, fotoreseptör hücrelerinde cGMP-kapılı kanalların kapanmasına ve membranın hiperpolarizasyonuna neden olmaktadır. Ancak *Drosophila*'da, fotoreseptör hücrelerinin ışık ile aktivasyonu, sürekli membran depolarizasyonunun nedenidir (149). Bu durum 1989'da ilk TRP proteininin izole edilmesine yol açmıştır (150 -152). TRP terimi, "geçici reseptör potansiyeli"

nden türemiştir, çünkü TRP gen mutantlı fotoreseptörler, reseptör potansiyelinin Ca^{+2} bağımlı " kalıcı " fazını üretmez ve bu nedenle sonraki Ca^{+2} ışığa bağımlı adaptasyon göstermez (153). TRP kanalları, 5. ve 6. transmembran alanlar arasındaki bir diziden oluşan merkezi iyon iletken gözenek çevresinde homo- veya hetero-tetramerik düzenlemeler ile voltaj kapılı potasyum kanallarına benzer bir temel yapıya sahiptir (149). TRP kanalları solucanlar, meyve sinekleri, zebra balığı, fare ve insanlarda, uyarılan ve uyarılamayan hücreler de dahil olmak üzere farklı dokularda ve hücre tiplerinde bulunur (152). TRP kanalları sıcaklık hissi ve tad çevrimi gibi duyusal fonksiyonlar (154) Ca^{+2} reabsorpsiyonu ve ozmoregülasyonu gibi homeostatik fonksiyonlar veya hücre hareketliliği ve kas kontraksiyonu gibi hücrel fonksiyonlarda etkindir (152, 155).

Tipik olarak, TRP proteini yapısı, altı transmembran alanla ve sitoplazmaya yönelik N- ve C-termini ile karakterize edilir (151, 152, 156-159). Tüm TRP kanallarının birden fazla düzenleyici protein etkileşim bölgesi vardır (161). Birçok protein kinaz A (PKA) ve C (PKC) de fosforilasyon bölgeleri tanımlanmış ve kısmen fonksiyonları test edilmiştir (160). TRP kanalları, ana alt ailelerdeki aktivasyon mekanizmalarında (termal olarak aktive olmuş, reseptör aktive edilmiş ve ligand ile aktifleştirilmiştir), katyonlara (Na^{+} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+}) seçicilik ve geçirgenlik bakımından önemli farklılıklar görülür (151, 152). TRP kanalları, plazma membranında zar potansiyelini değiştirerek $[Ca^{+2}]_i$ konsantrasyonlarındaki değişikliklere katkıda bulunur (161). Membranındaki TRP kanallarının aktivasyonu Ca^{+2} ve / veya Na^{+} 'nin hücreye akışını yönlendirerek iyonların hücre içi konsantrasyonunu artırır ve hücreyi depolarize eder (151, 152).

3.4.1.1. TRPM Kanalları

Metastin Benzeri Geçici Reseptör Potansiyel Kanalları (TRPM) , TRPM1 / TRPM3, TRPM2 / TRPM8, TRPM4 / TRPM5 ve TRPM6 / TRPM7 olmak üzere dört homolog çift halinde bölünen sekiz üye içerir (162, 163). Diğer gruplardan farklı protein olanlar TRPM2 / TRPM8 dir (164). Henüz işlevsel olarak karakterize edilmemiş TRPM1 hariç, tüm TRPM kanalları katyon kanallarıdır (151).



Şekil 6. TRPM Alt Ailesi (165).

Aşağıda TRPM alt ailesi 4 grup halinde açıklanmıştır:

1.Grup; TRPM1 ve TRPM3 bu sınıf içerisinde. Özellikle TRPM3'ün Ca ile aktive olduğu gözlemlenmiştir (166). TRPM3, kültür hücrelerinde eksojen

olarak eksprese edildiğinde yapısal olarak aktif bir Ca^{+2} ve Mg^{+2} geçirgen kanal oluşturur (152).

2.Grup; TRPM6 ve TRPM7 bu sınıf içerisinde. Bunların da COOH-terminalinin serin ve treonin ile aktive olduğu bilinir (166).

3.Grup; TRPM4 ve TRPM5 bu sınıf içerisinde. Bu kanallar voltaj modülasyonlu, Ca^{+2} ile aktive olan, monovalent katyon seçici kanallardır. TRPM5'in tat hücrelerinde iletimde görevlidir (167).

4.Grup; TRPM2 ve TRPM8 de bu sınıfta yer alıp TRPM2'nin Ca^{+2} geçirgen, spesifik olmayan bir katyon kanalı türü olduğu ve ADP-Riboz, oksidatif stres, ısı ve NAD tarafından aktive edildiği belirtilirken, TRPM8'in mentol, ökapitol ve isilin gibi serinlik hissini uyandıran bileşikler tarafından aktive olan soğuk reseptörleri ile aktive olduğu belirlenmiştir (167).

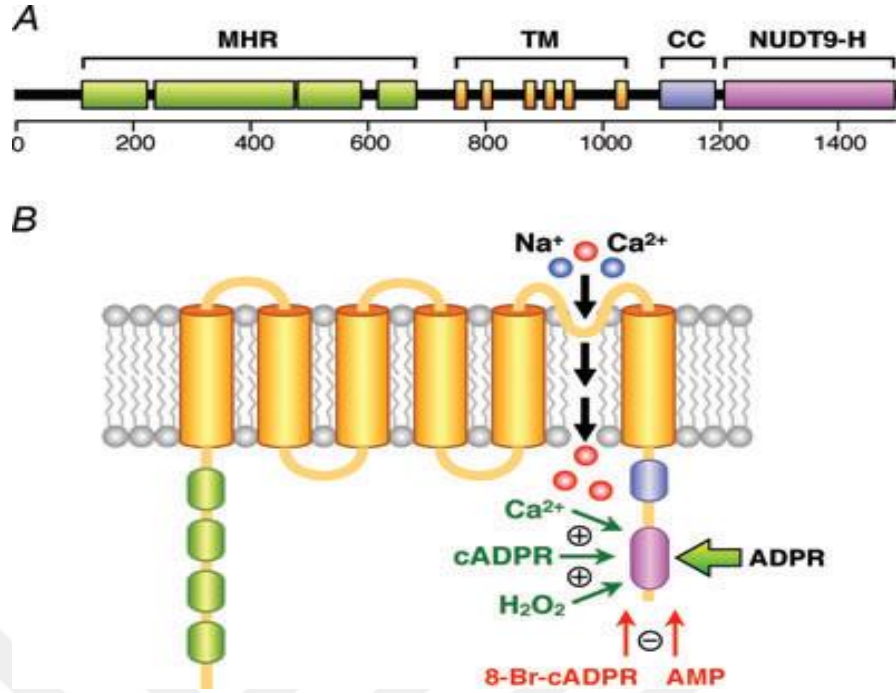
3.4.1.1.1. TRPM2 Kanalları

Metastin Benzeri Geçici Reseptör Potansiyel Kanalı 2 (TRPM2) kanalları ilk olarak 1998'de adenosin 5-difosforiboz (ADPR) için bir moleküler hedef olarak (168) tanımlanmış (169) ve daha sonra TRPM ailesinin bir üyesi olarak kabul edilmiştir (149). Sekiz TRPM aile üyesi, fare modellerinde fonksiyonel çalışmalarla ya da genetik kanıtlarla hastalıkla ilişkilendirilmiştir (170). TRPM2 kanalları nonselektif katyon kanallarıdır. Merkezi sinir sistemindeki konakçı makrofajlar, tercihen mikroglia hücrelerinde konumlandırılmış, bu makrofajlar beyinde yüksek oranda ifade edilmiştir (171). TRPM2-benzeri özelliklere sahip bir katyon akımı, sıçan striatal nöronlarında tanımlanmıştır (172). TRPM2 aktivasyonu için bilinen hücre dışı 3 sinyal vardır; oksidatif stres, ADPR/NAD+

metabolizması ve TNF-a (171). Sıcaklık TRPM2 üzerinde "endojen bir ko-aktivatör" olarak etkisi bulunabilmektedir (149).

3.4.1.1.1. TRPM2 Kanallarının Yapısı

TRPM2 özgün bir C-terminal adenosin difosfat riboz (ADPR) pirofosfataz alanı (Nudix benzeri alan veya NUDT9 homoloji alanı) ile çok işlevli bir Ca^{+2} geçirgen, seçici olmayan katyon kanalıdır (162, 16, 168). TRPM2, TRPM 6/7 gibi iyon kanalı ve C terminal enzim alanının ikili fonksiyonu nedeniyle bir 'chanzyme' olarak bilinir. İnsan TRPM2 geni, kromozom 21q22.3'de bulunur, 32 eksontan oluşur ve yaklaşık 90 kb'dir (169). Öte yandan, fare TRPM2 geni 34 ekson içermektedir ve yaklaşık 61 kb'dir (174). Buna ek olarak, TRPM2 N-terminusunun dört homolog alanı ve kanal aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynayan bir kalmodulin (CaM) bağlayıcı IQ benzeri yapıya sahiptir (163, 168, 175, 176). MHR alanlarının TRPM2 işlev veya ifadesinde önemi üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Öte yandan, C-terminus, TRPM2'nin homotetramerik bileşimi için kritik olduğu ileri sürülen bir TRP ve coil-coil alanı içerir (177).



Şekil 7. A, TRPM2 protein yapısı, B, TRPM2 transmembran topolojisi (206).

A: İnsan TRPM2 1503 aminoasitten (1507 fare ve fare) oluşan ~ 170 kDa'lık bir proteindir. Kanalın N-terminalinde, bilinmeyen fonksiyona sahip dört homolog bölge (MHR) ve bir CaM bağlayıcı IQ benzeri altı transmembran segment (TM: S1-S6) bulunur. TRPM2 gözenek oluşturan halka alanı S5 ve S6 arasında bulunur (206).

B: TRPM2 N- ve C-termini sitosol ile karşı karşıyadır. Sitosolik ADPR, TRPM2 NUDT9-H bölgesine kalsiyum (Ca^{2+}) ve sodyum (Na^+) akışı ile bağlanır ve kanalı açar. ADPR, TRPM2 NUDT9-H enzimatik aktivitesi ile riboz 5-fosfat ve adenosin monofosfata (AMP) hidrolize edilir. ADPR tarafından açılan TRPM2, hidrojen peroksit (H_2O_2), siklik ADPR (cADPR) ve Ca^{2+} ile geçişi kolaylaştırır. AMP, ADPR'nin negatif bir düzenleyicisi olarak görev yapar ve 8Br-cADPR, cADPR ve H_2O_2 aracılı etkileri inhibe eder (206).

ADPR, TRPM2'nin primer kapılama molekülü olarak düşünülür (163,168). ADPR, biri mitokondriyumda diğeri çekirdekte olmak üzere iki yolla sentezlenir. ADPR, DNA onarımı sonrasında glikohidrolaz yoluyla poli (ADPR) 'den sentezlenir. Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) hücre çekirdeğinde DNA tamirinde rol oynayan bir enzimdir ve DNA kopmalarını algılayarak poli (ADPR) zincirinin sentezini başlatır (PARP-PARG yolu) (178). TRPM2' nin C-ucundaki Nudix benzeri alana yüksek özgünlükle bağlanır ve ardından riboz 5-fosfat ve AMP'ye (179) hidrolize edilir (168, 180). TRPM2 enzimatik aktivitesinin fizyolojik rolü ayrıntılı olarak incelenmemesine rağmen, AMP, ADPR aracılı TRPM2 kapılamasını antagonize ettiği için, enzimatik aktivitenin TRPM2 aktivitesi için negatif geribildirim inhibisyonu sağlamaya hizmet edebileceği genel olarak varsayılmaktadır (181, 183). AMP, ADPR'yi bağladıktan sonra, TRPM2 kanalları açılır ve sodyum (Na^+) ve Ca^{2+} 'nin $\text{PNa} : \text{PCa} \sim 0.3 - 0.9$ 'luk nispi geçirgenliği ile hücrenin içine nüfuz etmesine izin verir (174, 175). TRPM2 akımları, $\sim 0\text{mV}$ 'lik bir ters potansiyel ile doğrusal bir akım-voltaj (I-V) ilişkisi ile karakterizedir (168, 173). Tek kanal iletkenlik değeri alışılmadık bir şekilde birkaç saniye aralığındaki frekanslarla $\sim 60 \text{ pS}$ 'dir (168).

ADPR tarafından aktive edilen TRPM2, hem inhibitör hem de exitatör modülasyon mekanizmalarına tabidir. Negatif düzenleme AMP (181, 183) ve protonlar (184-186) ile gerçekleşirken kolaylaştırma Ca^{+2} , hidrojen Peroksit (H_2O_2) (171,181), siklik ADPR (cADPR) (181, 183) ve nikotinik asit adenin dinükleotid fosfat (NAADP) (181,183) ile gözlemlenir (175, 187, 188). Bu modüle edici etkilerin bazıları doğrudan kanal proteini aracılı olarak görünürken,

diğerleri dolaylı olup, henüz tanımlanamayan sitozolik bileşenleri içermektedir (189).

TRPM2 beyinde en üst düzeyde exprese edilirken aynı zamanda kemik iliği, dalak, kalp, karaciğer ve akciğer gibi diğer dokularda ve pankreatik β hücreleri, endotel hücreleri (190-192), mikrogliya (193), nöronlar (172, 194) ve bağışıklık hücreleri (nötrofiller, megakaryositler, monosit / makrofajlar) (183, 195, 196), kardiyomiyosit (196) gibi farklı hücre tiplerinde de bulunur (197, 198). Başlangıçta bir plazma membran kanalı olarak tanımlanmasına rağmen, TRPM2'nin yakın zamanda pankreatik β hücrelerinde bir lizozomal Ca^{+2} salınma kanalı olarak da işlev yaptığı görülmüştür (199).

3.4.1.1.1.2. TRPM2 Kanallarının Aktivasyonu ve Modülasyonu

ADPR, incelenen hücre tipine bağlı olarak (173, 181, 200, 201) en etkili TRPM2 aktivatörüdür (183, 187).

ADPR 3 yolla sentezlenmektedir;

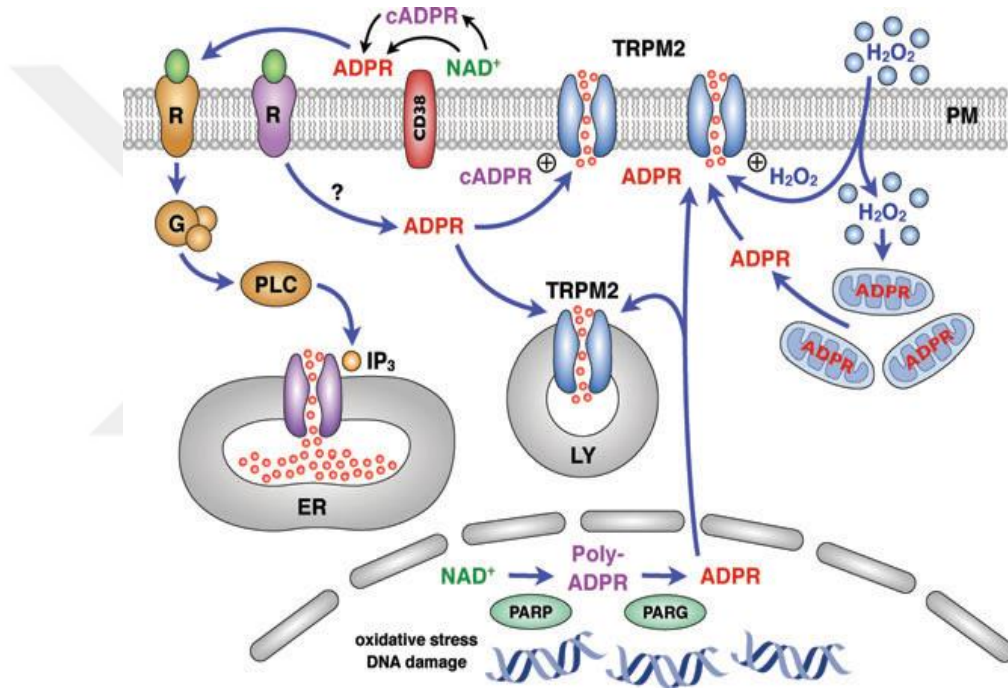
1- NAD^{+} , PARP enzimi vasıtası ile poliADPR oluşur, bundan da poliADPR glikohidrolaz enzimi vasıtası ile ADPR elde edilir.

2- NAD^{+} , cADPR'ye daha sonra cADPR hidrolaz vasıtasıyla ADPR elde edilir.

3- NAD^{+} 'dan NADaz enzimi vasıtası ile ADPR elde edilir.

Bu üç mekanizma da oksidatif stres ürünlerinden olan ROS ürünleri tarafından aktive edilmektedir (202, 203). Ekstraselüler Ca^{+2} ve hücre içi Ca^{+2} , TRPM2 kanallarının tam aktivasyonunda kritik bir role sahiptir (175, 188). Hücre içi Ca^{+2} , ADPR'ye karşı kanal hassasiyetini arttırarak TRPM2 aktivasyonunu kolaylaştırır. Ca^{2+} yokluğunda ADPR, katyon akımlarını indükleyemez ve

TRPM2 akımlarını etkinleştirmek için minimum 30 nM Ca^{2+} gerekir (187). TRPM2 kanalları, H_2O_2 (175, 181), oksijen ve azot türleri üreten diğer ajanlar tarafından da aktive edilebilir, ancak etki mekanizması belirsizdir. Kapı mekanizmasının öncelikle ADPR'yi mitokondriye salma kabiliyetine bağlı olduğu görülmektedir (204). Ek olarak, H_2O_2 aracılı TRPM2 akımlarının mitokondrideki ADPR konsantrasyonunu azaltarak baskılayabileceği gösterilmiştir (205).



Şekil 8. TRPM2 aktivasyonu için sinyal mekanizması (206).

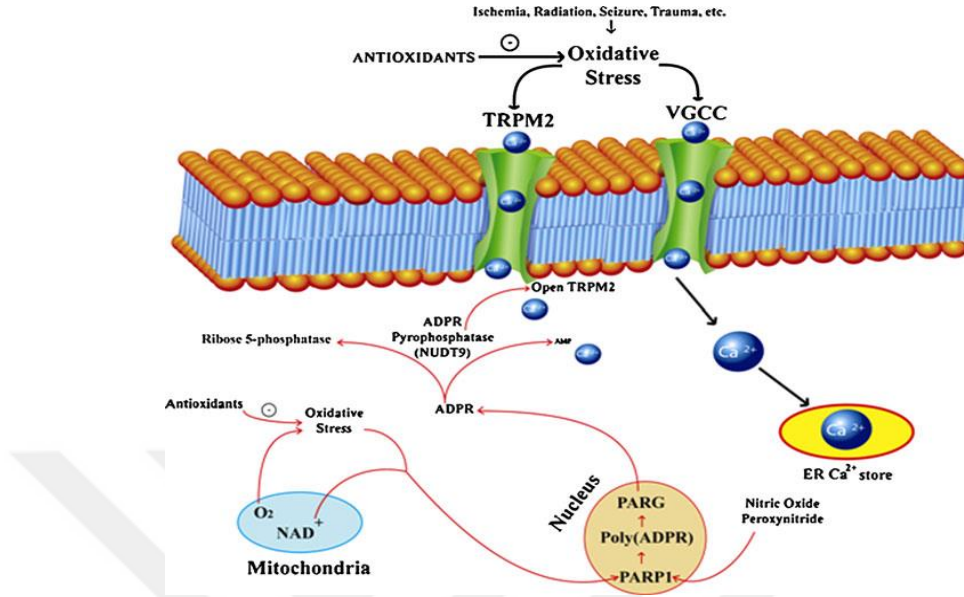
Ekstraselüler ADPR plazma membran reseptörlerine (örn: P2Y reseptörleri) bağlanabilir ve depolamalardan G2 proteinleri ve PLC aktivasyonu yoluyla sonraki IP3 üretimi ile Ca^{+2} salınımı yoluyla (Ca^{+2}) i artırır (206). H_2O_2 ayrıca plazma zarını geçebilir ve ADPR'yi mitokondriyondan harekete geçirir (hem H_2O_2 hem de cADPR, TRPM2'yi aktive etmek için ADPR ile sinerjikleşebilir) (206). ADPR, PARP-1 / PARG yolağının aktivasyonu yoluyla ROS ile indüklenen DNA

hasarı sırasında poli-ADPR'den de üretilir. Serbest sitozolik ADPR, lizozomal ve plazma membran TRPM2 kanallarının NUDT9-H üzerinde etki gösterecek ve plazma zarı boyunca Ca^{+2} akışı ve / veya lizozomal Ca^{+2} salınımı sağlayarak sitozolde Ca^{+2} konsantrasyonunu yükseltecektir (206). Ca^{+2} aşırı yüklenmesi, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ve muhtemelen nekrozu tetikleyebilir. Son olarak, belirlenmeye devam eden hücre dışı sinyaller potansiyel olarak, hücre içi ADPR üretimini indükleyebilir; bu da, lizozom ve / veya plazma zarında TRPM2 kanallarını kapar ve reseptör aracılı sinyalleme düzenler (206).

3.4.1.1.1.3. Nöronal Hücrelerde TRPM2 Kanallarının Rolü

Northern blotlama ve kantitatif PCR teknikleri, TRPM2'nin MSS geniş ölçüde bulunduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bu kanıtlar homojenize edilmiş doku örneklerinden türetildiğinden, nöronlardan glial hücrelerinin ayırt edilmesine izin vermemektedir. TRPM2, mikrogial hücrelerinde saptanmış ve TRPM2'nin MSS dağılımının nöronal olmayan hücrelerdeki ifadesine karşılık geldiği öne sürülmüştür (201, 207).

3.4.1.1.4 TRPM2'nin Aktivasyonu Üzerindeki Oksidatif Stresin Rolü



Şekil 9. Oksidatif stres in TRPM2 kanal aktivasyon mekanizması (208).

Ca²⁺ artması, metabolik bozulmalara ve hücre ölümüne neden olarak normalde düşük seviyelerde işlem gören sürecin uygun olmayan bir şekilde aktivasyonuna neden olabilir. Örneğin, iskemi, radyasyon, travma vb. nedenlerle hücre içi Ca²⁺'deki aşırı yükselmeler, enzimatik bozunmayı aktive edebilir, ROS oluşumunu indükleyebilir veya normal mitokondriyal fonksiyonu bozarak oksidatif strese ve biyoenerjetik başarısızlığa neden olabilir (215). Oksidatif stresin neden olduğu TRPM2 aktivasyonunun mitokondriden ATP'nin üretimi yoluyla tetiklendiği bildirilmiştir (164).

Antioksidanlar sitosol içine Ca²⁺ akışını ROS inhibisyonu yoluyla düzenler. Mitokondriyal membranların devamlı depolarizasyonu, artmış ROS üretimi yoluyla TRPM2'nin aktivasyonu ile sitozol içine Ca²⁺ akışını aktive eder (170). H₂O₂'nin uygulandığı deneysel bir paradigma olan oksidatif stres, TRPM2 ile

transfekte edilen çeşitli hücre tiplerinin (209, 210) yanı sıra pankreatik b hücrelerinde, nötrofil granulositlerinde ve U937 monositlerindeki TRPM2 akımlarında ve $[Ca^{+2}]_i$ konsantrasyonunda bir artış sağlar (196). TRPM2 in N alanı ADPR pirofosfataz enzim aktivitesine sahiptir ve enzim oksidatif stres ve ADPR tarafından aktive edilir (209). ADPR, yalnızca mitokondride değil, aynı zamanda çekirdek tarafından da üretilir (211, 212-213). Çekirdekte, ADPR üretimi, poli (ADPR) polimeraz-1'i (PARP-1) içeren bir yolla sağlanır ve oksidatif stres ve radyasyon gibi farklı faktörlerden kaynaklanan DNA hasarı ile başlatılabilir. Poli (ADPR) glikohidrolaz (PARG) ve ADP-ribozil protein liyaz aktiviteleri ile poli (ADPR) 'nin bozunmasından sonra serbest ADPR üretilir. Dolayısıyla, TRPM2'yi aktive eden serbest ADPR'nin, PARP-1 ve PARG'nin aktivasyonu ile üretildiği varsayılabilir (211).

3.4.1.1.1.5. Hipokampal Nöronlardaki TRPM2 Kanalları Üzerinde Oksidatif Stresin Rolü

Son zamanlarda, Lipski ve ark. TRP veya TRP' ye benzer kanalların hipokampal CA1 nöronlarındaki TRPM2, hücrel stres tarafından aktive edildiğini ve iskemiye bağlı membran depolarizasyonuna, hücre içi kalsiyum birikimi ve hücre şişmesine katkıda bulunduğunu bildirmiştir (207, 214). Ayrıca, tek başına ADPR'nin, hipokampal nöronlarda TRPM2'yi kapatmak için yetersiz olduğunu sonuca varılmıştır. Yine bu çalışmalar sonucunda, Ca^{+2} un girişi aracılığıyla voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını ve/veya NMDA yı tamamen aktive etmek için TRPM2 kanallarını gerekli olduğu sonucuna varmışlardır. Son zamanlarda, Bai ve Lipski TRPM2 ve TRPV4 kanallarının ekspresyonunu ve

bunların organotipik hipokampal kültürlerinde oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarına ait sonuçlar izlenimlemişlerdir (215).

3.4.1.1.1.6. TRPM2 ve Hücre Ölümü

TRPM2 lenfositler ve monositlerden klonlanır (168). TRPM2, H_2O_2 ve reaktif oksijen türlerini üreten diğer ajanlar tarafından aktive edilmektedir ve aktivasyonu intraselüler serbest kalsiyum (Ca^{+2}) konsantrasyonunda bir artış sağlamıştır (202). TRPM2'nin HEK293 hücrelerindeki heterolog ekspresyonu Ca^{+2} yükselmesi ile ilişkili olan H_2O_2 indüklü hücre ölümüne neden olduğunu kanıtlamıştır. Dahası, endojen TRPM2 ekspresyonunun rat insülinoma RIN-5F ve monosit U937 hücrelerinde baskılanması Ca^{+2} akımında ve H_2O_2 ya da tümör nekrozis faktör (TNF) tarafından indüklenen hücre ölümünde önemli derecede bir azalmaya neden olmuştur (216).

3.5.LabVIEW

3.5.1.LabVIEW Grafiksel Arayüz Programı

1983 yılında National Instrument firması tarafından LabVIEW Grafiksel Arayüz programı geliştirilmiştir (217). LabVIEW (Laboratuvar Sanal Enstrümantasyon Mühendisliği Tezgahı' nın kısaltması), National Instruments'ın görsel programlama dili için bir platform ve geliştirme ortamıdır (218). LabVIEWde operatör metinsel kodlama yerine sembol tabanlı bir kod yazımı gerçekleştirebilir. Metin tabanlı kodlar ile aynı işi yapan ve vi(virtual instrument) olarak adlandırılan sanal elemanlar, aralarında dallanmalar ile bağlanarak blok şemayı oluştururlar. Diğer taraftan arayüz olarak sunulan ön panel başka programlama dillerinde yazılması gereken metin tabanlı arayüz yazılımına ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır.

LabVIEW'ün ilk sürümü 1986 yılında Macintosh işletim sisteminde çalışacak şekilde tasarlanmıştır. Ancak daha sonra daha yaygın olarak kullanılan diğer işletim sistemleri ile de kullanılabilecek şekilde yeniden düzenlenmiştir (217).

1990'a gelindiğinde LabVIEW tümüyle baştan yazılmış, yeni derleyicisi sayesinde çalışma hızı C programla dili ile karşılaştırılabilir duruma getirilmiştir. Hali hazırda LabVIEW grafiksel arayüz programı tüm işletim sistemlerinde çalışabildiği gibi diğer programlama dillerine de çalışabilir durumda tasarlanmıştır (219). LabVIEW'ı kullanarak kenar algılama, nesne izleme, histogram, desen eşleştirme vb. kolayca yapılabilir. LabVIEW'de vision asistanı gibi national instruments araçlarını kullanarak görüntüyü izlemek kolaydır. Örneğin, çeşitli görüntüler arasında kare şeklinde bir görüntü varsa o zaman bu yazılım

aracılığıyla görüntüyü takip etmek kolaydır ve eşzamanlı olarak nesnenin veya görüntünün hareketini izleyebiliriz (220). Grafik dili "G" olarak adlandırılır. Kod dosyaları "Sanal Enstrüman" için bir kısaltma olan ".avi" uzantısına sahiptir. LabVIEW birçok ek eklenti ve araç seti sunar (221).

3.5.2.LabVIEW Çalışma Şekli

LABVIEW ile yazılmış bir program bir veya birden çok sanal elemandan oluşur. Sanal eleman ifadesi nesnelerin görünüşlerinin ve çalışma şeklinin gerçek fiziksel bir hareketi sanal unsurlarla gerçekleştirmesinden kaynaklanır (219). Bir sanal eleman üç ana bölümden oluşur. Bunlar; ön panel, blok diyagram ve ikon olarak adlandırılır (217).

Ön Panel: LabVIEW ortamının ön paneli, gelişmiş GUI'nin görüldüğü yerdir. GUI ön panelin görünüm ve ortamı ile aynı görünüme sahiptir(218). Kullanıcının programa parametre girişi yapabildiği veya çeşitli gösterge, grafik ve ekran çıkışlarını gözlemleme imkanı sunan interaktif arayüzdür (217). Birçok sayıda ızgaralardan oluşur. Ör: çalıştır, duraklatma, durdurma gibi. Bu araçlar programın başlatılmasına ve durdurulmasına yardımcı olur. Kontrol araç çubuğu, modern, klasik, ekspres, kontrol tasarımı ve simülasyon, sinyal işleme, eklentiler, kullanıcı denetimleri gibi çeşitli seçeneklerden oluşur (218).

Blok Diyagram: Programın asıl elde edildiği yerdir (217). Programlama, ölçüm i / o, sistem i / o, matematik, vizyon ve hareket, veri iletişim bağlantısı vb. seçeneklerin bulunduğu işlev paletinden oluşur. Tüm programlama, kodların blok diyagramları şeklinde yazıldığı LabVIEW'in bu bölümünde yapılır. Sanal nesneler arasında oluşturulan akış diyagramı vasıtasıyla kaynak kod buradan çalıştırılır (217). Tüm girişler ve çıkışlar blok şemasında kablolanmaktadır. Blok şeması,

diğer blok diyagram nesneleri veya blokları arasında veri aktaran terminaller, subVI'ler, fonksiyonlar, sabitler, yapılar ve kabloları içerir. Express VI'lar (örneğin, simülasyon sinyalleri) sinyalleri simüle etmek için kullanılabilir. Benzer şekilde, filtreleme ifadesi VI, gürültülü sinyaller filtrelemek için kullanılır. NI görüntüleme, LabVIEW'in geliştirme modülünde bulunan bir kütüphanedir. NI vision, bilimsel görüntülemenin geliştirilmesi içindir (218).

İkon: Her bir sanal eleman giriş çıkış portları bulunan görsel bir ikon içerir. Bu ikon kullanıcı tarafından istenilen şekilde düzelenebilir. Sanal eleman başka bir sanal eleman altında nesne olarak kullanılacağı zaman bir alt program (sub vi) oluşturulur ve bu yeni nesne port veya portları bulunan bir ikon ile temsil edilir (217).

Sanal elemanlar sıralı ve modüler bir yapıdadır. Karmaşık bir program alt programlara ayrılabilir. Her bir alt program için oluşturulan sanal eleman sırasına bağlı olarak blok diyagramda bir alt program olarak yer alır ve karmaşık bir program bu şekilde sıralı ve modüler halde oluşturulabilir. Böylece tasarlanan algoritmada hatalar daha kolay ayıklanır ve benzer işlemler yapan alt programların çoğaltılması büyük kolaylık sağlar (217).

3.5.3. LABVIEW'de Nesne Tanımlama

Görüntü Eşleştirme: Model eşleştirme, nesnenin şeklinin yanı sıra rengi tanımlamanın basit bir yoludur. Bu yöntemde, ilk görüntü kamera tarafından çekilir ve daha sonra belirlenecek veya bulunacak resmin bir kısmı vurgulanır ve .png biçiminde bir şablon olarak kaydedilir (218). Görme sistemi çalıştırıldığında ve görüntüler çekilir ve işlenirken, görüntü sistemi, yeni edinilen görüntünün tamamında veya kullanıcı tarafından sağlanan görüntüdeki bir ilgi alanının

yukarıda sözü edilen şablonu arar (218). Şablon bulunursa, desen eşleştirilir; sıralama sistemi gerekli işlemi yapar. Model eşleştirme süreci iki aşamadan oluşur: öğrenme ve eşleme. Öğrenme aşamasında, görme sistemi, kaydedilen şablondan gri değeri ayıklar ve arama veya inceleme sırasında hızlı bir şekilde bulunması için bir şekilde saklar. Algoritmanın eşleştirme aşaması, desenin yüksek çapraz korelasyonla eşleşen yeni edinilen resimdeki eşleşmelerini bulur (218).

Model eşleme türleri:

Korunan model eşleme

Yapısal model eşleme

Sezgisel model eşleme

Sipariş edilen model eşleme (218).

Kenar Algılama: Kenar algılama, şekil ve boyutları belirlemenin diğer bir yoludur. Görüntü yakalandıktan sonra, makine görme sistemi farklı piksel yoğunluk seviyelerine dayanan kenarlar için tüm resmi veya ilgi alanını arar (218). Eğer biz arka planın şeklini korursak, resmin tamamının piksel yoğunluğu aynı olur. Görüntü alanı üzerinde bir nesne görüldüğünde, arka planın bir bölgesi nesneyle doludur ve dolayısıyla piksel yoğunluğu artık aynı değildir (218). Nesnenin bulunduğu bölge farklı piksel yoğunluğuna sahiptir. Bu farkın avantajından yararlanarak, nesnenin çevresindeki kenarlar algılanabilir ve nesnenin boyut, şekil, alan ve diğer görsel parametrelerinin belirlenmesinde kullanılabilir (218). Kenar tespitin dört basamağı şunlardır:

Yumuşatma (filtreleme gürültüsü)

Geliştirme (görüntünün keskinleştirilmesi)

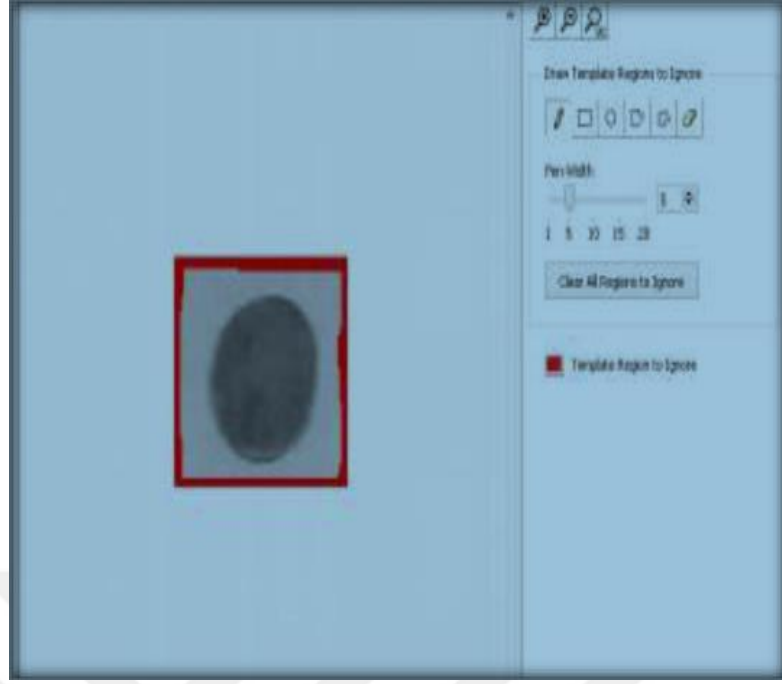
Algılama (hangi plandan atılacak ve hangisini tutacaklarını belirleme)

Lokalizasyon (bir kenarın kesin yerini belirleme)dur (218).

Geometrik Eşleme: Bu yöntemde şekiller belirli bir geometrik desen eşleştirilerek doğru şekilde tanımlanabilir. Desen eşleştirmedeki gibi, nesnenin resmi çekildikten sonra resmin bir kısmı şablon olarak kaydedilir (218). Görme sistemi çalıştırıldığında, diğer görüntüler çekilir ve geometrik desen görüntü sisteminde tüm görüntüde veya ilgilenilen alanda aranır. Böylece dikdörtgen, üçgen, kare, oval, dairesel, eliptik gibi şekiller, sıralama sistemi tarafından gerekli önlemleri almak üzere tanımlanabilir (218). NI Vision, iki geometrik eşleme yöntemi içerir. Her iki geometrik koordinasyon yöntemi koordinasyonu sağlamak için resimden çıkarılan eğimlere bağlıdır. İki geometrik eşleme tekniği, koordinasyonu gerçekleştirmek için eğim verisinin nasıl kullanıldığına göre değişir. Özellik tabanlı geometrik eşleme yöntemi, eğrilerden geometrik özellikleri çıkarır ve eşleştirmeyi gerçekleştirmek için bu geometrik özellikleri kullanır (218).

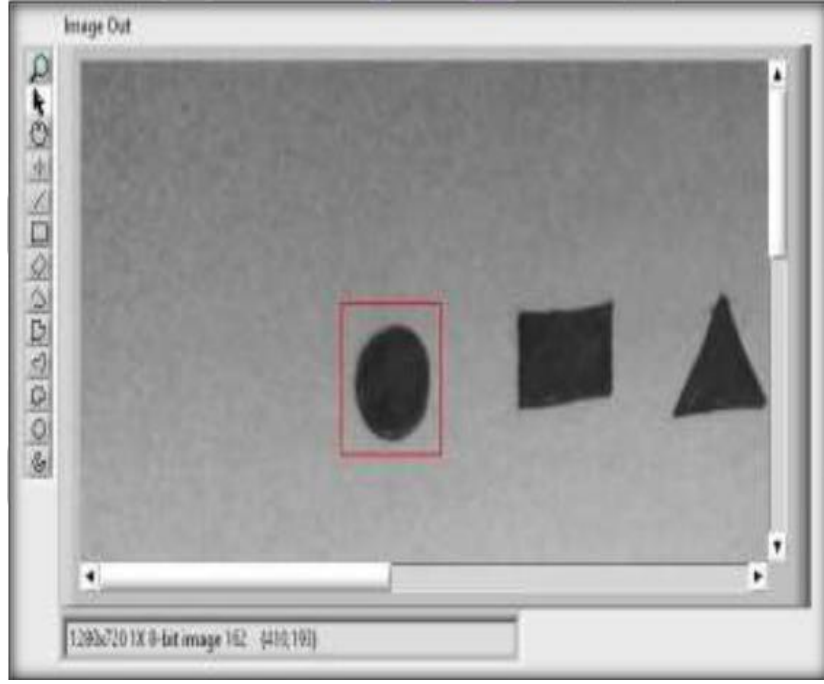
3.5.4. Görüntü İzleme

Blok şemasını Labview'a inşa ederek ve görüntü yardımcısı aracı ile entegre ederek görüntüyü kolayca izlemek mümkündür (220). Görüntü web kamerası aracılığıyla edinilir ve Labview da kullanılır. Görüntü yardımcı aracında şablonun parçası desen eşleme seçeneği kullanarak seçilir. Otomatik olarak standart görüntü Labview'a yüklenir (220).



Şekil 10. Şablon düzenleyicisi (220).

Görme asistanı aracında, örneğin verilen şekil.10'da izlenecek görüntünün şablonu seçilir. Daire, diğer şekiller arasında izlenir. Resim şablon düzenleyicisinde düzenlendikten sonra aynı model LabVIEW programına yüklenir ve gerçek zamanlı görüntü, görüntü çerçevesinde gösterilir. Görüntü çerçevesi otomatik olarak resimdeki düzenlenmiş deseni izleyecektir (220).



Şekil 11. Örüntü tanıma (220).

Üç desen arasında sadece daire daha önce yüklenen standart desen nedeniyle tanınır. Görme yardım aracı seçilen şablonu yüklemek için kullanılır ve LabVIEW programında yüklü olan aynı deseni Şekil.4'de gösterildiği gibi yükler. Görüntünün hareketi, LabVIEW bloklarıyla entegre matematik komut dosyası düğümü kullanılarak izlenebilir. Komut dosyasında Matlab programlama kullanılır. Grafik, matematiksel programlamada yaklaşık ölçek kullanılarak çizilir ve görüntü kameranın odak alanına taşınır. Resim eşleştğinde, bölgede kırmızı renkli köşeli ayraç görüntülenir, desenin hareketi izlenir ve izlenen yol kolayca grafikte gösterilebilir (220).

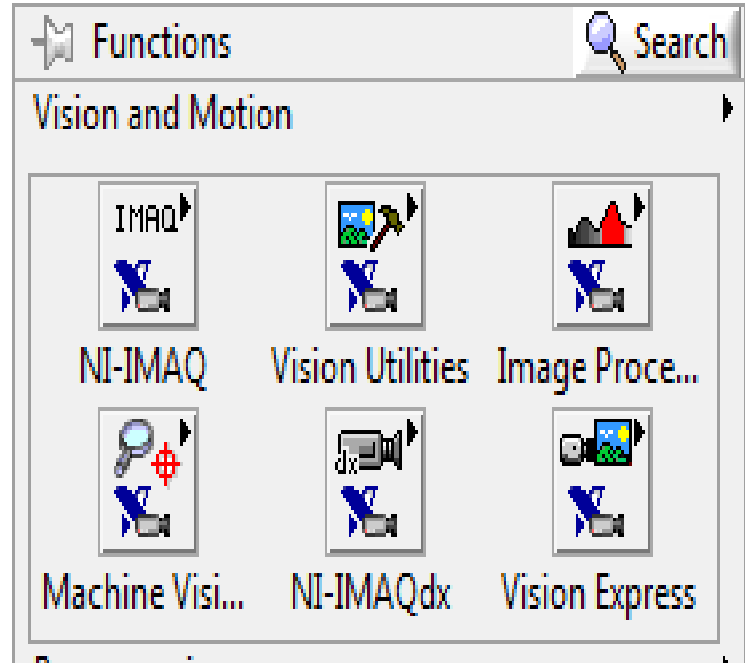
3.5.5. Vision and Motion Modülü

LABVIEW Vision and Motion modülü imge işleme ve hareket alt modüllerini barındırır. Vision alt modülü genel olarak video veya belirli sayıda imgenin yakalanması, yakalanan imge ile analiz, imge işleme veya yapay görü işlemlerinin yapılması, otomasyon faaliyetlerinde kullanılan parça denetleme görevlerinin yerine getirilmesini sağlayacak nitelikte sanal nesneler içerir. Bunun yanında motion alt modülünde ise National Instrument firması tarafından geliştirilen hareketli motor ve benzeri parçalar, kontrolör kartı ve sürücüler için kullanılan sanal nesneler yer alır (217).

Vision alt modülünde gerekli nesnelerin fonksiyon tablosuna dâhil edilmesi için imge yakalama, görüntüleme ve benzeri işlevler için Vision Acquisition Software (VAS) yazılımı, görüntü işleme, analiz ve yapay görü işlevleri için Vision Development Module (VDM) yazılımı ve otomasyon denetimi için ise Vision Builder for Automated Inspection (VBAI) yazılımının yüklenmesi gerekmektedir (217).

VAS yazılımının yüklenmesinden hemen sonra vision alt modülünde ni-imaq ve ni-imaqdx nesne kümeleri görülür. Ni-imaq ve ni-imaqdx nesne kümeleri aynı isim ve niteliklerde nesnelerden oluşur. Ancak iki nesne grubu da farklı arayüzlerle çalışır. Ni-imaq nesne grubu yalnızca National Instrument firması tarafından üretilen görüntü yakalama kartları ile birlikte çalışan arabirimlere hizmet sağlarken ni-imaqdx nesne grubu ise firewire, usb, ethernet gibi diğer arayüz birimleri ile çalışır. Buna ilaveten her iki nesne grubunda da imge yakalamak için yapılan işlemler VDM yazılımı içerdiğinde Vision Express alt modülünde bulunan VAS nesnesi ile daha kolay bir şekilde yerine getirilir (217).

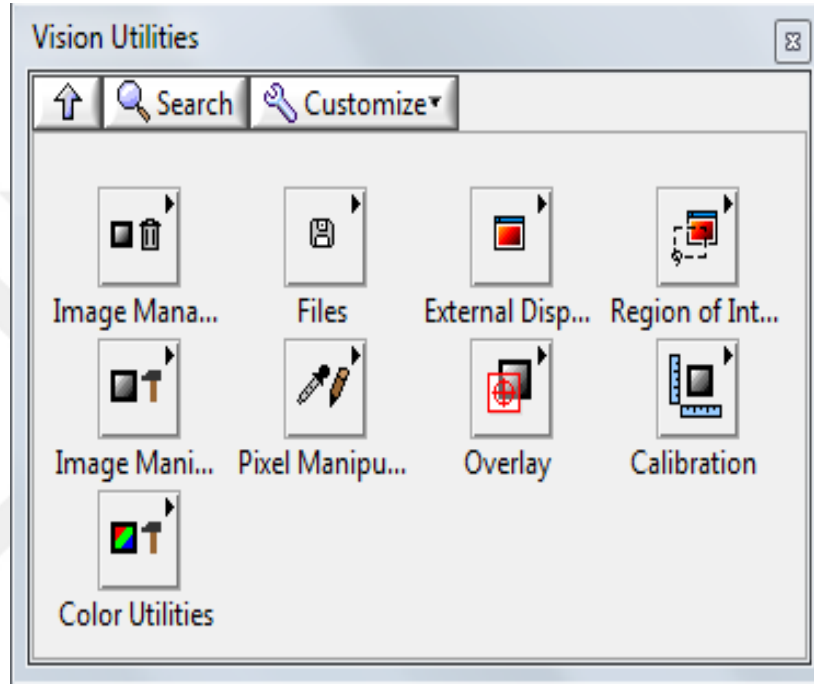
VDM yazılımının yüklenmesi ile de vision alt modülünde vision utilities, image processing, machine vision ve vision express nesne grupları açılmaktadır (217). Vision utilities nesne grubunda imge üzerinde kullanıcı tarafından çeşitli geometrik şekillerin eklenebileceği, imge formatının düzenlenebileceği veya pikseller üzerinde istenilen değişikliklerin yapılabileceği nesneler blunur. Image processing nesne grubunda imge filtreleme, eşik belirleme, imge histogramının çıkarılması ve benzeri işlevlerin gerçekleştirilebileceği nesneler bulunur (217). Machine vision nesne grubunda ise imge eşleştirme, optik karakter tanıma, kontur analizi ve benzeri işlevlerin yapılabileceği nesneler bulunmaktadır. Vision express nesne grubunda ise görüntü yakalama ve işleme faaliyetlerinin interaktif olarak gerçekleştirilebileceği vision acquisition ve vision asisstant nesneleri yer alır. Vision and Motion modülü şekilde görülmektedir (217).



Şekil 12. Vision and Motion modülü (217).

3.5.6. Vision Utilities Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları

Vision utilities nesne grubunda bulunan nesne ve alt nesne grupları şekilde sunulmuş ve maddeler halinde belirtilmiştir (217).



Şekil 13. Vision Utilities nesne grubunda bulunan nesne ve alt nesne grupları (217).

Image Management: Image management alt nesne gurubu içerisinde bulunan nesneler ile genel olarak bir imgenin kameradan alınması, kamera özelliklerinin alınması veya kontrol imkânı veren bir kamera kullanılıyor ise kamera özelliklerinin değiştirilmesi, imge boyutları, çözünürlük ve benzeri bilgilerin elde edilmesi gibi işlemler gerçekleştirilir (217).

Files: Kayıtlı bulunan imge veya videonun okunması veya yazılması işlevlerini yerine getiren nesneleri içerir. Bu nesneler imge okumak veya yazmak

için JPEG, PNG, BMP, TIFF ve AIPD formatlarını, video için AVI formatını kullanır (217).

External Display: Programın çalışması sırasında belirlenen bir anda harici bir ekran açılarak ilgi sahası bilgilerini alma, açılacak ekranın boyutları, imge boyutu, formatı gibi değişkenleri değiştirme gibi işlemler buradan gerçekleştirilir (217).

Region Of Interest: İmge üzerinde yapılacak işlemlerin sadece sınırlı bir bölgede kalması sağlanabilir. İlgi sahasını belirlemek amacıyla ilgi sahası tanımlayıcı bilgisinin üretildiği ve kullanıcı kolaylığını dikkate alındığı nesnelerin bulunduğu gruptur (217).

Image Manipulation: İmge üzerinde belirli bir parçayı kesip çıkarma, tekrar ölçeklendirme, belirli bir eksene göre simetrisini alma, belirli bir açı ile döndürme, belirli bir hücre sayısı kadar kaydırılma gibi değişiklikler yapılabilen gruptur (217).

Pixel Manipulation: İmge hücrelerinden bir hattın veya bir bölgenin ya da sadece birkaç hücre değerinin değiştirilebildiği, hücre bilgisinin okunduğu nesneleri içerir (217).

Overlay: İmge üzerinde kullanıcı tarafından belirlenen herhangi bir konumda nokta, dikdörtgen veya çokgen gibi geometrik çizimlerin yapılabildiği nesneleri içerir (217).

Calibration: 3-boyutlu gerçek görüntü 2-boyutlu imgeye çevrilirken kameranın nesne yüzeyini bir dik açı oluşturacak şekilde göremediği tüm nesneler bir tür perspektif hatası ile görüntülenir. Kalibrasyon nesne grubunda bulunan

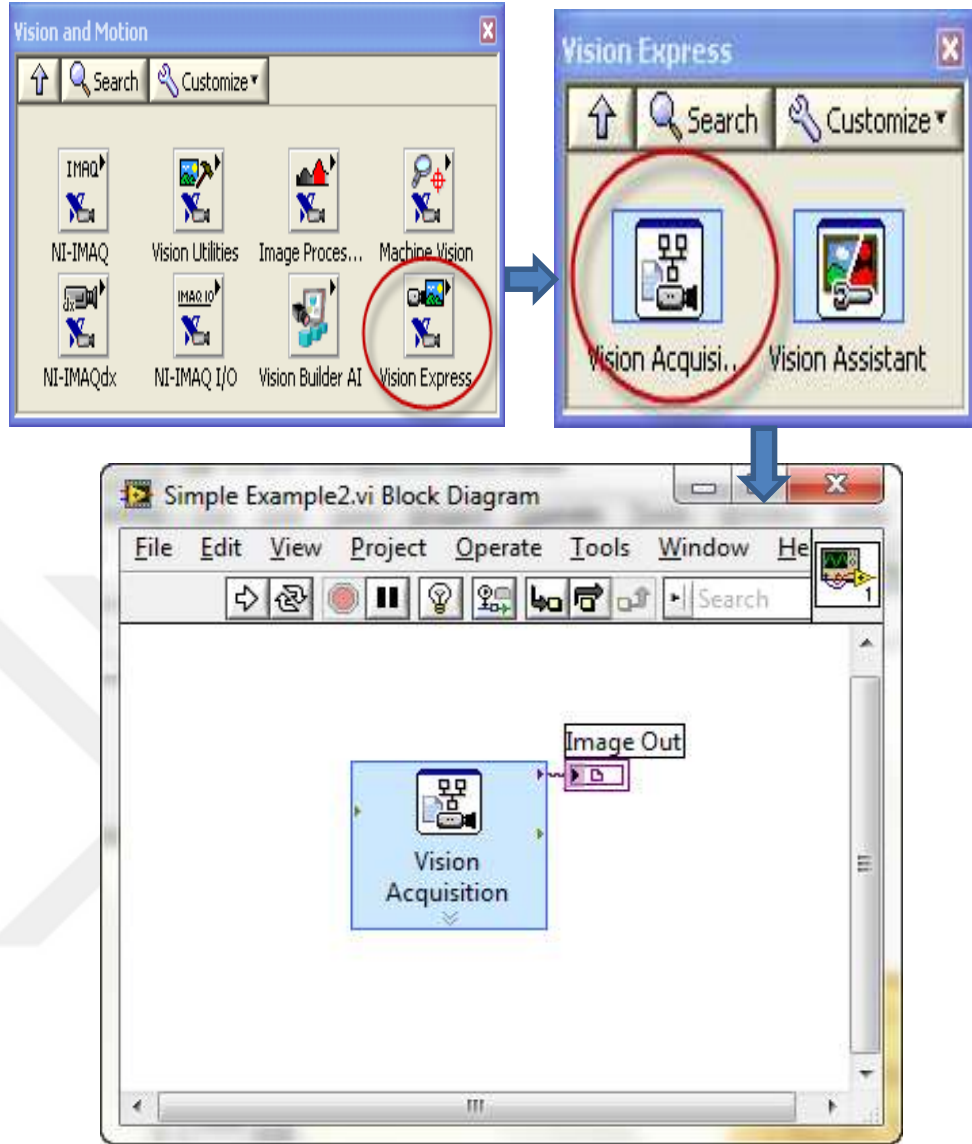
nesneler doğru görüntüyü oluşturacak parametrelerin kullanıcı tarafından girilmesi ile hataların düzeltilmesi için kullanılır (217).

Color Utilities: Renkli imgede renk düzlemlerinin ihtiva ettiği hücre bilgisinin öğrenilmesi, değiştirilmesi, renk düzlemlerinin bir matris olarak kullanıcıya sunulması veya bir matris bilgisinin renk düzlemi olarak gösterilmesi gibi işlevleri yerine getiren nesneleri içerir (217).

Vision RT (Real Time): LabVIEW Real Time Module sisteminin video out çıkışını beslemek ve görüntü sıkıştırma işlemi yapmak için kullanılan nesneler bu grupta bulunur (217).

3.5.7. Vision Acquisition Express VI Kullanımı

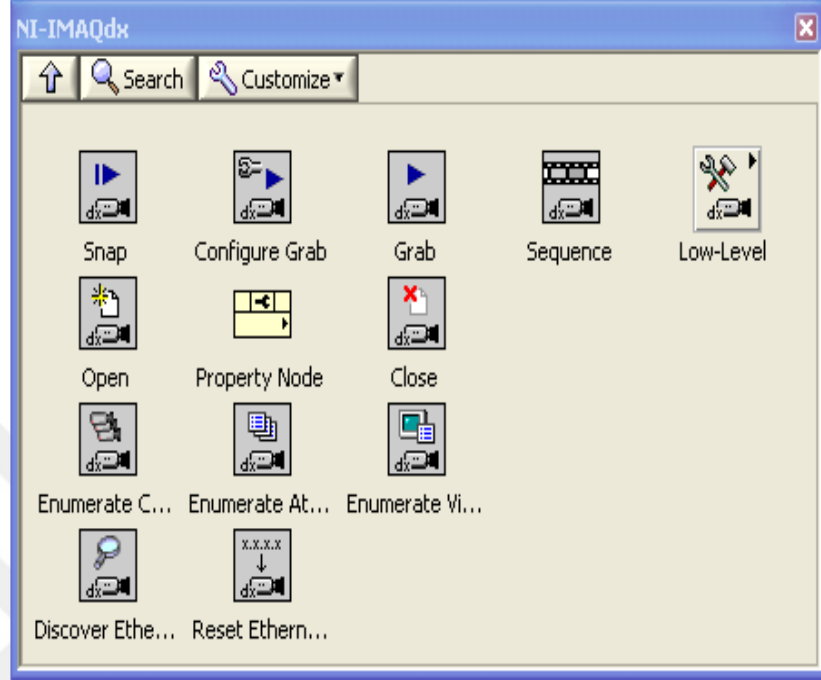
LabVIEW'den görüntü elde etmenin en basit yolu Vision Acquisition Express VI uygulamasını kullanmaktır. LabVIEW'te "Vision Acquisition Express VI" ürününü Vision Express paletinde buluyoruz:



Şekil 14. Bitmiş LabVIEW programının basitçe görüntüsü (221).

3.5.8. IMAQdx Kullanımı

Aşağıda LabVIEW'de NI-IMAQdx paletini görüyoruz:

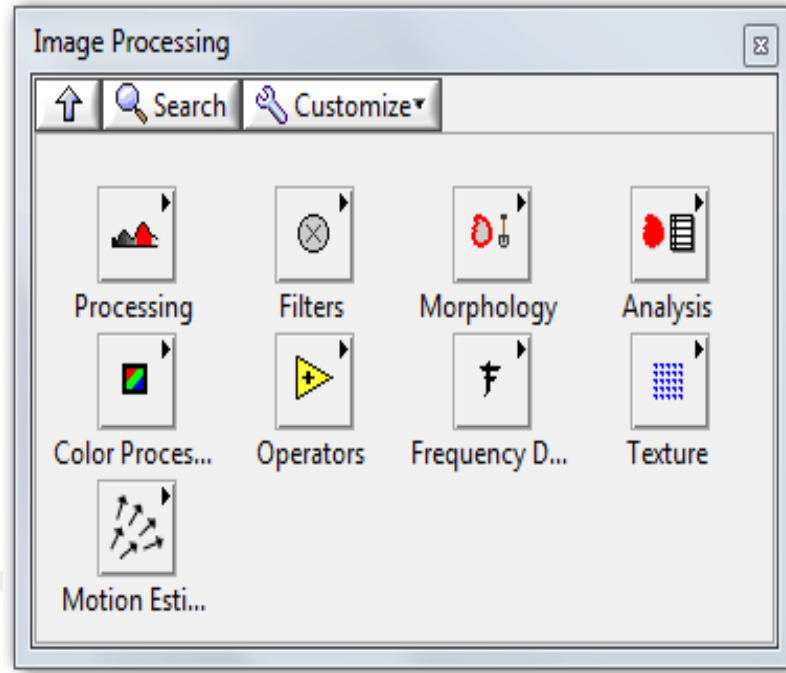


Şekil 15. NI-IMAQdx paletinin görüntüsü (221).

Kameradan tek bir görüntü elde ettiğimiz bir uygulama oluşturmak için IMAQdx VI'ları kullandığımız basit bir örnek görüyoruz (221).

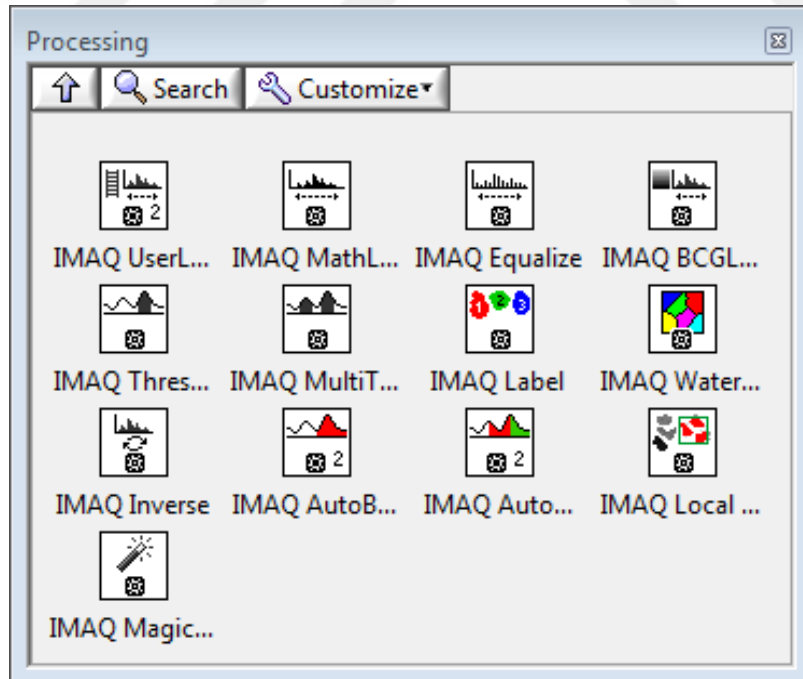
3.5.9. Image Processing Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları

Image Processing nesne grubunda bulunan nesne ve alt nesne grupları Şekil 16'da sunulmuş buna ilaveten maddeler halinde açıklaması yapılmıştır.



Şekil 16. “Image Processing” Nesne Grubu (221).

Processing: Vision and Motion → Image Processing → Processing (221).



Şekil 17. “Processing” Nesne Grubu (221).

İmge üzerinde gama, parlaklık, zıtlık ve benzeri değişikliklerin yapıldığı, renkli imgenin ikili görüntüye (binary) çevrildiği, hücre değerlerinin doğrusallaştırılarak eşitlenmiş bir imge oluşturulması gibi işlemlerin gerçekleştirildiği nesneleri içerir (217).

Filters: Çeşitli kenar bulma yöntemleri sayesinde kenar bulma, imgede gürültü azaltma, kenar bulma işlemi için kullanıcının oluşturacağı bir kernel filtresi kullanımı gibi işlevleri yerine getiren nesneleri içermektedir (217).

Morphology: Gri skala ve ikili imge üzerinde gürültü ayıklama ve istenmeyen kısımları silmeyi sağlayan nesneleri içerir (217).

Analysis: Gri skala ve ikili imge için histogram bilgisini, bir bölgenin veya tüm imge üzerinde hücre değerlerine bağlı olarak enerji merkezinin belirlenmesini, konturların çıkarılması gibi işlemler gerçekleştirilebilir (217).

Color Proccessing: Renkli imgede histogram bilgisi oluşturulması, gri skala oluşumu, parlaklık, zıtlık, gama değişimleri yapılması, belirli bir bölgenin renk değerlerini bulma ve istenen bir renk değerinin imge üzerinde konumunu bulma gibi işlemleri içerir (217).

Operators: İki farklı imge veya bir sabit ile imgenin toplanması gibi aritmetik ve mantıksal işlemlerin de uygulandığı nesneleri içerir (217).

Frequency Domain: Bir imgenin FFT dönüşümü yapılarak karmaşık imge haline getirilmesi veya karmaşık imgenin çözülmesi ve karmaşık imgede genlik, faz, gerçek ve sanal kısımların belirlenmesi gibi işlemler için gerekli nesneleri içerir (217).

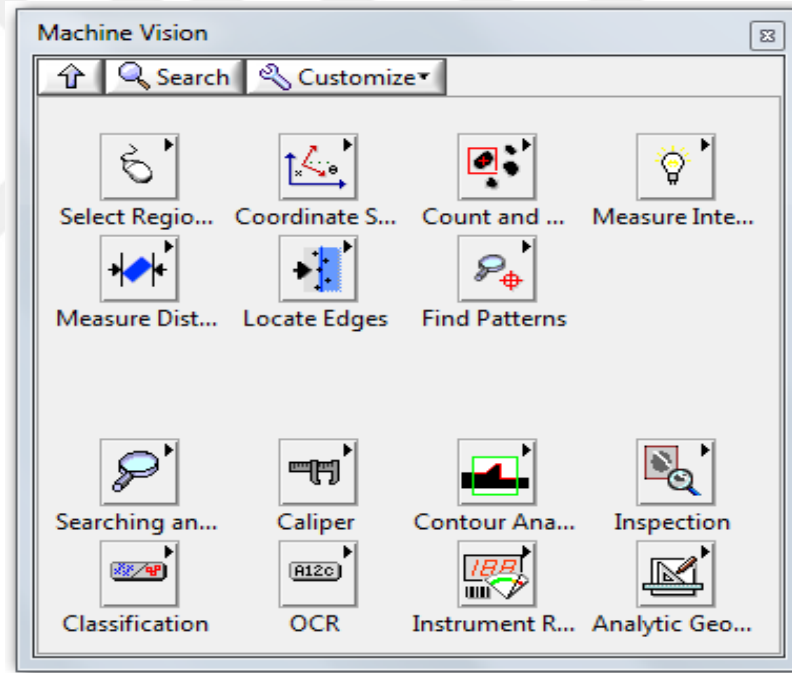
Texture: Vision and Motion → Image Processing → Texture (221).

Metin üzerinde bulunan bozulmaların tespit edildiği ve kenar bulma işlemi gerçekleştirilirken çeşitli wavelet filtresi seçeneklerinin tercih edilebileceği nesneleri içerir (217).

Motion Estimation: İmgedeki hareketin algılandığı nesneleri içermektedir (217).

3.5.10. Machine Vision Nesne Grubunda Bulunan Nesne ve Alt Nesne Grupları

Machine Vision nesne grubunda bulunan nesne grupları ve alt nesne grupları Şekil 4’te sunulmuş, daha sonrasında maddelerle belirtilmiştir (217).



Şekil 18. “Machine Vision” Nesne İçeriği (217).

Select Region Of Interest: Harici bir ekrandan işaretleme yapmak sureti ile ilgi alanın belirlendiği nesneleri içerir (217).

Coordinate System: Bir şablona nazaran imgedeki koordinat sisteminin ana eksen ve benzeri bilgilerin üretildiği nesneleri içerir (217).

Count And Measure Objects: İmge üzerinde bir kontur ihtiva eden her türlü nesneyi tespit eden ve bunların sayısını üreten nesneyi içerir (217).

Measure Intensities: İmgenin belirli bir alanda veya tüm imge üzerinde hücre değerlerinin ortalaması, standart sapma ve benzeri bilgileri üreten nesneleri içerir (217).

Measure Distances: Belirli bir alanda kontur bulma işleminin ardından yatay veya dikeyde en büyük veya en küçük mesafe ayrımının hesaplandığı nesneleri içerir (217).

Locate Edges: Bir imgede bulunan yatay, dikey veya dairesel kenarların bulunduğu nesneler bu gruptadır (217).

Find Patterns: Bir şablonun ölçeklendirme seçeneği olmadan imge dizisi içerisinde eşleştirme işlemine alındığı nesneyi içerir (217).

Searching And Matching: Renkli imgede şablon, renk eşleştirme, nitelik (feature based) ve kenar tabanlı (edge based) şekil eşleştirme işlevlerini yerine getiren gruptur (217).

Caliper: Kenar bulma, kenarlar arası mesafe ölçümü yapma, bir şablonun imgede kaç derece veya radyan yön değiştirmiş olduğunu belirleme gibi işlemlerin yapabileceği nesneleri içerir (217).

Analytic Geometry: İmge üzerinde bir kenarın açısı, noktalar arası mesafe, bir çokgenin alanının hesaplanması, bir daire, hat veya bir elipsin imgede en iyi oranla ifade edildiği eğrilerin bulunması gibi işlevleri yapan nesneleri içerir (217).

Inspection: Bir şablondaki bozulmaların tespit edildiği nesne grubudur (217).

Classification: Sınıflandırma metodu kullanılarak nesne tanıma işleminin yapılabileceği sanal nesneleri içerir (217).

OCR (Optical Character Recognition): Optik karakter tanıma nesneleri vasıtasıyla metin formatına sahip imgeler belirli alanda tanınabilir (217).

Instrument Readers: Ölçü aletlerinin okunabildiği nesneleri içerir (217).



4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 17.05.2017 tarih ve 139 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi(FÜDAM) ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmanın bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)'nin TF.17.29 proje no'lu kararı gereğince karşılanmıştır.

4.1.Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen 10-12 haftalık yetişkin 32 adet Sprague - Dawley türü intak erkek sıçan kullanılmıştır.

Sıçanlar, FÜDAM 'da; sıcaklığı 21 °C ve bağıl nemi sabit tutulan(% 40-55),havalandırılan ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü uygulanan deney hayvanları odalarında tutulmuştur. Fotoperiyot değişimi sabah 07.00'de aydınlık evre olacak şekilde timer ile sağlanmıştır. Tüm gruplarda yer alan sıçanlar standart sıçan kafeslerinde bireysel olarak barınmaları sağlanmıştır. Sıçanların beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikası'nda hazırlanan pelet haldeki özel sıçan yemleri kullanılmıştır. Hayvanların su gereksinimi ise; kafeslerde özel bölümlere yerleştirilen, uç kısımlarında suyu belirli akış debisinde damlatan çeşme suyu ve farklı konsatrasyonlarda (%20 ve %40 konsatrasyonlarda % 55 lik yüksek fruktozlu mısır şurubu ile sağlanmıştır. YFMŞ-55'de fruktoz %55, glikoz %42, diğer şekerler %3 civarındadır.

Tablo 1. Kullanılan Sıçan Yemi İçeriği

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29.4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0.6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0.2
Methionin (%)	0.2
DCP (%) **	1.6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0.8 mg K₃, 0.8 mg B₁, 2.4 mg B₂, 1.2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3.2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0.8 mg I, 0.2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0.2 flor'dan oluşur

4.1.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada, deney hayvanları 4 gruba ayrılmış ve her grupta 8 hayvan yer almıştır. Gruplar oluşturulurken, her grupta yer alan sıçanların ortalama 250 ile 300 gram arasında olmasına dikkat edilmiştir. 10-12 haftalık ve ortalama 250 gram ağırlığında olan 32 adet erkek rastgele ve 4 eşit gruba ayrılmıştır ve 2 hafta boyunca hayvanlara deney protokolleri uygulanmıştır:

1.Grup (Kontrol Grubu): Kontrol grubundaki hayvanlara deney süresi boyunca (2 hafta) , özel sıçan yemi + su verilerek günlük takibi yapılmıştır. Bu hayvanlara aydınlık karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testleri uygulanmıştır.

2.Grup (F20 Grubu): F20 grubundaki hayvanlara deney süresi boyunca özel sıçan yemi + YFMŞ çözeltisi (% 20) su verilerek günlük takibi yapılmıştır. Bu hayvanlara aydınlık karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testleri uygulanmıştır.

3.Grup (F40 Grubu): F40 grubundaki hayvanlara deney süresi boyunca özel sıçan yemi + YFMŞ çözeltisi (% 40) su verilerek günlük takibi yapılmıştır. Bu hayvanlara aydınlık karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testleri uygulanmıştır.

4.Grup (Stres Grubu): Bu gruptaki hayvanlara deney süresi boyunca her gün özel sıçan yemi + su verilmiştir. Hayvanlar her gün 08:00 -14:00 saatleri arasında ilk hafta 3 saat ikinci hafta 6 saat alan sıkıştırma aparatına konularak immobilizasyon stresine maruz bırakılıp, bu hayvanlara aydınlık karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testleri uygulanmıştır. Geliştirilen program aracılığıyla testlerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

4.1.2. Davranış Testleri Analizi

Test verilerin analizi; videolar izlenerek kronometre yardımıyla manuel olarak skorlanmıştır. Ayrıca geliştirilen yazılım aracılığıyla testlerin değerlendirilmesi bilgisayar ortamında otomatik olarak yapılarak manuel skorlama ile karşılaştırılmıştır.

4.1.3. YFMŞ Çözeltisinin Hazırlanışı

Gıda endüstrisinde kullanılan mısır şurubu türü YFMŞ-55 dir. YFMŞ-55’de fruktoz %55, glikoz %42, diğer şekerler %3 civarındadır. YFMŞ-55 oluşturulurken çözelti içeriğinde %55 oranında SIGMA marka %99.5 saflıktaki toz fruktoz ,% 42 oranında MERCK marka toz glikoz kullanılmıştır.%3 oranında da toz haldeki diğer şekerlerden kullanılmıştır. Şekerler saf suda iyice çözdürülerek %100 konsantrasyonda YFMŞ-55 çözeltisi oluşturulmuştur. Oluşturulan bu çözelti içme suyuyla belirli oranlarda karıştırılarak %20 ve % 40

konsantrasyonda çözelti oluşturulmuştur. Çözelti iki günde bir yeniden hazırlanıp buzdolabında saklanmıştır.

4.1.4. Hayvanların Vücut Ağırlığının Takibi

Gruplar oluşturulurken, 2 aylık olan hayvanların vücut ağırlıklarının birbirine yakın ve ortalama 250 gram ağırlığında olmasına dikkat edilmiştir. Tüm gruplarda yer alan sıçanların vücut ağırlıkları deney süresince her gün 14:00 - 15:00 saatleri arasında ölçülerek veriler kayıt altına alınmıştır.

4.1.5. Yem ve Su Tüketiminin Belirlenmesi

Her bir grupta bulunan hayvanların günlük olarak tükettikleri yem ve su ve fruktoz miktarları ayrı ayrı hesaplanarak kaydedilmiştir. Hayvanların 0.günde tükettikleri yem ve sıvı miktarları sıfır olarak değerlendirilmiştir.

0.günden itibaren F20 ve F40 grubunda bulunan hayvanlara günlük olarak beslenmesi için 50 gram normal yem ve 100 ml yfmş çözeltisi verilmiştir. Stres ve kontrol grubunda bulunan hayvanlara da beslenmesi için 50 gram normal yem ve 100 ml çeşme suyu verilmiştir. Böylece 1.günde bir günlük iken tüketilen yem, sıvı miktarları belirlenebilmiştir. Bu işlemler, deney sonlanacağı gün de dahil olmak üzere 2 hafta boyunca her gün saat 14:00 – 15:00 arasında ölçülerek kaydedilmiştir.

4.2. Stres Modelleri

Literatürde, sıklıkla kullanılan stres modellerinin başlıklar şeklindeki açıklaması aşağıda belirtilmiştir.

4.2.1. Kronik İmmobilizasyon Stresi

Kronik immobilizasyon stresi, deney hayvanının immobil halde tutulmasına neden olan tel, pleksiglas vb. maddelerden yapılmış kafeslere hayvanların belirli aralıklarla, gün içinde belirli sürelerde konulmaları ile oluşturulur (222).

Çalışmamızda pleksiglas malzemeden yapılan çapı 7 cm ve 13 cm yüksekliğinde silindir şeklinde sıkıştırma aparatları kullanılmıştır. Stres grubundaki deney hayvanları her gün 08:00-14:00 saatleri arasında ilk hafta 3 saat, ikinci hafta 6 saat olmak üzere kronik immobilizasyon stresine maruz bırakılmıştır (222).



Şekil 19. Kısıtlama Aparatında Stres Uygulaması.

4.3. Davranış Testleri

YFMS'nin davranışsal etkilerini incelemek ve bu etkinin kronik immobilité stresi uygulanmış hayvanlarla kıyaslamak amacıyla tüm gruplara çalışmanın

10.gününden itibaren 3 davranış testi uygulanmıştır. Her davranış testi arasında etkilenme olmaması için 1'er gün ara verilerek, anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla aydınlık karanlık testi, açık-alan testi uygulanırken, depresyonu test etmek amacıyla da kuyruktan asma testleri uygulanmıştır.

Tablo 2. Davranış Test Programı

Günler	Davranış Testleri
9. gün	Aydınlık – Karanlık Testi
11. gün	Açık Alan Testi
13. gün	Kuyruktan Asma Testi

4.3.1. Kuyruktan Asma Testi

Kuyruktan asma testi, depresyon benzeri davranışların ölçümünün belirlenmesinde büyük oranda tercih edilen bir stres modelidir.

Bu test ilk olarak Steru ve ark. tarafınca antidepresan türündeki ilaçların etkinliğini test etmek ve incelemek amaçlı uygulanmıştır (223). 6 dk lık zaman sürecinde uygulanan test, 'ajitasyon' ve 'immobilite' olmak üzere 2 periyotta uygulanan bu test yönteminde sıçan kuyruğundan düzeneğe asılarak aktif harekete karşı immobilite süresi belirlenmeye çalışılır. Çalışmamızda her bir sıçan kuyruk kısmından 20 cm uzunluğundaki bant vasıtasıyla hazırlanan düzeneğe (yüksekliği 50 cm, metal çubuk) asılmak suretiyle 6 dk süre boyunca yaptığı çırpınma ve immobilite süresi kayıt altına alınmıştır (224). Normal süreçte sıçanlar bulundukları bu stresli durumdan kurtulma ve metal çubuğa tırmanma

girişiminde bulunurlar. Bir müddet sonra sıçanda içinde bulunduğu durumdan kurtulma ile ilgili ümitsizlik meydana gelir ve sıçan çırpınma hareketini bırakarak hareketsiz bir şekilde (immobilizasyon) asılı halde kalırlar. Hareketsiz kaldığı an “umutsuzluk” olarak yorumlanmaktadır. Sıçanın “umutsuzluk” olarak isimlendirilen immobilité süresi belirlenir (225, 226). Bu süre depresyon benzeri davranış göstergesi olarak değerlendirilir (227).



Şekil 20. Kuyruktan Asma Testi uygulaması.

4.3.2. Açık Alan Testi

Açık alan testi, lokomotor aktivitenin ve anksiyete kaynaklı davranışları değerlendiren bir davranış testi olup ilk çalışma Hall tarafından 1934 yılında ratlardaki duygusallığı değerlendirmek amacıyla kullanılmaya başlamıştır (228-230). Prosedürde bir kemirgenin kullanıldığı ve daha önce bilmediği bir çevre ve hayvanın kaçmasını önleyen yükseklikte duvarlarla çevrili bir sistemden

faydalanılmıştır (231). Günümüzde açık alan testi hayvan psikolojisini değerlendirmek amacıyla kullanılan popüler prosedürlerinden biridir (232). Açık alan testinde kullanılan düzeneğin şekli (kare, daire, dikdörtgen), ışıklandırması (ışık düzeneğin üstünde veya şeffaf zemin altında, kırmızı ışık), düzenek içerisinde tünel, kolon, platformların bulunabildiği farklı versiyonları da kullanılabilmektedir (233). Açık alan testinde deney hayvanı düzeneğin merkezine konularak 2 ile 20 dk süre aralığında (genellikle 5 dk) geçtiği kare sayısı (horizontal hareketlilik), grooming hareketleri ve şaşlanma frekansı (vertikal hareketlilik) değerlendirilmektedir (229). Bu test türünde anksiyetik davranışı 2 etken tetikler: birinci etken olarak hayvanı bulunduğu sosyal grubundan ayırarak bireysel olarak teste tabi tutmak, ikincisi ise agorafobidir (açık alan korkusu, hayvanın habitatına kıyasla daha büyük bir alana konulduğunda yaşadığı korku durumudur). Lokomotor hareketlerde artış, santral bölgede geçirilen zamanda artış ve dikey hareketlilikte artış, anksiyolitik benzeri etki olarak yorumlanırken bunun tam tersi yani bu değişkenlerde azalma anksiyojenik etki olarak tanımlanmaktadır (229). Alanın kendi kafesinden daha geniş olması kaçınma davranışına sebep olarak, lokomotor ve araştırmacı davranışların değerlendirilmesine imkan tanımaktadır (234).

Çalışmamızda açık alan testinde kullanılan aparat kare şeklinde olup 60 w değerinde ampul vasıtasıyla 1 m yükseklikte asılan ışık kaynağıyla aydınlatılmıştır. Aparat 9' u merkezde, 16' sı periferde olmak üzere toplam 25 kareden oluşan pleksiglass beyaz duvarlarla çevrili 80 cm eninde kare bir alettir. Hayvanlar tek tek merkezde bulunan kareye bırakılmış, hemen sonrasında video kaydı yapılmıştır. 10 dk süresince yapılan kayıta 2 temel

parametre değerlendirilmiştir: 1.toplam geçtiği kare sayısı (horizontal aktivite), 2. şahlanma sayısı (vertikal aktivite).

Hayvanın toplamda geçtiği kare sayısı lokomotor aktiviteyi belirleyen parametrelerdendir. “Lokomotor aktivite” konum değişimini ifade etmek için kullanılır. Yeni bir ortamı keşfetmek amaçlı aktivite olan şahlanma; hayvanın alt ekstremiteleri üzerinde durmak suretiyle üst ekstremitelerini havaya kaldırdığı, ya da duvara yasladığı durumdur. Her hayvandan sonra açık alan düzeneği % 70 alkol ile temizlenerek dezanfekte edilmiştir.



Şekil 21. Açık Alan Testi Uygulaması.

4.3.3. Aydınlık-Karanlık Testi

Bu testi ilk defa 1980 yılında Crawley ve Goodwin kemirgenlerde bazı ilaçların anksiyolitik etkilerinin göstergesi olan araştırıcı davranışları değerlendirmek için kullanmıştır (235). Bu araştırmacılar tüm düzeneğin üçte biri

karanlık, üçte ikisi aydınlık alan olmak üzere 2 kısımdan oluşan bir düzenek kullanmışlardır. Bu teste, güvenli olan yerler küçük karanlık bölümlerdir ve kaçınılan bölümler ise büyük aydınlatılmış yerlerdir. Hayvanların her bir bölümde geçirdikleri süre ve 2 bölme arasında geçiş sayıları değerlendirmeye alınmıştır (236). Günümüzde bu testin çok farklı şekillerde uygulamaları yapılmaktadır. Riebe ve Wotjak bu testi anksiyete davranışını değerlendirmede kullanmışlardır (237). Aydınlık karanlık testi, parlak ışık kaynağıyla aydınlatılmış alandan kaçınma ve içgüdüsel anksiyete davranışı ile birlikte, yeni ortam, ışık gibi orta düzey stresörlere karşı kemirgenler tarafından spontan araştırmacı davranışına dayanan bir davranış testi yöntemidir (235). Hayvanların tanımadığı bir ortamda veya bir nesneyle ilk defa karşılaştığında meydana gelen doğal bir çatışma davranışdır. Bu çatışma; keşfetme davranışı ile yabancı ortamdaki kaçma davranışı arasında kalınması yoluyla oluşur (neofobi) (238). Aydınlık kısımda geçirilen süre ve aydınlık tarafa geçiş sayısında artış anksiyolitik davranış olarak adlandırılırken bu değerler meydana gelen azalma anksiyetik davranışların göstergesidir (238). Bu test hayvanlarda deneyime gereksinim duyulmadığından dolayı ve kullanımının kolay olması yönüyle avantajlı bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (235).

Çalışmamızda aydınlık karanlık test düzeneği olarak bir tarafı siyah diğer tarafı şeffaf pleksiglass malzemeden yapılmış 2 eşit alanlı bölmeden oluşan bir düzenek biçimi kullanılmıştır (239, 240). 2 kısım arasındaki tabakada hayvanların geçişine olanak sağlayan büyüklükte bir açık kısım oluşturulup, karanlık taraf üzerinde siyah renkte pleksiglas malzemeden yapılan kapak bulunurken aydınlık tarafı aydınlatmada lamba kullanılmıştır (241). Deneyin başlangıcında, hayvan

aydınlık kısma doğru yüzü açıklığa bakmayacak biçimde yerleştirilerek 5 dk süresince düzeneği keşfetmesi için bırakılıp, bir bölmeye geçiş için temel şart; hayvanın 4 ayağının da oraya geçmesi olarak belirlenmiştir. Bu süreçte, aydınlık taraftan karanlığa geçiş sayısı ve her iki tarafta da geçirilen süre bir kamera yardımıyla kayda alınmıştır. Farklı hayvanlar atılacağı zaman aydınlık ve karanlık taraflar % 70 alkol ile temizlenmiştir (242).



Şekil 22. Aydınlık Karanlık Testi Uygulaması.

4.4. Cerrahi İşlemler

Cerrahi işlemlere başlamadan önce hayvanlar giyotin kullanılmak suretiyle dekapitasyon işlemine tabi tutulmuştur. Dekapitasyonu takiben hayvanların kafaları alınarak, oksipito-frontal yönde her iki paryeto- temporal sütür hatları boyunca kemik dokuları kesilip, künt diseksiyonla hassas bir şekilde beyin dokusu hızlıca çıkarılmıştır. Ayrıca bu işlem sürecinde her hayvandan Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve otoanalizörle analiz işlemi için 4-5 mL kadar

kan alınmıştır. Daha sonra hayvanların dokuları çıkarılıp, ayrı ayrı tartılarak kaydedilmiştir. Ardından bu dokuların fiksasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

4.4.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Yapılacak Analizler

ELISA için, aprotinin içeren tüplere (BD, A.B.D) her bir hayvandan yaklaşık 4-5 mL kan alınmıştır. Daha sonra alınan kanlar 4.000 rpm hızda 5 dakika santrifüj (Hettich, Almanya) edilmiştir. Üstte kalan serum kısmı; her bir ependorf tüpe yaklaşık 200 µL içerecek şekilde ayrılmış ve -20 °C’de ELISA yapılana kadar muhafaza edilmiştir. Elde edilen serumlardan biyokimyasal parametreler (kolesterol, trigliserid, glikoz, HDL, LDL, VLDL) araştırma hastanesi merkezi labaratuvarından hizmet alımı yapılarak oto analizör aracılığıyla analizleri yapılmıştır. Toplanan serum örneklerinden ELISA yöntemiyle kortikosteron, insülin hormonlarının analizleri gerçekleştirilmiştir. Oksidatif stress parametreleri (TAS, TOS) ticari kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

4.4.1.1. ELISA Yöntemi

ELISA yöntemi antijen veya antikor taraması için kullanılmakta olan serolojik testlerdendir. Bu yöntem, özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermek için enzim ile işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak renk oluşumu esasına dayanan test yöntemidir. Elimizde özgün olduğu şeyi bildiğimiz antijen ile örnekler içeriğindeki antikor, tipini ve miktarını belirleyebiliriz. Eğer elimizde antikor var ise antikora özgü olan antijeni ve miktarını ölçebiliriz. Farklı ELISA yöntemleri mevcut olmakla birlikte, tez çalışması kapsamında indirekt mikro ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Serum insülin düzeyleri, rat insülin ELISA kiti (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., katalog no: ER1113, China) kullanılarak, kit kullanım klavuzuna uygun şekilde çalışılmıştır. Absorbanslar ELx800 ELISA okuyucusunda (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutularak Plate yıkamalarında ise Bio-tek ELx50 otomatik yıkayıcı kullanılmıştır. Test sonuçları pg/ml olarak hesaplanıp; ng/ml'ye çevrilmiştir. Kit sensitivitesi: <46.875 pg/ml, ölçüm aralığı: 78.125-5000 pg/ml olarak belirlenmiştir.

Serum kortikosteron düzeyleri, rat kortikosteron ELISA kiti (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., katalog no: ER0859, China) kullanılarak, kit kullanım klavuzuna uygun şekilde çalışılmıştır. Absorbanslar ELx800 ELISA okuyucusunda (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutularak, plate yıkamalarında ise Bio-tek ELx50 otomatik yıkayıcı kullanılmıştır. Test sonuçları 1:10 dilüsyon nedeniyle 10 ile çarpılarak; ng/ml olarak verilmiştir. Kit sensitivitesi: <1.688 ng/ml, ölçüm aralığı: 2.81-180 pg/ml olarak belirlenmiştir.

Biyokimyasal parametrelerden serumda glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol düzeyleri Advia 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, USA) otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. VLDL-kolesterol düzeyleri ise yine aynı otoanalizörde hesaplama ile elde edilmiştir (243).

Serum Total Oksidan Durum (Total Oxidant Status - TOS) ve Total Antioksidan Durum (Total Antioxidant Status - TAS) düzeyleri Erel (244, 245) tarafından geliştirilen otomatik kolorimetrik metodlar ile Advia 2400 (Siemens

Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, USA) otoanalizöründe ticari kitler (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Turkey) kullanılarak ölçülmüştür. TOS ölçümünün prensibi numunedeki oksidan moleküller tarafından ferröz iyon-o-dianisidin kompleksinin ferrik iyonla oksidasyonuna dayanmaktadır. Ferrik iyonun asidik ortamda oluşturduğu renkli kompleksin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ olarak belirtilmiştir.

TAS ölçüm metodunun prensibi koyu mavi-yeşil renkli ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radikalinin numunedeki antioksidan moleküller tarafından renksiz ABTS formuna dönüşümü sırasındaki absorbans değişiminin tespitine dayanmaktadır. Ölçüm kalibrasyonu suda çözünen bir E Vitamini analogu olan Trolox ile yapılarak sonuçlar $\text{mmol Trolox Equiv./L}$ olarak belirtilmiştir.

Oksidatif Stres İndeksi (OSI); TOS düzeylerinin TAS düzeylerine oranı ile aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{OSI (Arbitrary Unit)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) / (\text{TAS (mmol Trolox Equiv./L)} \times 10).$$

4.5. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 4–6 μm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alınmıştır. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatılarak. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek

için hidrojen peroksit blok solusyonu ile 5 dakika inkübe edilmiştir. (Hydrogen Peroxide Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue primer antikor ((Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738 Abcam, Cambridge, UK) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edilmiştir. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikorlar (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edilmiştir. Dokular, Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içersine alınmış daha sonra dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskobunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alınmıştır. Negatif kontrol için Rabbit IgG kullanılmıştır. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskobunda incelenerek değerlendirilmiş ve fotoğraflanmıştır(Leica DFC295).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta,

+3:şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturulmuştur. Histoskor= yaygınlık x şiddet

4.6. LabVIEW ile Görüntü işleme

LabVIEW ile görüntü işlemek için LabVIEW programının 2016 sürümü kullanılmıştır. Vision Development Modüle ve Vision Acquisition Software eklentileri kullanılarak görüntü işleme yazılımı geliştirilmiştir. Yazılım geliştirmek için kullanılan bilgisayar CORE İ7 işlemci, 8 GB ram ve 4 GB ekran kartına sahiptir. Kurulu işletim sistemi Windows 10 dur. Davranış testlerini kaydetmek için kullanılan kameralar Haikon Ds-2cd2420f-iw markadır. Çekilen videolar “avi” formatına çevrilerek programa eklenmiştir. “avi” formatına çevrilen videoların geliştirilen yazılım aracılığıyla değerlendirmesi yapılmıştır. Videolar programa ilaveten uzman kişiler tarafından da değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu sayede elde edilen sonuçlar ile program sonuçlarının karşılaştırılması yapılarak programın güvenilirliği ve doğruluğu test edilmiştir.

4.7. İstatistiksel Analiz

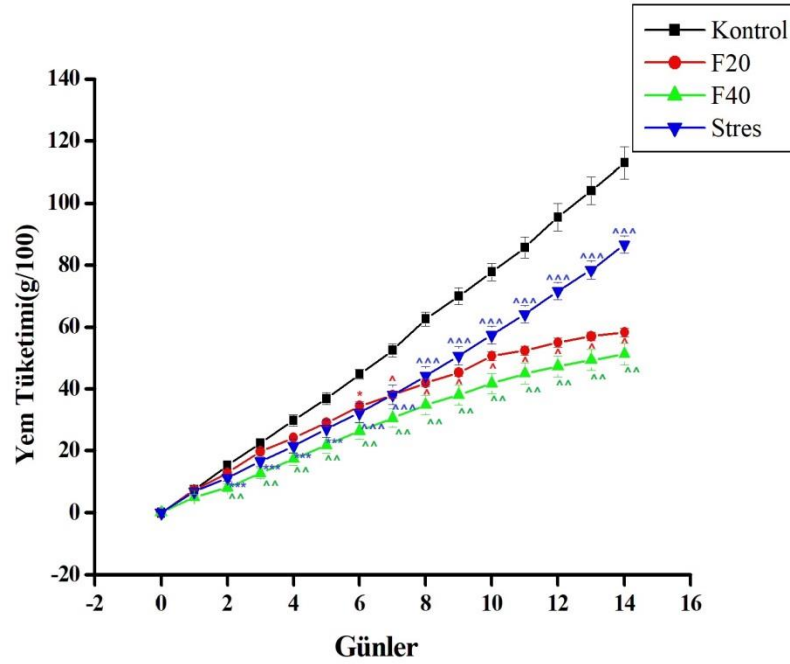
Çalışma sonuçları istatistiksel açıdan değerlendirmek için SPSS 23.0 for Windows programı kullanılmıştır. Veriler, ortalama $\pm$ standart hata (ort $\pm$ SH) değerleri ile belirtilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi ve gruplar arasındaki farklılıkları belirtmede tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc Tukey testlerinden yararlanılmıştır. İki ölçüm yöntemi arasındaki uyum analizleri ise Bland-Altman analizi ile yapılmıştır. Tüm analizlerde, p değerinin 0.05’den az olduğu durumlar için anlamlıdır şeklinde ifade edilmiştir.

5. BULGULAR

5.1. Gıda Alımı ve Vücut Ağırlık Değişimine İlişkin Veriler

Kontrol, stres, F20 ve F40 grubundaki hayvanların yem tüketimleri, sıvı tüketimleri ve canlı ağırlıkları günlük olarak yapılan ölçümle belirlenmiştir.

Günlük yem tüketimi yönünden karşılaştırıldığında; deney süresi boyunca kontrol grubuyla F40 ve stres grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p<0.01$), kontrol grubuyla F20 grubu arasında 6.günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0.01$).



Şekil 23. Yem Tüketimi.

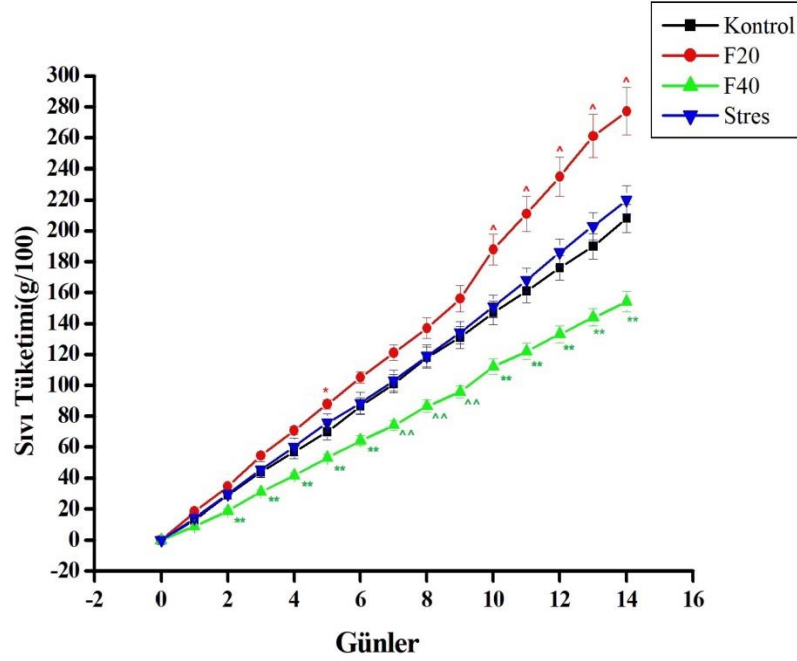
* : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$

^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

^^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

^^^ : Kontrol grubuyla stres grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

Günlük sıvı tüketimi yönünden karşılaştırıldığında; deney süresi boyunca kontrol grubuyla F40 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p<0.05$), kontrol grubuyla F20 grubu arasında 9.günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0.01$). Kontrol grubuyla stres grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır.



Şekil 24. Sıvı Tüketimi.

* : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$

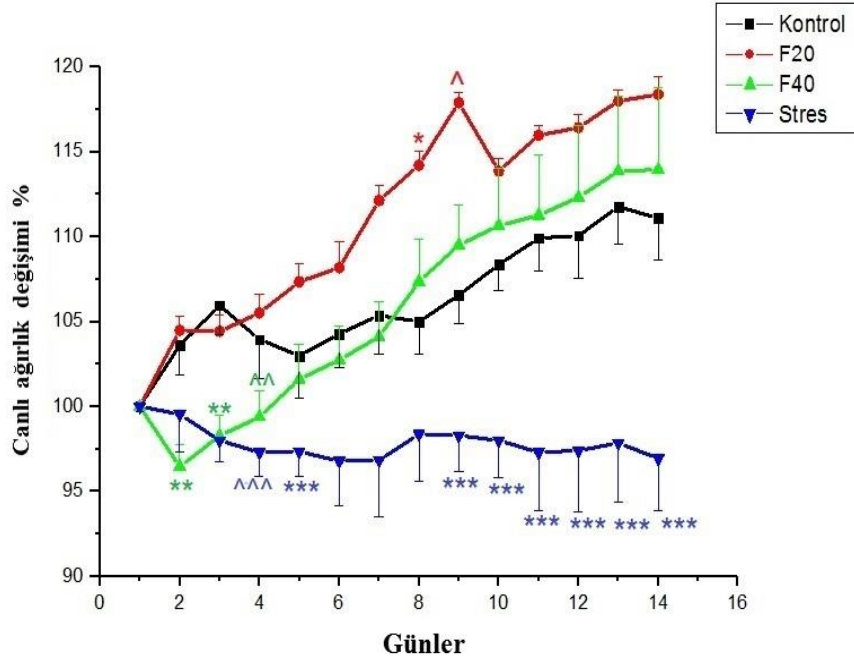
** : Kontrol grubuyla F40 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$

^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

^^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

Canlı ağırlık değişimi yönünden değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla F20 ve F40 grubunda artış görülürken, bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Stres grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak

anlamli bir azalma görülmüstür ($p<0.01$). Genel olarak, stresin canli ağırlığında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (şekil 25).



şekil 25. Canli Ağırlık Değişimi.

- * : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$
- ** : Kontrol grubuyla F40 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$
- *** : Kontrol grubuyla stres grubu karşılaştırıldığında, $P<0.05$
- ^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$
- ^^ : Kontrol grubuyla F20 grubu karşılaştırıldığında, $P<0.01$

5.2. Doku Ağırlıkları

Tüm gruplardaki hayvanların doku ağırlıkları değerlendirildiğinde; stres grubu hayvanları diğer gruplarla karşılaştırıldığında testis ağırlıklarında istatistik olarak anlamli düzeyde azalma meydana geldiği görülmüştür ($p<0.01$). Ayrıca F20 grubunun karaciğer ağırlığında stres grubuna oranla istatistiksel olarak anlamli düzeyde artış görülmüştür ($p<0.01$). Diğer doku ağırlıklarında ise istatistiksel olarak anlamli değişiklik g r lmemiştir.

Tablo 3. Doku Ağırlıkları

Dokular	Kontrol	F20	F40	Stres
Beyin	2,25 ±0,38	1,94±0,02	1,86±0,03	1,87±0,09
Testisler	1,28±0,06 ^{**b}	1,31±0,07 ^{**b}	1,34±0,11 ^{**b}	0,78±0,12 ^{**a}
Böbrek	2,03±0,09	2,02±0,06	1,95±0,07	1,79±0,06
Karaciğer	9,40±0,51	10,96±0,54 ^{**b}	9,26±0,43	8,28±0,60

Grupların Ortalama Doku Ağırlıkları

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

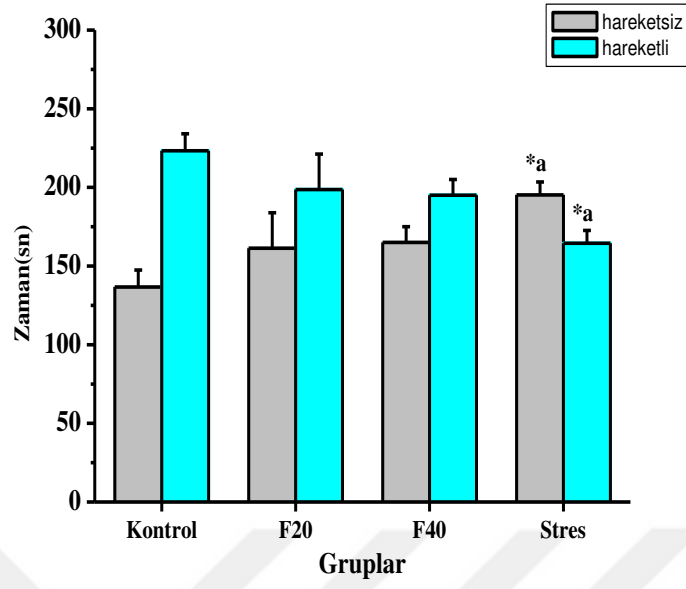
5.3. Kuyruktan Asma Test Sonuçları

Kuyruktan asma testinde depresyon belirteci olan immobilité süresi stres grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür (p<0.05). F20 ve F40 gruplarında da immobilité süresi kontrol grubuna kıyasla artış gösterirken bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı görülmüştür.

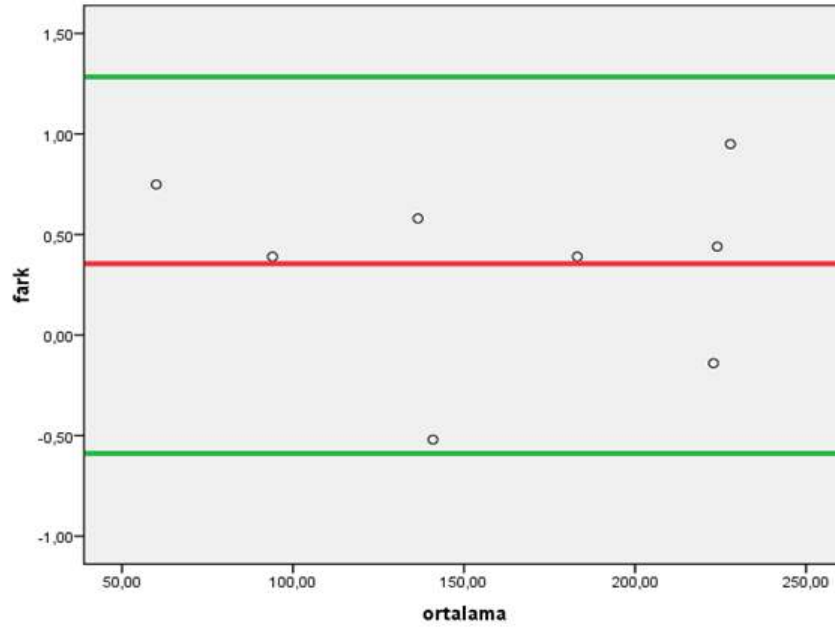
Tablo 4. Kuyruktan Asma Testi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Hareketli Süre (sn)	Hareketsiz Süre (sn)
Kontrol	223,32±10,81	136,68 ±10,81
F20	198,65±22,53	161,35 ±22,53
F40	195,01±10,02	164,99 ±10,02
Stres	164,50±8,19 ^{*a}	195,50 ±8,19 ^{*a}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, *: P<0.05



Şekil 26. Kuyruktan Asma Testi.



Şekil 27. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.

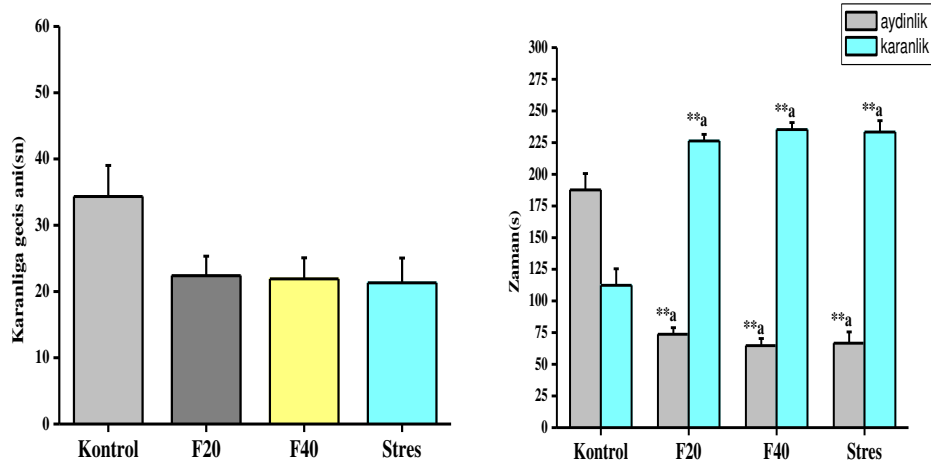
5.4. Aydınlık-Karanlık Test Sonuçları

Anksiyete durumunu belirteci olarak kullanılan aydınlık karanlık testinde karanlıkta kalma süresi grubundaki hayvanların karanlıkta kalma süresi F20, F40 ve stres gruplarında kontrol grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (Tablo 5). YFMSŞ çözeltisi, anksiyetenin bir belirteci olan karanlıkta kalma süresinde artmaya yol açtığı gözlenmiştir ($p<0.01$). Karanlığa ilk geçiş zamanı değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir.

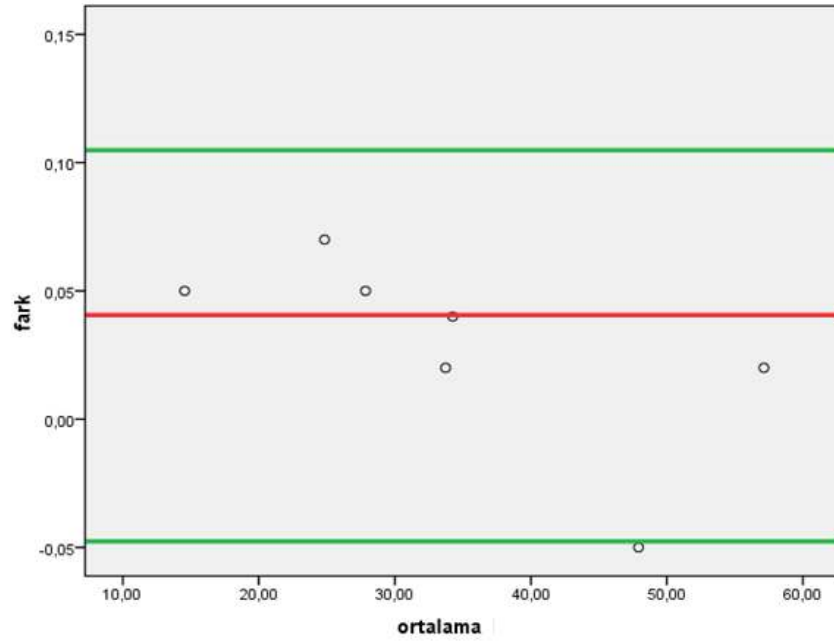
Tablo 5. Aydınlık-Karanlık Testi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Aydınlıkta Kalma Süresi (sn)	Karanlıkta Kalma Süresi (sn)	Aydınlıktan Karanlığa Geçiş Sayısı
Kontrol	187,63 $\pm$ 12,99	112,37 $\pm$ 12,99	34,21 $\pm$ 4,68
F20	73,69 $\pm$ 5,18 ^{**a}	226,31 $\pm$ 5,18 ^{**a}	22,37 $\pm$ 2,94
F40	64,76 $\pm$ 5,57 ^{**a}	235,24 $\pm$ 5,57 ^{**a}	21,90 $\pm$ 3,17
Stres	66,65 $\pm$ 8,94 ^{**a}	233,35 $\pm$ 8,94 ^{**a}	21,31 $\pm$ 3,72

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$



Şekil 28. Aydınlık Karanlık Testi.



Şekil 29. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.

5.5. Açık Alan Test Sonuçları

Lokomotor aktivitenin dolaylı ölçümü olan açık alan testinde, stres grubunda geçilen çizgi sayısı diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak

anlamli düzeyde azalma göstermiştir (p<0.01). F20 ve F40 gruplarında geçilen çizgi sayısı kontrol grubuna kıyasla azalma gösterirken bu azalma istatistiksel olarak anlamli düzeyde değildir. F20 ve F40 gruplarında geçilen çizgi sayısı stres grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamli bir farklılık görölmüştür (p<0.01).

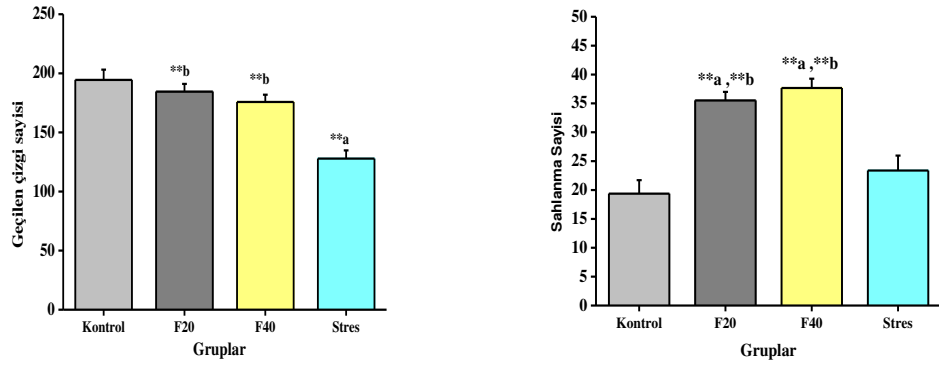
F20 ve F40 gruplarında gözlenen şahlanma sayısı kontrol ve stres gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamli düzeyde artış göstermiştir (p<0.01). Stres grubundaki şahlanma sayısı kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamli bir farklılık görölmemiştir.

Tablo 6. Açık Alan Testi (n=8 her bir grup için)

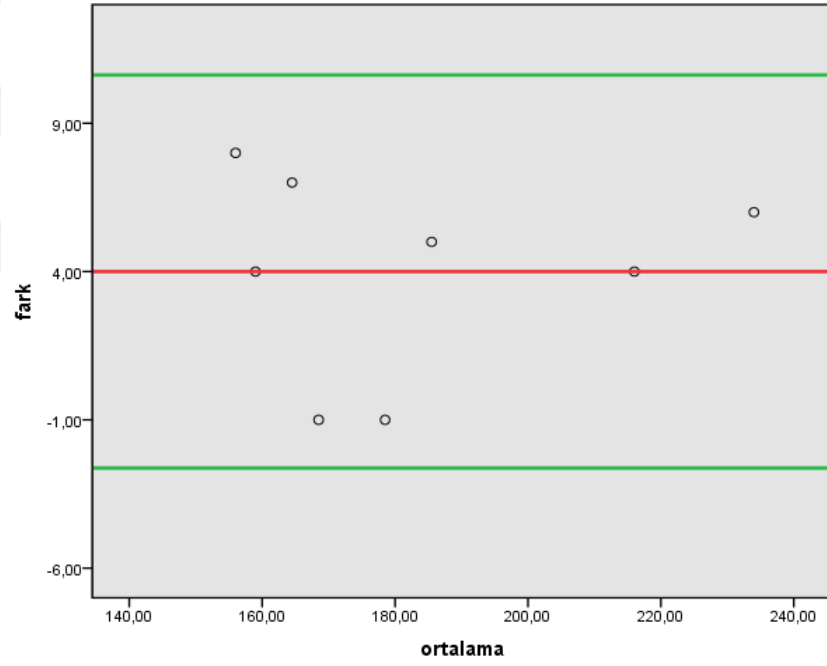
Gruplar	Geçilen izgi Sayısı	şahlanma Sayısı
Kontrol	194,40 ±8,68	19,37 ±2,32
F20	184,50 ±6,52 ^{**b}	35,50±1,49 ^{**a, **b}
F40	175,75 ±6,13 ^{**b}	37,66 ±1,61 ^{**a, **b}
Stres	127,83 ±6,95 ^{**a}	23,37 ± 2,58

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01



Şekil 30. Açık Alan Testi



Şekil 31. Program ve uzman gözle ölçüm sonuçlarının ortalamaya karşı fark değerlerine ait saçılım grafiği.

5.5. Biyokimya Sonuçları

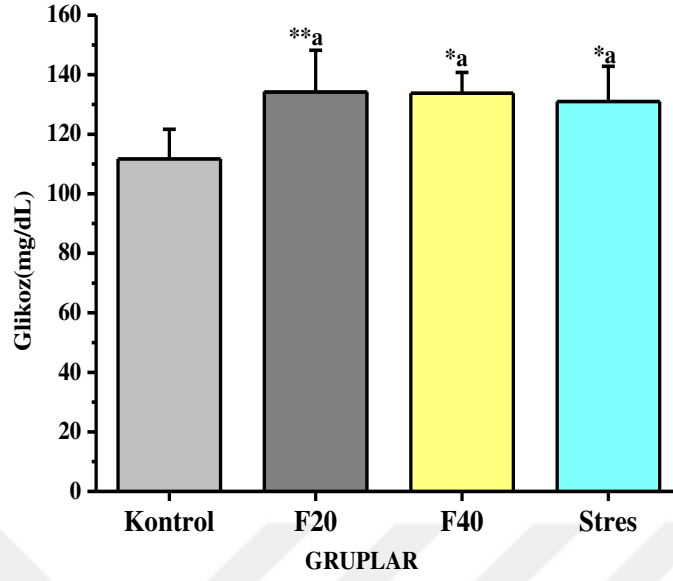
5.5.1. Serum Glikoz Düzeyleri

Glikoz düzeyleri, F20 grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). F40 ve stres gruplarının glikoz düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). F20, F40 ve stres gruplarının glikoz düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

Tablo 7. Serum Glikoz Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Glikoz(mg/dl)
Kontrol	111,71±3,75
F20	134,142±5,31 ^{**a}
F40	133,80±3,12 ^{*a}
Stres	131,00±4,46 ^{*a}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$



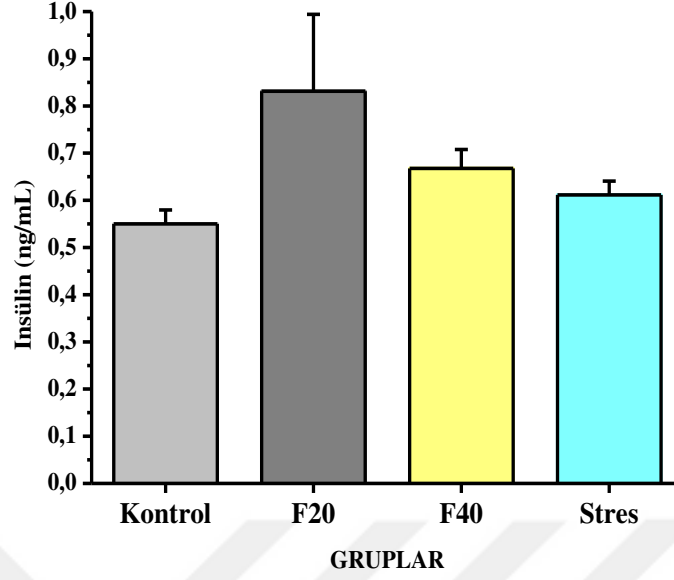
Şekil 32. Serum Glikoz Düzeyi

5.5.2. Serum İnsülin Düzeyleri

Kontrol, F20, F40 ve stres grupları kendi aralarında kıyaslandığında İnsülin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

Tablo 8. Serum İnsülin Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	İnsülin(ng/ml)
Kontrol	0,54± 0,02
F20	0,83± 0,16
F40	0,66±0,04
Stres	0,61± 0,02



Şekil 33. Serum İnsülin Düzeyi

5.5.3. Serum Kortikosteron Düzeyleri

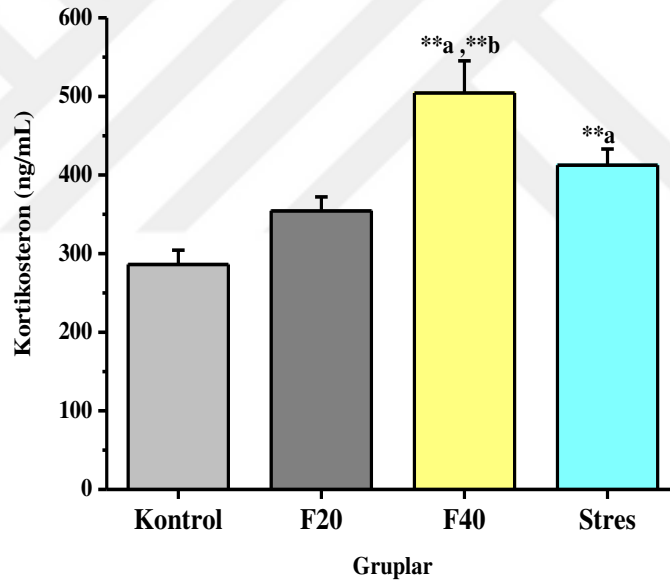
F40 ve stres gruplarının kortikosteron değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,01$). F20 grubunun kortikosteron değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. F40 grubu ile F20 grubunun kortikosteron değeri karşılaştırıldığında F40 grubunun kortikosteron değeri F20 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,01$).

Tablo 9. Serum Kortikosteron Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Kortikosteron(ng/ml)
Kontrol	286,17±18,20
F20	354,27±17,91
F40	504,29±40,96 ^{**a, **b}
Stres	412,51±20,60 ^{**a}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01



Şekil 34. Serum Kortikosteron Düzeyi

5.5.4. Serum Trigliserit Düzeyleri

Trigliserit, F20 ve F40 gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (p<0,01).

Stres grubunun trigliserit düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış görülmüştür fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir.

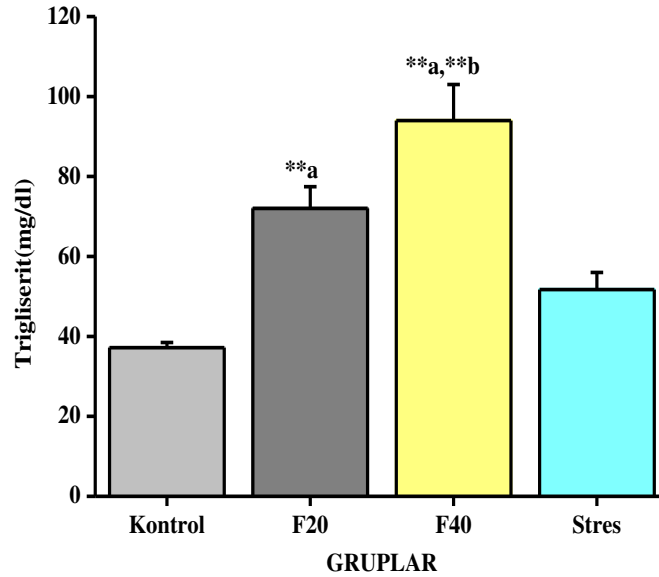
F40 grubunun trigliserit düzeyinde stres grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür ($p<0,01$).

Tablo 10. Serum Trigliserit Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Trigliserit(mg/dL)
Kontrol	$37,16 \pm 1,30$
F20	$72 \pm 5,45^{**a}$
F40	$94 \pm 9^{**a, **b}$
Stres	$51,71 \pm 4,29$

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$



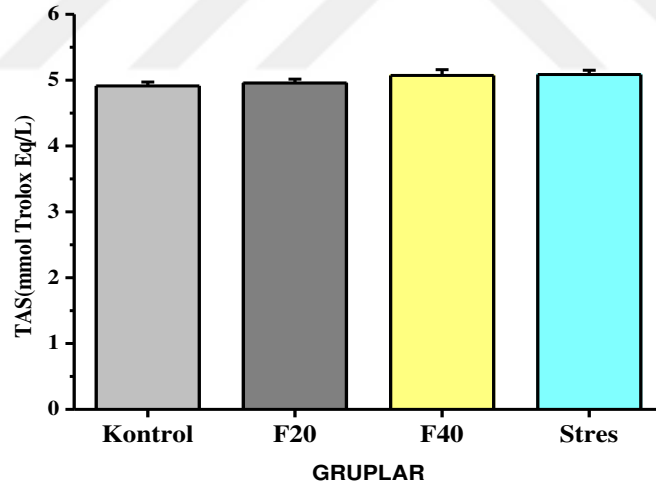
Şekil 35. Serum Trigliserit Düzeyi

5.5.5. Serum TAS Düzeyleri

F20, F40 ve stres gruplarının TAS düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

Tablo 11. Serum TAS Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	TAS(mmol Trolox Eq/L)
Kontrol	4,91 ± 0,06
F20	4,95 ± 0,06
F40	5,07 ± 0,08
Stres	5,08 ± 0,06



Şekil 36. Serum TAS Düzeyi

5.5.6. Serum TOS Düzeyleri

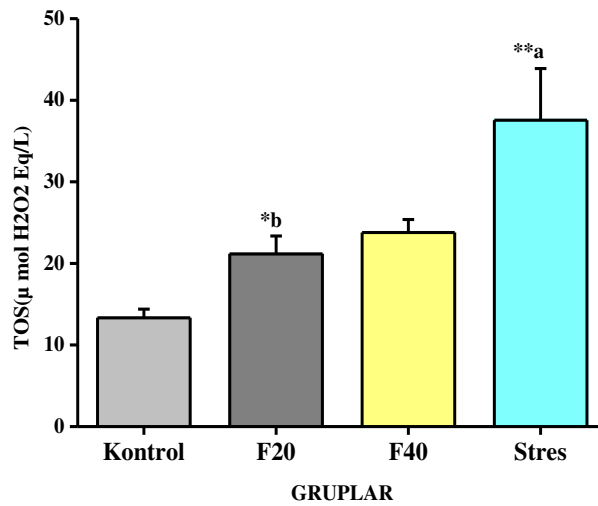
TOS düzeyleri, stres grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). F20, F40 gruplarının TOS düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış görülürken bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. F20 grubunun TOS düzeyi stres grubuyla karşılaştırıldığında istatistikse olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 12. Serum TOS Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	TOS($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)
Kontrol	13,32 $\pm$ 1,07
F20	21,15 $\pm$ 2,20 ^{*b}
F40	23,79 $\pm$ 1,59
Stres	37,55 $\pm$ 6,33 ^{**a}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, *: $P<0.05$



Şekil 37. Serum TOS Düzeyi

5.5.7. Serum OSI Düzeyleri

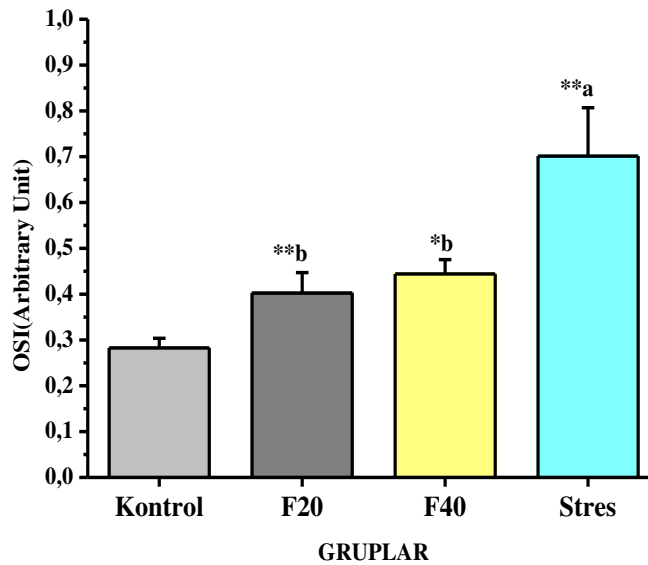
OSi düzeyleri, stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,01$). F20, F40 gruplarının OSI düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. F20 ve F40 gruplarının OSI değeri stres grubunda grubu ile kıyaslandığında F20 ile çok anlamlı ($p<0.01$), F40 ile anlamlı ($p<0.05$) farklılık görülmüştür.

Tablo 15. Serum OSI Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	OSI(Arbitrary Unit)
Kontrol	$0,28 \pm 0,02$
F20	$0,40 \pm 0,04^{**b}$
F40	$0,44 \pm 0,03^{*b}$
Stres	$0,70 \pm 0,10^{**a}$

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$



Şekil 38. Serum OSI Düzeyi

5.5.8. Serum Total Kolesterol Düzeyleri

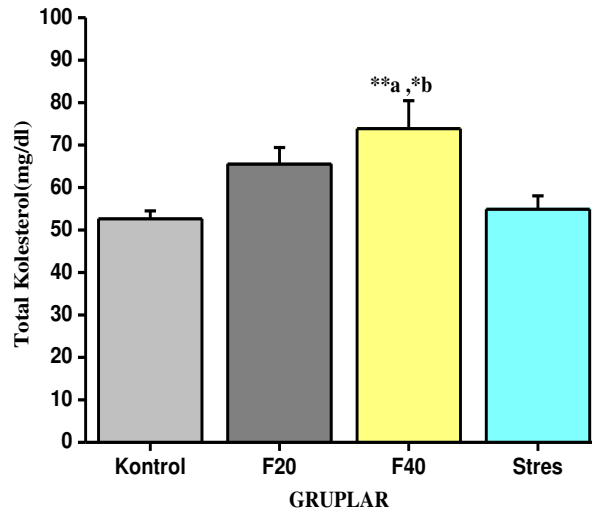
Total Kolesterol düzeyleri, F40 grubunda kontrol ve stres gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.01$). F20 ve stres gruplarının total kolesterol düzeyleri kontrol grubuyla kıyaslandığında artış gözlenmiştir fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir.

Tablo 16. Serum Total Kolesterol Düzeyi (n=8 her bir grup için)

Gruplar	Total Kolesterol(mg/dl)
Kontrol	52,62±1,87
F20	65,5±3,93
F40	73,87±6,57 **a, *b
Stres	54,87±3,16

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: $P<0.01$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, *: $P<0.05$



Şekil 39. Serum Total Kolesterol Düzeyi

5.5.9. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri

Serum LDL düzeyi F20 ve F40 gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.01$). Stres grubunun LDL düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artış gösterirken bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. F40 grubunun LDL düzeyi stres grubuyla karşılaştırıldığında İstatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.01$).

F20, F40 ve stres gruplarının HDL düzeyi kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kontrol, F20, F40 ve stres gruplarının HDL düzeyleri kendi aralarında kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

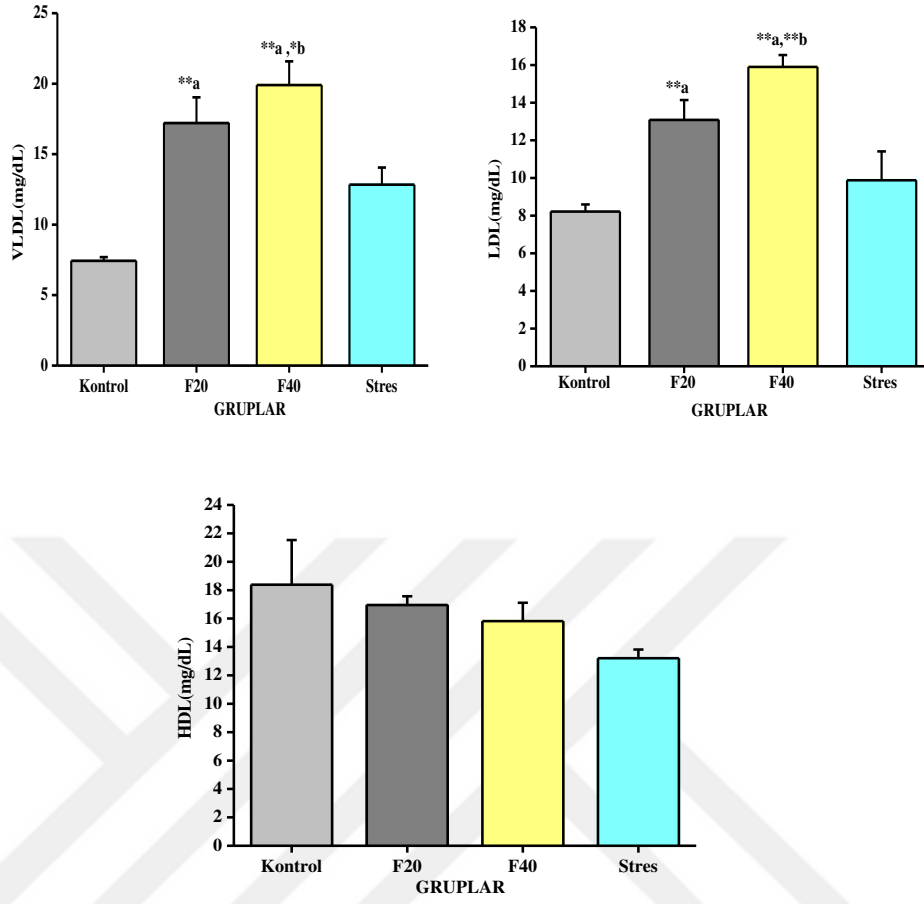
Serum VLDL düzeyi F20 ve F40 gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.01$). Stres grubunun VLDL düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artış göstermiştir. İstatistiksel olarak anlamlı değildir. F40 grubunun VLDL düzeyi stres grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.01$).

Tablo 17. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri (n=8 her bir grup için)

Gruplar	HDL(mg/dl)	LDL(mg/dl)	VLDL(mg/dl)
Kontrol	18,38±3,15	8,21 ±0,38	7,43 ±0,26
F20	16,95±0,62	13,08±1,06 ^{**a}	17,2±1,82 ^{**a}
F40	15,82±1,29	15,9±0,63 ^{**a**b}	19,9±1,68 ^{**a, *b}
Stres	13,21 ±0,61	9,88±1,53	12,84±1,20

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, *: P<0.05



Şekil 40. Serum HDL, LDL, VLDL Düzeyleri

5.6.İmmünohistokimya

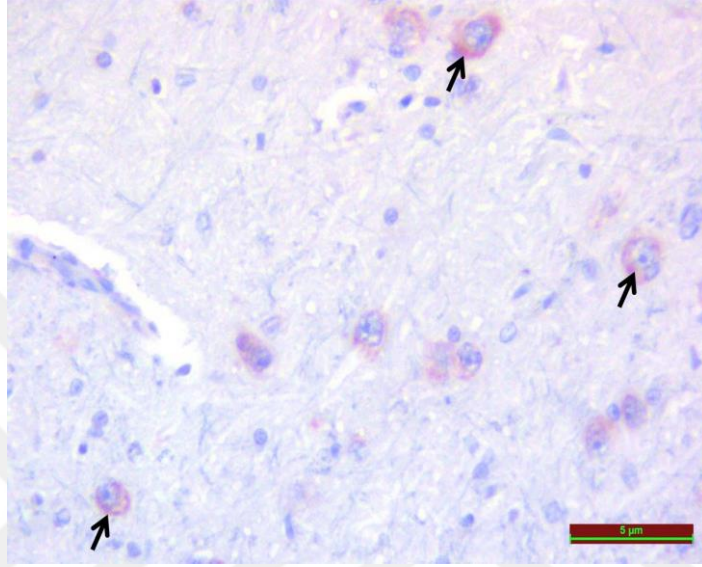
5.6.1.TRPM2 İmmünreaktivitesi

5.6.1.1.Amigdala

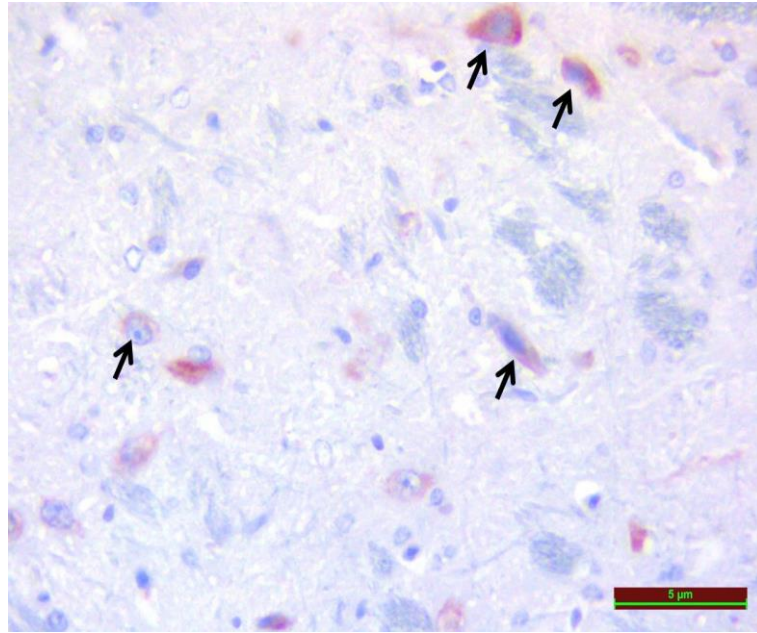
TRPM2 İmmünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi sonucu;

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F20, F40 ve stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış görülürken ($p<0.01$) bu artış F20 grubunda istatistiksel olarak anlamsızdı. F20 grubu ile

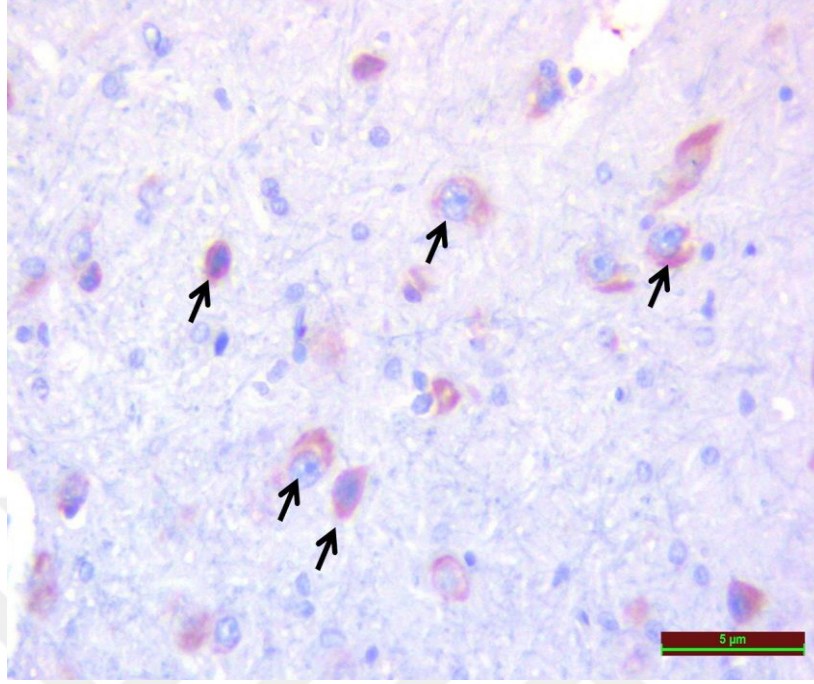
karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F40 ve stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p<0.01$). Stres grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F20 grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür ($p<0.01$).



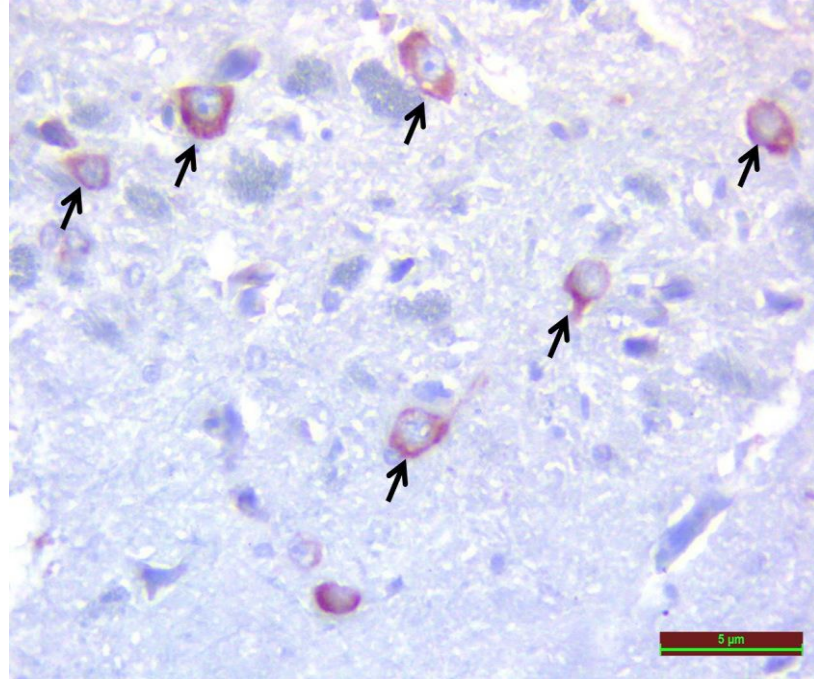
Şekil 41. Kontrol grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 42. F20 grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 43. F40 grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

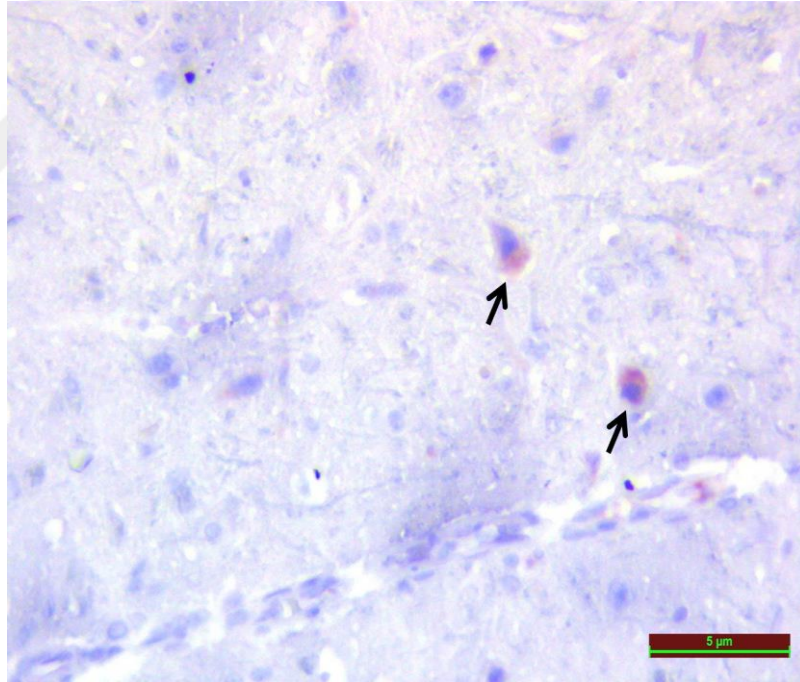


Şekil 44. Stres grubuna ait amigdala dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

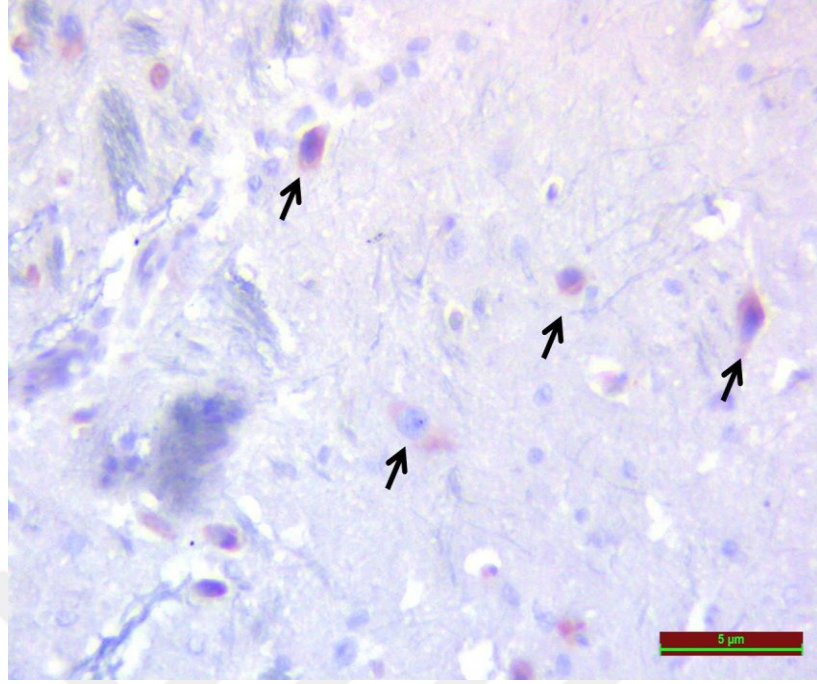
5.6.1.2. Accumbens

TRPM2 İmmünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi sonucu;

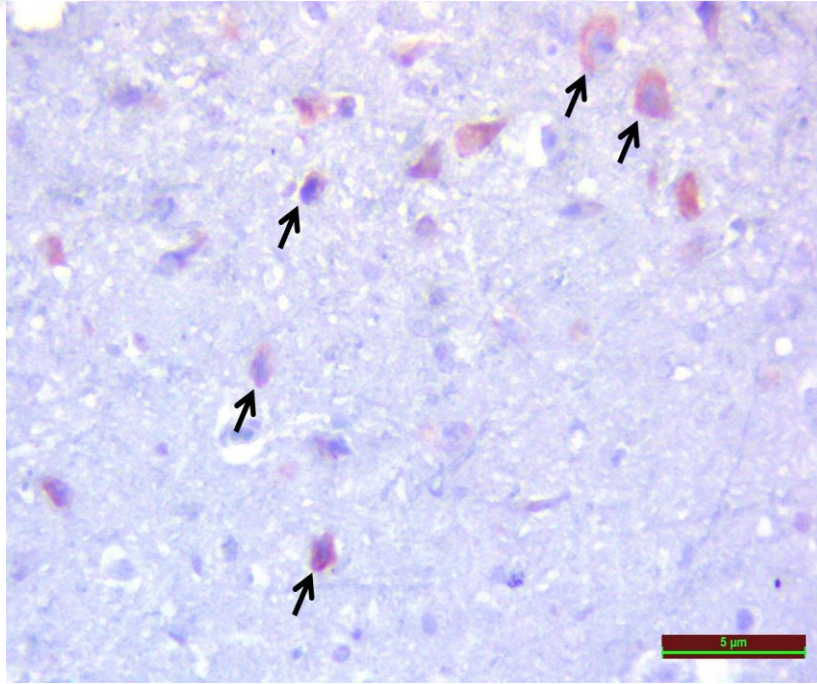
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F40 ve stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülürken F20 grubu için istatistiksel olarak anlamlı değildi. F20 grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F40 ve stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p<0.01$). Stres grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F20 grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür ($p<0.01$).



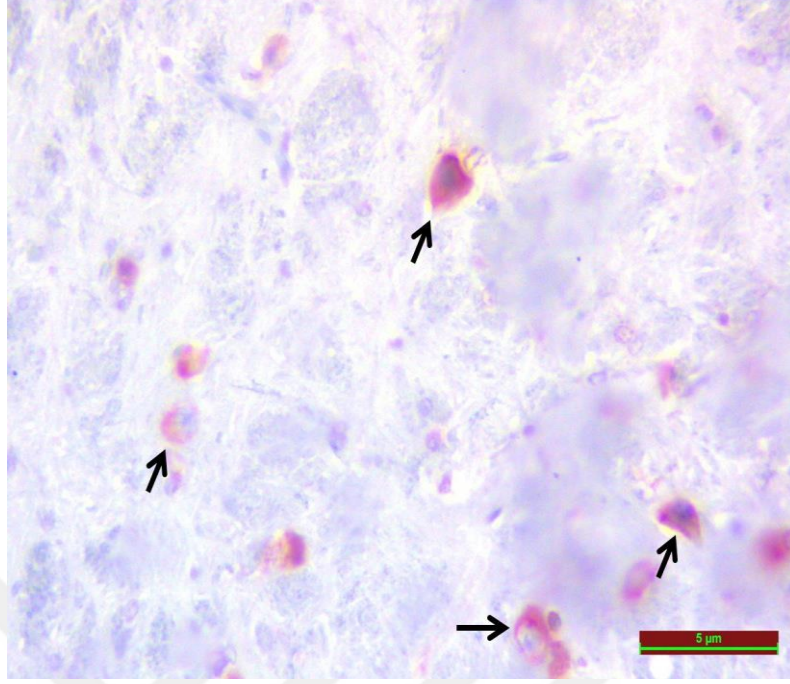
Şekil 45. Kontrol grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 46. F20 grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



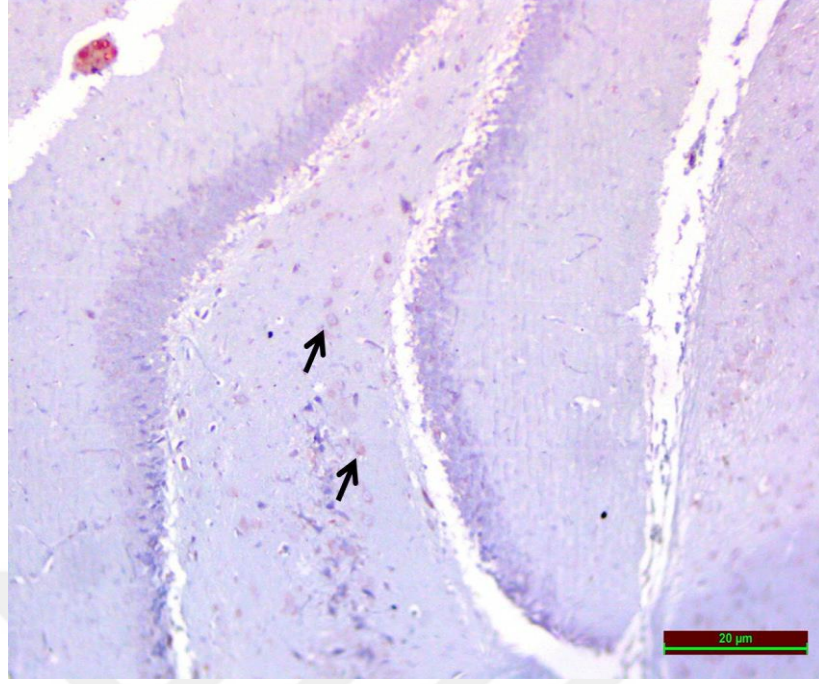
Şekil 47. F40 grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



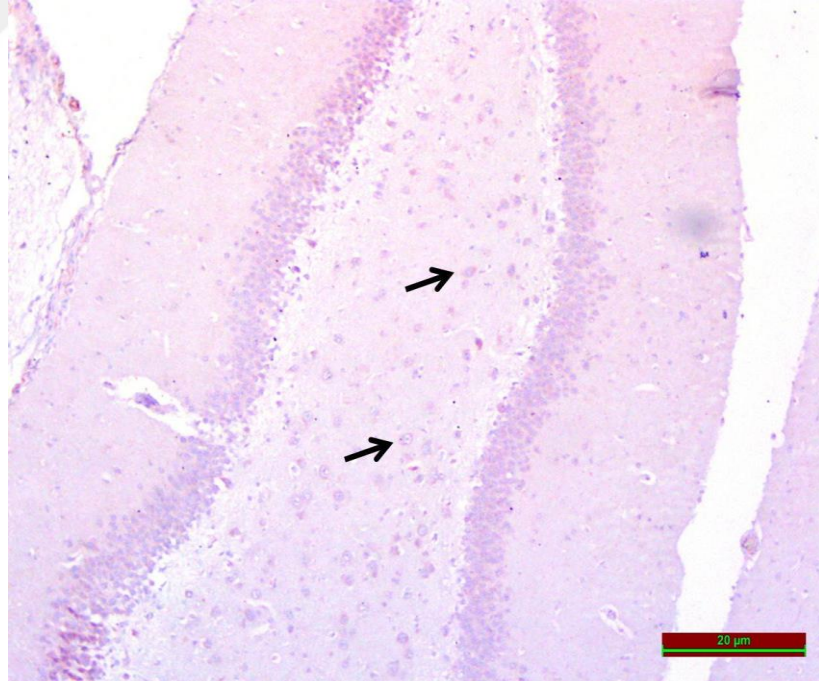
Şekil 48. Stres grubuna ait nucleus accumbens dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

5.6.1.3. Hipokampus

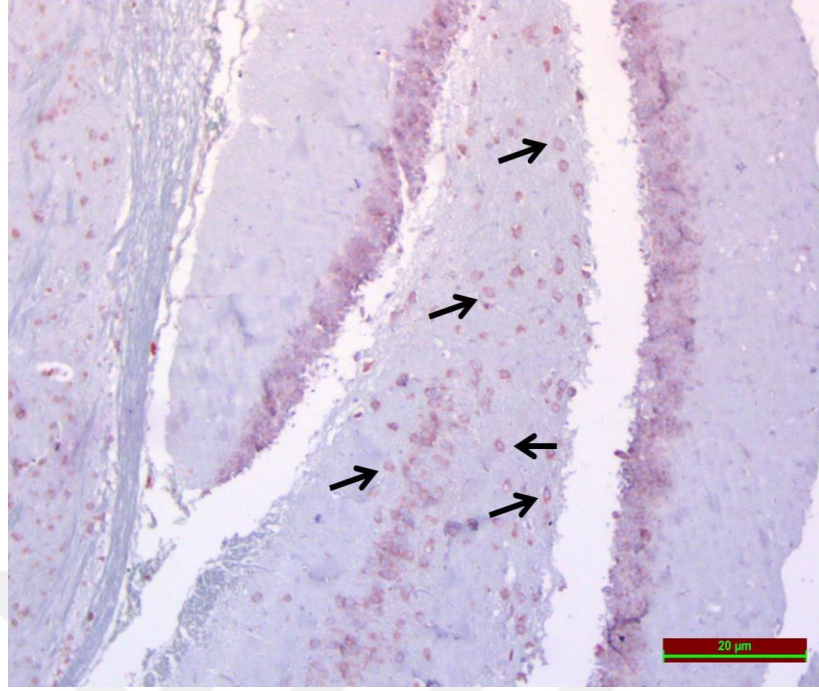
TRPM2 İmmünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi sonucu; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F20, F40 ve stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p < 0.01$). F20, F40 ve stres grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.



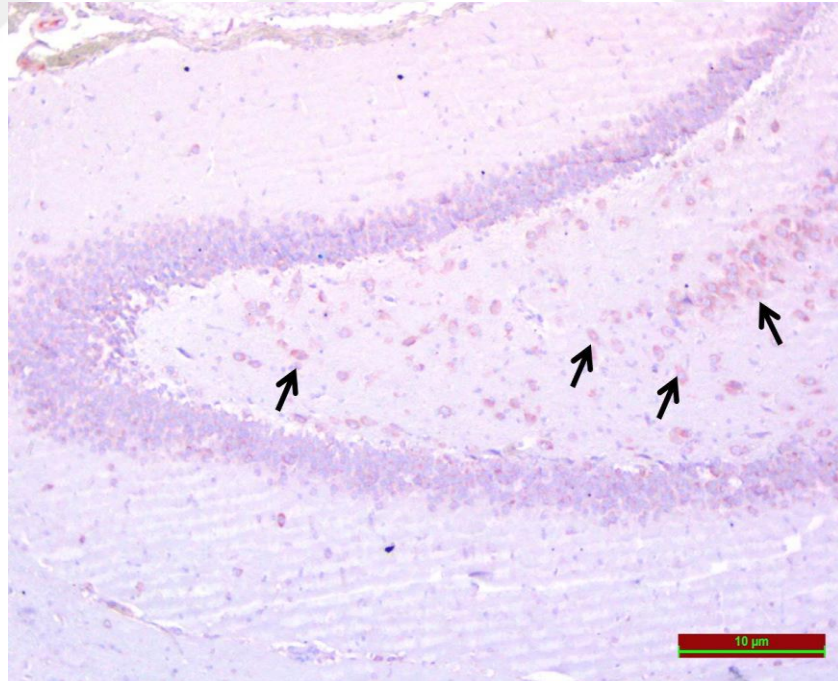
Şekil 49. Kontrol grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 50. F20 grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 51. F40 grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

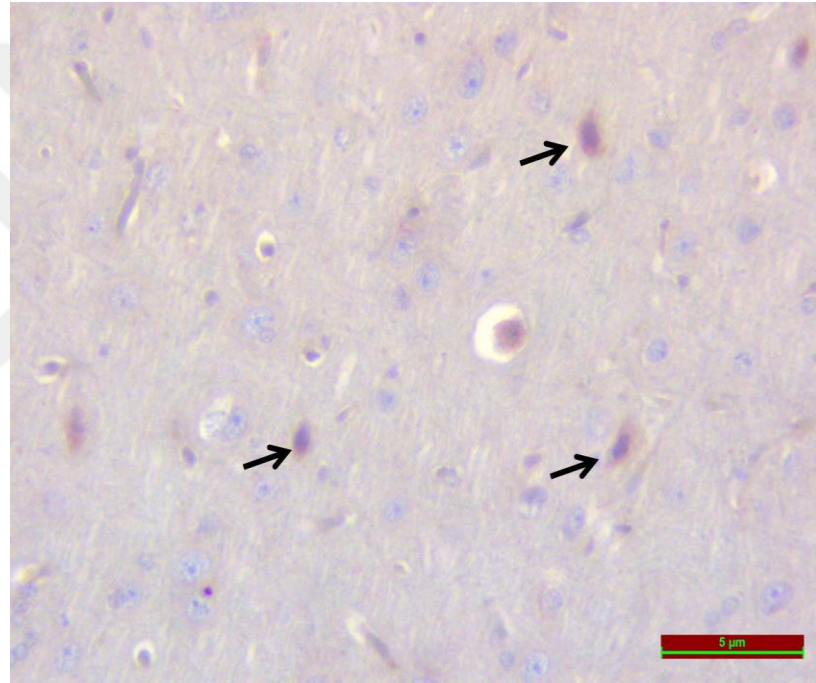


Şekil 52. Stres grubuna ait hipokampus dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

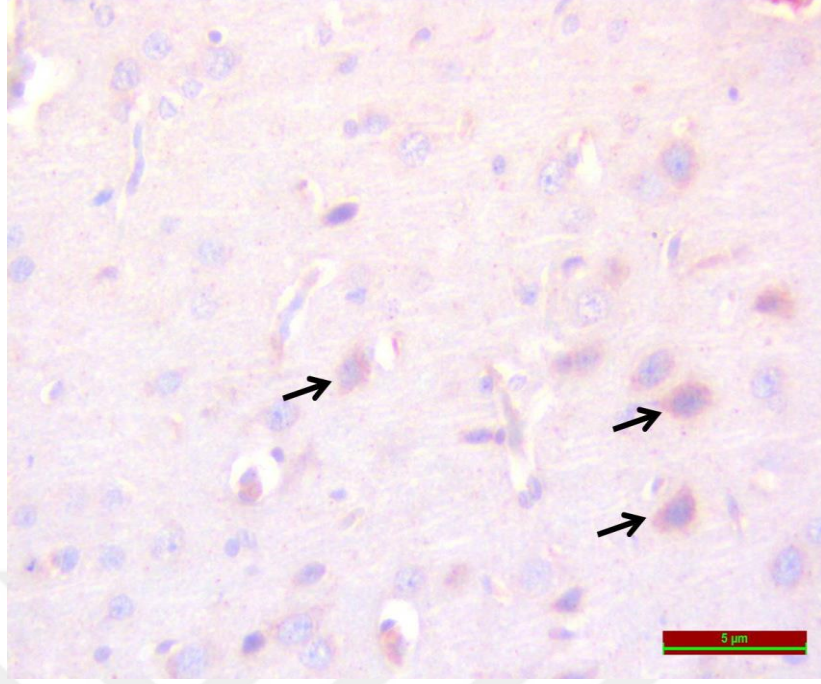
5.6.1.4. Prefrontal Korteks

TRPM2 İmmünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi sonucu;

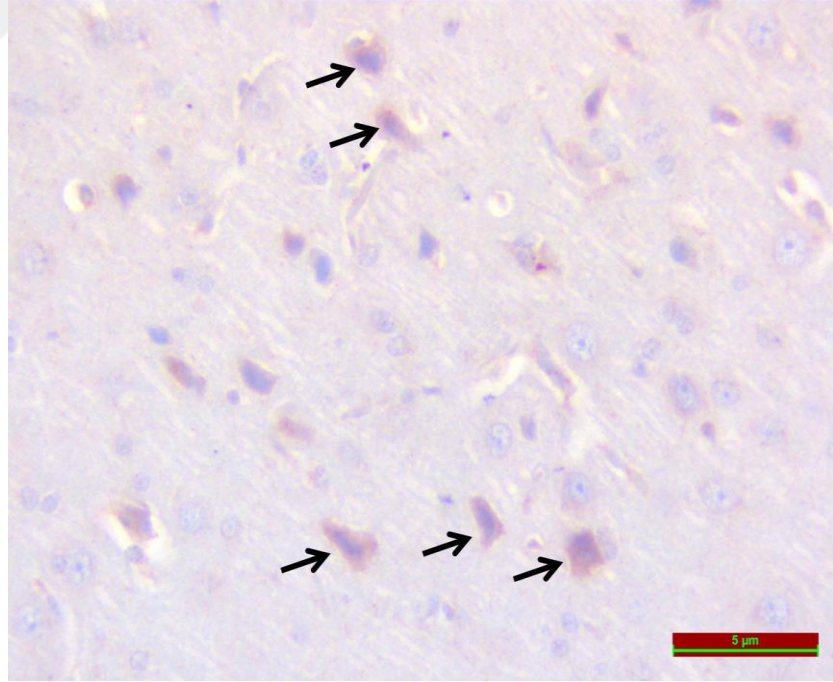
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TRPM2 İmmünreaktivitesi; F20, F40 ve stres gruplarında istatistiksel anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p<0.01$). F20, F40 ve stres grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.



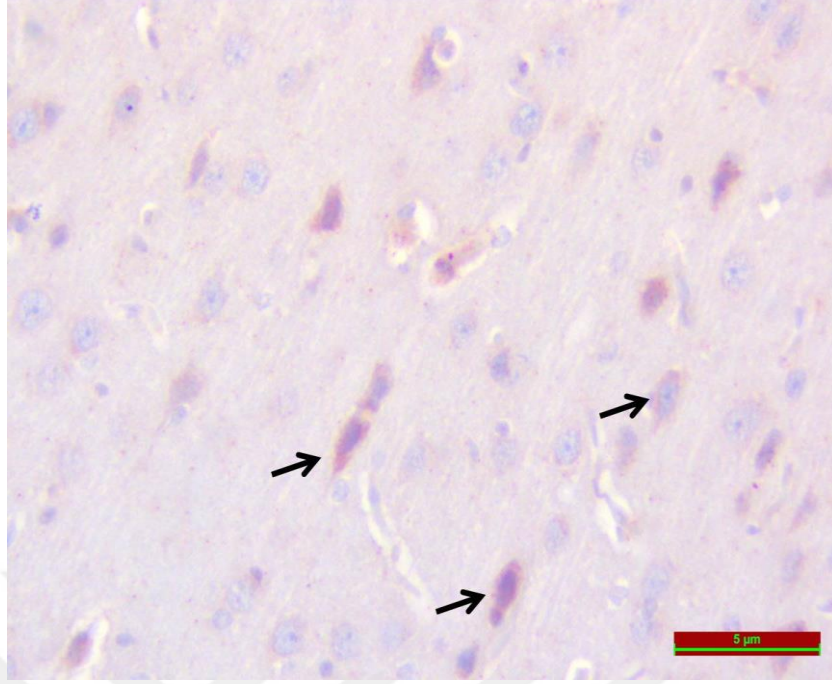
Şekil 53. Kontrol grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 54. F20 grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 55. F40 grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi



Şekil 56. Stres grubuna ait prefrontal korteks dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi

Tablo 18. TRPM2 İmmünreaktivitesi Histoskor

Gruplar	Amigdala	Accumbens	Hipokampus	Prefrontal korteks
KONTROL	0,43±0,09	0,50±0,16	0,35±0,16	0,45±0,19
F20	0,63±0,18 ^{**b}	0,52±0,15 ^{**b}	1,33±0,51 ^{**a}	1,80±0,73 ^{**a}
F40	1,40±0,69 ^{**a}	1,70±0,61 ^{**a}	1,75±0,55 ^{**a}	1,60±0,86 ^{**a}
STRES	1,55±0,63 ^{**a}	1,73±0,81 ^{**a}	1,53±0,91 ^{**a}	1,63±0,90 ^{**a}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında, **: P<0.01

6. TARTIŞMA

Sanayide tatlandırıcı olarak birçok hazır gıda ve alkolsüz içecekte YFMS kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle ABD’de YFMS tüketimindeki artış diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıklardaki artan risk ile ilişkili bulunmuştur. Stresin tanımı ise homeostazisin bozulmasında rol oynayan içsel faktörlerden (hafıza gibi) veya çevresel (tehdit gibi) faktörlerden kaynaklanan uyaranlara karşı beyin-vücut reaksiyonu şeklindedir. Stres uyaranına karşı cevabı organize eden temel fizyolojik mekanizmalar; hipotalamus, amigdala, nucleus accumbens ve prefrontal korteks gibi spesifik alanlar arasındaki etkileşimin yanı sıra belirli nörotransmitterler ve nöromodülatörlerin salınımı olduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında, YFMS tüketimi ile strese bağlı davranış değişiklikleri arasında olası fizyopatolojik değişikliklerin altında yatan mekanizmaların anlaşılmasına katkıda bulunmaya çalışılmıştır. Ayrıca aydınlık karanlık, açık alan ve kuyruktan asma testlerinin değerlendirilmesi otomatik olarak değerlendirmek için kullanılacak bir yazılım tasarlanmaya çalışılmıştır. Çalışmamızda ilk olarak 32 adet Spraque-Dawley cinsi erkek sıçan her grupta 8 hayvan olacak şekilde 4 homojen gruba ayrılmıştır (kontrol, F20, F40 ve stres). 14 günlük çalışma periyodunda hayvanlara %20 ve %40 YFMS içeren çözelti verilmiş, stres grubundaki hayvanlara ek olarak ilk hafta 3 saat, 2. hafta 6 saat süresince immobilizasyon stresi uygulanmıştır. Çalışma süresince günlük olarak hayvanların yem, su ve ağırlıkları ölçülerek aydınlık karanlık, açık alan, kuyruktan asma testleri uygulanmıştır. Çalışma sonunda sıçanlardan alınan kan örnekleri ile çeşitli biyokimyasal parametrelerin ölçümü yapılmış, beyin dokularında immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak TRPM2 kanal aktivitesi

belirlenmiştir. Davranış test parametrelerinin belirlenmesinde yenilikçi bir program tasarlanmaya çalışılmıştır. LabVIEW Vision geliştirme ortamı kullanılarak bir program tasarlanmış ve tasarlanan program sayesinde anksiyete ve stres testlerinin değerlendirilmesi otomatik olarak yapılmıştır.

6.1. Yem, Su ve Ağırlık Değerleri

Çalışmamızda F20 ve F40 grubundaki hayvanlara katı gıda ve YFMS-55 çözeltisi verilirken, stres ve kontrol grubundaki hayvanlara katı gıda ve su verilmiştir. Grupların yem ve su tüketimleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla, F20, F40 ve stres gruplarındaki sıçanlarda daha az katı yem tüketimi görülürken, sıvı tüketiminin ise F20 grubunda en yüksek değerde iken F40 grubuna en düşük değerde olduğu görülmüştür. Bu durumda %20 lik ve %40 lık çözelti şeklinde YFMS kullanılarak hazırlanan YFMS karışımı suların, sıçan için gerekli enerji ihtiyacının neredeyse tamamını karşıladığı ve böylece katı yem tüketiminde azalmaya neden olduğu düşünülebilir. Jurgens ve ark. tarafından yapılan çalışmada bu duruma yakın şekilde % 10 ve %15 oranında hazırlanmış sükroz ve fruktoz çözeltisi kullanan farelerde yem tüketiminde azalma meydana gelmiş ve bu durumun etkeni ise farelerin toplam enerji alımını dengelemek için yemden aldıkları enerji miktarında azalmaya gittikleri şeklinde değerlendirilmiştir (246). Bu çalışmanın verileri sıçanların yem tüketimindeki azalma verileri ile örtüşmektedir. Jiang ve ark. tarafında farelerin kullanıldığı bir çalışmada, besin alımının kronik kısıtlama stresinin sonucu olarak baskılandığı görülmüştür (247). Yine başka çalışmalarda da kısıtlama stresine maruz kalan diyabetik sıçanların besin alımında azalma görülmüştür (248, 249).

YFMS-55 karışımı sularla beslenen F20 ve F40 grupları içerisinde F20 grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda su tüketimi görülürken, F40 grubunda kontrol grubundan daha az miktarda su tüketimi görülmüştür. Figlewicz ve ark. tarafından ratlarda yapılan %15 YFMS nin kullanıldığı bir çalışmada şekerli içecek alım hacimlerinin hepsi su alımına kıyasla önemli ölçüde artmıştır (250). Ackroff ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışmada sıçanlara ayrı şişelerde içecek olarak YFMS ve sükroz kullanılarak hazırlanan sulara ek olarak normal içme suyu da verilmiş ve sıçanların içecek tercihleri değerlendirilmiştir (251). Sonuçta YFMS ve sükroz gruplarının içecek tüketiminin fazla olduğu ve normal su tüketiminin ters orantılı şekilde az olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar ayrıca YFMS ve sükroz un beraber verilmesi durumunda da YFMS’li su tüketiminin sükrozlu su tüketimine oranla daha fazla olduğunu belirlemiştir. Araştırmacılar bu durumu, fruktozun yüksek oranda tatlılığının bir sonucu olarak daha yüksek oranda fruktoz içeren YFMS nin sıçanlara daha cazip geldiği şeklinde değerlendirmişlerdir. Buna ek olarak YFMS nin içerdiği az miktarda polisakkaritin, sıçanların YFMS’yi tercih etme nedeni olacak tadı oluşturduğu belirtilmiştir (252). Çalışmamızda ise kafeslerdeki sıçanlara içecek olarak normal su veya F20, F40 çözeltileri verilmiş olmasına rağmen F20 grubunun sıvı tüketimi kontrol grubunun çok üzerinde, F40 grubunda kontrol den az seviyededir. Stres grubunun su tüketimi kontrol grubuna yakındır. F20 grubundaki sıvı tüketiminin fazla olmasının sebebi F20 grubundaki sıçanların şekerin tetiklediği susuzluğu gidermenin tek yolu olarak yine şekerli su olarak görmesi ,osmotik dengenin bozulması ve bu nedenle de F20 grubunda şekerli su tüketiminde artışa neden olduğu şeklinde değerlendirilebilir. F40 grubunda şekerli suyun az tüketilmesinin sebebi ise yoğun tatlılık derecesi ve yüksek YFMS konsantrasyonu olduğu

düşünülebilir. Çalışmamıza paralel sonuçların elde edildiği diğer çalışma örneklerine bakıldığında; Celec ve ark. tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada da kola türevi içeceklerin herhangi bir sınırlama olmadan verildiği sıçanlarda normal su verilen sıçanlara kıyasla günlük su tüketiminin yaklaşık üç katı kadar olduğu görülmüştür (253). Chiba ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, kronik kısıtlama stresine maruz bırakılan sıçanların su tüketim miktarları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişme gözlenmemiştir (254).

Çalışma süresince günlere bağlı olarak yüzde ağırlık değişimleri karşılaştırıldığında F20, F40 gruplarında canlı ağırlığında artış, stres grubunda canlı ağırlığında azalma görülmüştür. F40 grubunda hayvanların az miktarda F40 tüketmelerine rağmen ağırlık artışı görülmesinin nedeni olarak fruktozun yüksek kalori içeriği olduğu düşünülmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada farklı kalorili tatlandırıcılar arasından sadece HFCS-55 (% 13) içen fareler, sekiz hafta sonunda H₂O veya glikoz solüsyonu içen farelere kıyasla daha büyük ($P < 0.05$) nihai vücut ağırlığına kavuşmuştur (255). Light ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 8 hafta boyunca sıçanlara %13 lük çözelti halinde glikoz, fruktoz, sükroz ve YFMS-55 verilmiş ve sonuçta sükroz grubunda kontrole göre vücut ağırlığında anlamlı artış olmazken YFMS grubunda anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (256). Bu artışın nedeni de YFMS'nun yüksek oranda fruktoz içeriğine sahip olması, fruktozun yağ asitlerine dönüşmesi ve yağ şeklinde depolanarak yağlanmayı hızlandırması şeklinde değerlendirilmiştir. Diğer bir nedeni ise uzun süreli fruktoz tüketimin enerji harcamasını azaltıp, kalori alımını arttırarak kilo alımına neden olduğu şeklindeki değerlendirmedir (257).

Yun ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da kronik kısıtlama stresine maruz kalan hayvanlarda vücut ağırlığının kontrol gurubuna oranla daha yavaş bir artış göstermiştir (258). Zardooz ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışma da ise stresin gıda tüketimini baskıladığı ve kilo kaybına neden olduğu bildirilmiştir (259). Çalışmamızda da stres grubunun canlı ağırlığı kontrol grubuna göre azalmıştır. Bu veriler stresin vücut ağırlığı üzerine negatif etkide bulunduğunu göstermektedir.

6.2. Biyokimyasal Parametreler

6.2.1. HDL, LDL ve VLDL

Fruktoz, glikozdan farklı şekilde fosfofruktokinaz basamağını insülinde bağımsız şekilde atlayarak hepatik lipit metabolizmasına doğrudan etki etmektedir. Bu etki, fruktoz yapılı karbonların kontrolsüz biçimde lipogeneze kullanılmasına ve bu şekilde hepatik VLDL-kolesterol LDL- kolesterol sentezinin artışına, HDL- kolesterol sentezinin azalışına sebebiyet vermektedir (260). Yapılan bir çalışmada 12 hafta süresince erkek ve dişi ratlarda %10 fruktoz uygulandığında VLDL ve LDL düzeylerinin arttığı HDL düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir (261). Fareler üzerinde 8 hafta boyunca yüksek fruktozlu besin verilerek yapılan bir çalışmada HDL -C düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalış gösterirken, VLDL ve LDL düzeylerinin arttığı görülmüştür (262). Wistar cinsi erkek ratlar 10 hafta boyunca %60 oranında fruktoz verilerek yapılan diğer bir çalışmada ise HDL düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (263).

Stres HPA akını aktive ederek glukokortikoidlerin salınımını sağlar ve bu sayede lipit profilini değiştirerek HDL, LDL ve VLDL değerini değiştirir (264).

Devakı ve ark. tarafından yapılan çalışmada tekrarlanan kısıtlama stresin VLDL ve LDL düzeyini arttırdığı, HDL düzeyini azalttığı açıkça gösterilmektedir (259). Ricart-Jane ve ark. (2002), kronik immobilizasyonun, (VLDL) düzeylerini artırdığını göstermiştir (265). İlaveten Ronsein ve ark. yaptığı bir çalışmada stresin LDL düzeyini arttırdığı, HDL düzeyini azalttığı gösterilmiştir (266).

Çalışmamızda da fruktoz gruplarında ve stres grubunda HDL düzeyi bir azalış gösterirken, LDL ve VLDL düzeyleri artış göstermiştir. Bu sonuçlar çalışmamızın literürle uyumlu olduğunu görülmüştür.

6.2.2. Kortikosteron

Fruktoz hipotalamusun PVN da AMP aktive edici protein kinase (AMPK) aktivasyonuna neden olarak adrenal bezden kortikosteron sekresyonunu gerçekleştirmektedir (267). Ratlarda 9 hafta süresince yapılan bir çalışmada fruktoz aşırı yüklenmesi, önemli ölçüde daha yüksek plazma kortikosteron seviyelerine yol açmıştır (268).

Bir stres uyarımına yanıt olarak, hipotalamusun paraventriküler çekirdeği, kortikotropin serbestleştirici hormonu ve adrenokortikotropik hormonu salgılamak için anterior hipofizini uyaran vazopressin salgılar ve bu da kemirgenlerde glukokortikoid hormonların (GC'ler), kortikosteronun salgılanmasına yol açar (269-271). GC'ler vücudun metabolizmasında lipitlerin metabolizması ve hayvanların beslenme davranışı gibi birçok alanda etkisi bulunmaktadır (272). Yetişkin erkek ve dişi ratlarda kısıtlama stresi kortikosteron artışıyla sonuçlanmıştır (273).

Çalışmamızda da fruktoz gruplarının ve stres grubunun kortikosteron değerlerinde literatürle uyumlu şekilde artış olduğu görülmüştür.

6.2.3. Total Kolesterol

Fruktoz fosfokruktokinaz enzimine ulaşmadan parçalanarak adipoz doku tarafından gliserol ve yağ asitlerine dönüşür. Lipojenik özellikleri nedeniyle, diyetle fazla fruktoz, glikoz malabsorpsiyonuna ve kolesterolde yükselmeye neden olabilir (262). Castro ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yetişkin ratlara 13 hafta süresince yüksek fruktozlu(%60) besin verdiklerinde total kolesterol düzeyinin anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişlerdir (274). Sripradha ve ark. tarafından ratlar üzerinde 10 hafta boyunca %60 oranında fruktoz verilerek yapılan diğer bir çalışmada total kolesterol düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (263). Stres HPA aksını etkileyerek glikokortikoidlerin salımına sağlar ve bu da karaciğerde kolesterol düzeyinin artışına neden olur. Ricart-Jane ve arkadaşları kronik immobilizasyon stresinin total kolesterol düzeylerini arttırdığını gözlemlemişlerdir (264). Tavşanlar (275) ve farelerin (276) üzerinde yapılan çalışmalarda immobilizasyonu takiben dolaşımdaki total kolesterol konsantrasyonlarında önemli bir yükselme olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde fruktoz gruplarının ve stres grubunun total kolesterol düzeyi kontrol grubuna göre artış olduğu görülmüştür.

6.2.4. Trigliserit

Kısa ve uzun süreli çalışmalarda yüksek fruktoz oranı ile beslenme sonucunda serum trigliserit seviyelerinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Sharabi ve ark. tarafından yapılan çalışmada 3 hafta süresince yüksek fruktoz tüketen sıçanların plazma trigliserit seviyelerinde bir artışa neden olduğu gözlenmiştir (277). Çatak ve ark. tarafından erkek ve dişi ratlarda 12 hafta

süresince %10 fruktoz verilerek yapılan çalışmada trigliserit düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu gözlemlenmişlerdir (261). Literatürde bu çalışmalara paralel sonuçların elde edildiği çalışmalar mevcuttur (274, 278, 262, 268).

Kısıtlama stresi uygulanan çalışmalarda; Ricart-Jane ve ark. kronik immobilizasyonun, serum TG, düzeylerini artırdığını gözlemlemişlerdir (279). Tavşanlar (275) ve farelerin (276) üzerinde yapılan çalışmalarda immobilizasyonu takiben dolaşımdaki trigliserit konsantrasyonlarında önemli bir yükselme olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde fruktoz gruplarının ve stres grubunun serum trigliserit seviyelerinde artış olduğu görülmüştür.

6.2.5. Glikoz ve İnsülin

Glikoz ölçümü insülin hassasiyetinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Kan glikoz yoğunluğu arttığında, pankreas bezinin langerhans adacıklarında bulunan beta hücrelerinden insülin salgısı artar. Yapılan çalışmalar sonucunda Yüksek miktarlarda fruktoz içeren diyetlerin hepatik insülin direncini indüklediği ve hepatik steatozun bir sonucu olarak glikoz seviyelerini artırdığı öne sürülmüş olmasına rağmen, glukoneogenezin artmasına yol açan kesin mekanizma hala açıkça tanımlanamamıştır (280, 281). Collino ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada 30 hafta süresinde %15 YFMS-55 ile beslenen farelerinde serum glikoz değerinin arttığını gözlemlemişlerdir (282). Fruktoz, glikozun emilimini kolaylaştırıcı etkiye sahip olduğu, düşük miktarda veya kısa süreli tüketildiğinde kandaki glikoz oranını düzenleyici etkide bulunabileceği, uzun

sürelili kullanım durumunda ise serum glikoz değerlerini arttırıcı etkiye neden olabileceği bildirilmektedir (283). Collino ve ark. alışması bu görüşle paraleldir.

Streste ACTH salınımı, adrenallerin katekolamin üretimini arttırmasını teşvik eder (284). Artmış glukokortikoid ve katekolamin seviyeleri insülinin etkilerini antagonize eder ve ayrıca insülin üzerindeki etkilerinden bağımsız olarak kan glikoz konsantrasyonunu arttırır (285).

Ahn ve ark. tarafından fareler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada kısıtlama stresi uygulanmasının kan glikoz ve insülin konsantrasyonlarını arttırdığı belirtilmiştir (286). Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde fruktoz gruplarının ve stres grubunun serum insülin ve glikoz seviyelerinde artış olduğu grlmştir.

6.2.6. TAS ve TOS

Fruktoz bakımından zengin beslenmesi, aşırı ROS oluşumuna ve antioksidan savunma mekanizmalarında eşzamanlı düşüşe katkıda bulunur ve böylece oksidatif stresi hızlandırır (287). Wistar cinsi erkek ratlara 10 hafta boyunca %60 oranında fruktoz verilerek yapılan çalışmada TAS düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenirken TOS düzeyinde artış gözlenmiştir (263). Nachimuthu ve ark. tarafından 10 hafta süresince yapılan diğer bir çalışmada da TAS düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenirken TOS düzeyinde artış gözlenmiştir (288). Ewelina ve ark. tarafından 8 hafta süresince %60 ın üzerinde fruktoz verilerek yapılan bir çalışmada TAS değerinin arttığı grlmştir (289).

Strese bağlı olarak kortizol düzeylerinde artış glikoz metabolizmasını ve ROS üretimini hızlandırdığı bildirilmiştir (290). ROS retimi oksidatif stresin ana

parametresidir ve ROS üretimindeki artış sonucunda oksidatif hasarın derecesi de artmaktadır. Herbert ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada strese maruz kalan sıçanların prefrontal korteksinde lipid peroksidasyonunda artış olduğunu ve bunun da oksidatif stresi göstergesi olduğunu ortaya koymuştur (291). Depresyon durumunda oksidatif stres koşullarının hücre fonksiyon kaybına neden olduğu bildirilmiştir (292, 293). Stresin, beyinde lipid peroksidasyonu artışına neden olduğu çeşitli çalışmalarla da desteklenmektedir (294-295).

Çalışmamızda fruktoz gruplarının ve stres grubunun TAS düzeyinde değişiklik görülmezken, TOS düzeylerinde literatürle uyumlu şekilde anlamlı bir artış görülmüştür.

6.3. Davranış Testleri

6.3.1. Anksiyete Testleri

Deney hayvanlarında anksiyeteyi belirlemek için çeşitli testler kullanılmaktadır. Aydınlık karanlık testi ve açık alan testi anksiyeteyi belirlemek için kullanılan testlerdendir. Elevated plus maze testi anksiyeti belirleme kullanılan diğer bir test türüdür. Yapılan bir çalışmada Anderson ve ark. yüksek fruktozlu beslenmede anksiyeteyi belirlemek için elevated plus maze testi kullanmış sonuçta daha fazla anksiyete gözlemlemişlerdir (296). Cao ve ark. tarafından sükroz kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada hayvanlara 3 gün art arda sükroz uygulanmış ve aydınlık karanlık testi sonuçlarında anksiyetik etkiye rastlanamamıştır (297). Bu sonucun oluşmasında sürenin çok kısa tutulması da etkili olduğu düşünülmektedir. Anksiyete düzeyinin belirlenmesinde faydalanan aydınlık-karanlık testinde, aydınlık bölümde geçirilen süre anksiyolitik davranış olarak nitelendirilirken, karanlık bölümde geçirilen süre ise anksiyojenik davranış

olarak nitelendirilir (298). Morales ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada aydınlık karanlık testinin uygulandığı kronik kısıtlama stresine maruz bırakılmış farelerde anksiyolitik davranışların oluştuğunu gözlemlemişlerdir (299). Açık alan test parametreleri olarak şahlanma davranışı, horizontal ve vertikal hareketler kullanılmaktadır. Bu davranış testinde geçilen kare sayısındaki azalma ve şahlanma sayısındaki artış anksiyojenik davranışın göstergesi olarak nitelendirilmiştir (300). Yapılan çalışmalar neticesinde strese maruz bırakılan sıçanlara açık alan testi uygulandığında, testin sonucunda anksiyojenik bulgularda artış görülmüştür (301).

Çalışmamızda anksiyeteyi belirlemek için aydınlık karanlık ve açık alan testleri uygulamıştır. Aydınlık karanlık test sonucuna göre F20, F40 ve stres gruplarında karanlıkta kalma süresi anlamlı derecede artmış ve aksiyojenik davranış görülmüştür. Ayrıca karanlığa ilk geçiş anı test parametresi olarak ölçülmüş ve karanlığa ilk geçiş süresini azalması anksiyojenik davranış göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Sonuçta F20, F40 ve stres gruplarında karanlığa ilk geçiş süresinin arttığı görülmüştür.

Açık alan test sonucuna göre geçilen çizgi sayısı F20, F40 ve stres gruplarında azalırken anlamlı azalma stres grubunda görülmüş ve anksiyojenik olarak değerlendirilmiştir. Şahlama sayısında ise F20, F40 ve stres gruplarında artış görülürken anlamı artış F20 ve F40 gruplarında görülmüş ve anksiyojenik olarak değerlendirilmiştir.

6.3.2. Depresyon Testleri

Deney hayvanlarında depresyon durumunu belirlemek için çeşitli testler kullanılmaktadır. Kuyruktan asma testi ve zorlu yüzme testi depresyonu belirlemek için kullanılan testlerdendir. Harrell ve ark. tarafından yapılan zorlu yüzme testinde yüksek fruktozla beslenen sıçanların yüzdürme oranının azaldığını ve immobil halde kalma sürelerini arttığını gözlemlemişlerdir (302). Gözlenen bu parametrelerdeki artış birer depresyon belirticidir. Kuyruktan asma testinde de hareketsiz geçirilen süre depresyon benzeri davranışın göstergesi olarak kabul edilmektedir (303). Kısıtlama stresine maruz bırakılmış farelerle 21 gün süresince yapılan bir çalışma sonucunda, kontrol grubundaki hayvanlara oranla hareketsiz kalma süresinin arttığı gözlenmiştir (304). Çalışmamızda depresyon durumunu belirlemek için kuyruktan asma testi uygulamıştır. Kuyruktan asma test sonucuna göre F20, F40 ve stres gruplarının hareketsiz kalma süreleri artış gösterirken bu artış stres grubu için anlamlı düzeydedir.

6.4. Bazı Beyin Bölgelerinde TRPM-2 Aktivasyonu

TRPM2 nonselektif katyon kanalı olup oksidatif stres koşullarında aktive olur ve intrasellüler serbest kalsiyum konsantrasyonunda artışa ve hücre ölümüne yol açar (305).

Beyin ve nöronlar büyük miktarda oksijen ve oksitlenebilen çoklu doymamış yağ asitleri tüketirler buna rağmen zayıf bir antioksidan sisteme sahiptirler. Bu nedenle ROS'un hedefi olurlar (306). Beyin ve sinir sistemi oksidatif strese oldukça duyarlıdır ve artan oksidatif hasar, mitokondrial disfonksiyon, inflamasyon, protein klirensindeki defektler gibi kompleks patolojiler nöron ölümüne kadar giden önemli problemlere yol açmaktadır (307).

TRPM2 nöronal gelişimde de rol oynar ve nörit gelişmesinde engelleyici bir role sahiptir. TRPM2 inhibisyonu artarken, TRPM2 aşırı ekspresyonunun aksonal büyümeyi azalttığı gösterilmiştir. TRPM2 nakavt fare nöronlarında, kontrol farelere kıyasla daha uzun nörit ve daha fazla dendrite sahip olduğu gösterilmiştir. TRPM2'nin aksonal büyümenin lizofosfatidik asit kaynaklı baskılanmasına aracılık ettiği bildirilmiştir (308). İmmünohistokimyasal çalışmada 4 beyin bölgesinde de F20, F40 ve stres gruplarında TRPM2 immünoaktivitesinde kontrole göre artış olduğu görülmüştür. Ancak amigdala ve NAc bölgelerinde F20 grubundaki artış kontrole göre anlamlı değildir. Bu iki bölgede hem stres grubunun hem de F40 grubundaki TRPM2 aktivitesi F20'ye göre de artış göstermiştir. Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak inceleme yapılan prefrontal korteks, amigdala, hipokampus ve nükleus akkumbens olarak ifade edilen dörtlü yapı stres cevaplarının kontrolünde ve organizasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu dörtlü yapının tamamında, stresörler farklı nörotransmitterlerin ekstraselüler konsantrasyonunda değişime sebep olurlar ve bu değişim de stresörle başa çıkmak için davranışsal süreçlerin aktivasyonu ve modülasyonu ile ilişkilidir (309, 310). Amigdala, nükleus akkumbens, hipokampus ve prefrontal kortekste TRPM2 aktivitelerindeki artış oksidatif strese bağlı olarak meydana gelmiş olabilir. Nitekim kanda TOS seviyelerine bakıldığında YFMŞ ve stres gruplarında kontrol grubuna göre TOS düzeylerindeki artış, immünohistokimyasal incelemeyle gösterilen TRPM2 aktivitesindeki artışa ilave destek sağlamaktadır.

Strese cevapta anahtar bir bölge olan hipokampus, glukokortikoidlerin hedefi olarak tanınan ilk beyin bölgesidir. Stres ve stres hormonları yaşam

boyunca bu beyin bölgesinde hem adaptif hem de adaptif olmayan etkiler meydana getirir (311). Hipokampusün yanısıra, duygular ve kognitif fonksiyonlarla ilişkili amigdala ve prefrontal korteks, stres kaynaklı olarak davranışsal ve fizyolojik yanıtları değiştiren yapısal olarak yeniden biçimlenmeye maruz kalır (311). Bu beyin bölgeleri stres ve stres hormonlarının hedefinde olup, stresli deneyimlerin akut ve kronik etkileri bu bölgelerin nasıl cevap vereceğini belirler (311). Amigdala, prefrontal korteks ve hipokampusün kronik depresyonlu bireylerdeki otopsi çalışmalarında glial hücre sayısında azalma olduğu görülmüştür (311). Ayrıca PET (pozitron emisyon tomografisi) ve FMRI (fonksiyonel manyetik rezonans) çalışmalarında, tekrarlayan depresyonlu bireylerde bu 3 beyin yapısının hacimlerinin azaldığı gösterilmiştir (311). Kronik immobilizasyon stresinin medial prefrontal kortekste dendritik kısalmaya, amigdalada ise dendritik gelişmeye yol açtığı gösterilmiştir (312, 313). Amigdala ile ilgili olarak, 21 gün veya daha uzun süren kronik stres, sadece hipokampal bağımlı bilişsel işlevi bozmakla kalmaz, aynı zamanda amigdala bağımlı korku ve korku şartlanmasına artırır (314). Çalışmamızda uygulanan immobilizasyon stresinin bu beyin bölgelerinde TRPM2 aktivitesini artırması, oksidan bir hasar olduğunu ve hücrede apoptotik bir sürece girildiğini göstermektedir.

Beyinde primer ödül devresi ventral tegmental alandan nükleus akkumbense (NAc) giden dopaminerjik projeksiyonlar ile bazolateral amigdala (BLA) ve medial prefrontal korteks (Mpf) ile yoğun bağlantılardan oluşur (309). Nükleus akkumbens, BLA ve Mpf, ödüllere cevapta anahtar medyatörler olarak tanımlanmaktadır (315).

mPFC ve BLA stres cevaplarını düzenlediğinden ve göze çarpan duygusal uyaranlara koşullanmayla ilişkili olduğundan, bu yapıların hem koşulsuz hem de koşullu ödül maruziyetine karşı HPA ve OSS (otonom sinir sistemi) yanıtlarını düzenleyebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda YFMS gruplarında ve strese nucleus accumbens bölgesinde TRPM2 immünoaktivitesinde artış görülmesi, stres-ödül yolağındaki bozulmaya işaret etmektedir. Ayrıca hayvanlarda depresyon benzeri davranışları değerlendirmeye olanak sağlayan kuyruktan asma testi'nde deney gruplarında kontrole göre anlamlı olmamakla birlikte hareketli sürede azalma görülmesi hayvanlarda depresyon geliştiğinin belirteçlerdir. Anksiyeteyi değerlendirmede kullanılan aydınlık karanlık testi sonuçlarına göre ise F20, F40 ve stres grubundaki hayvanların karanlıkta kalma süresi kontrol grubundaki hayvanlar ile kıyaslandığında anlamlı bir artış göstermiştir. Lokomotor aktivitenin dolaylı ölçümü olan açık alan testinde, stres grubunda geçilen çizgi sayısı, kontrol, F20 ve F40 grupları ile kıyaslandığında anlamlı derecede azalmıştır. Bu bulgular YFMS'nin strese benzer olarak depresyon ve anksiyeteye yol açtığını göstermektedir. İmmünohistokimyasal çalışmada bu gruplarda gösterilen ve oksidatif stres hasarını yansıtan TRPM2 aktivitesindeki artış davranış testleriyle ortaya çıkarılan sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak:

- 1) 14 günlük YFMS uygulaması yapılan gruplardaki sıçanların vücut ağırlığı deney sonunda kontrole göre artış göstermiştir. Katı gıda tüketiminde ise YFMS uygulaması kontrole göre azalmaya sebep olmuştur.

- 2) Sters ve YFMS uygulaması; serum glikoz, insülin, kortikosteron, trigliserit, TOS, total kolesterol, LDL ve VLDL değerlerini kontrole göre arttırmıştır. Serum HDL değerini azaltmıştır.
- 3) Yapılan aksiyete ve depresyon testlerinde YFMS verilen gruplar stres uygulanan sıçanlara paralel davranışlar sergilemişlerdir.
- 4) Stres ve YFMS gruplarında kontrol grubuna göre TOS düzeylerindeki artış ile beraber beyin dokusunda yapılan immünohistakimyasal ölçümlerde prefrontal korteks, amigdala, nucleus accumbens, hipokampus bölgelerinde YFMS'nin TRPM2 kanal aktivitesini artırdığı ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir.
- 5) Çalışmada kullanılan davranış testlerinden elde edilen video görüntülerinin analizinde manuel skorlamalarda oluşacak hataları en aza indirecek tamamen yenilikçi bir yazılım tasarlanmıştır.

7. KAYNAKÇA

1. Grdl F, Ademoğlu E. Biyokimya, 1. baskı. Nobel tıp ktavevleri. İstanbul, 2006.
2. Fruton, J.S. Molecules of Life, Wiley-Interscience, 1972.
3. Hanover, LM; White, JS. "Manufacturing, composition, and application of fructose". American Journal of Clinical Nutrition 1993;58: 724- 32.
4. Huberlant, J., Sucrose: Properties and Determination, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition , 2003; 5636–5641.
5. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr 2007;86(4):899-906.
6. Cozma, A.I., Sievenpiper, J.L., The Role of Fructose, Sucrose, and High-fructose Corn Syrup in Diabetes, US Endocrinology , 2013;9:128–38.
7. Parker, K., Salas, M., Nwosu, V.C. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. Biotechnology and Molecular Biology Review. 2010;5(5): 71 – 78.
8. O'Brien-Nabors, L., Alternative Sweeteners, Fourth Edition, 2012.
9. High-Fructose Corn Syrup, Grocery Manufactureres Association: Science Policy Paper, 2008.
10. Ruiz-Matute, A.I., Weiss, M., Sammataro, D., Finely, J., Sanz, M.L. Carbohydrate Composition Of High-Fructose Corn Syrups (HFCS) Used For Bee Feeding: Effect On Honey Composition. J. Agric. Food Chem. 2010;58: 7317–7322.
11. Poyrazoğlu, A.G. Niğasta Endstri Si Atık Sularının Bitki Yetiştirilmesinde Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi Adana: ukurova niversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
12. Parrish, L. A.W. How Does the Consumption of Fructose and High Fructose Corn Syrup Impact the Health of Children and Adolescents? Pediatric Endocrinology Nursing Society. 2010; 459-460.
13. zcan, S. Modern Dnyanın Vazgeilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal retime Katkısı. Trk Bilimsel Derlemeler Dergisi 2009;2(2): 01-34.
14. Samuel VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. Trends Endoc Metab. 2011;22(2):60- 5.
15. Stipanuk, Marsha H. Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition, 2nd Edition. W.B. Saunders, Philadelphia, 2006.
16. Bizeau, M.E., Pagliassotti, M.J. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. Metabolism Clinical and Experimental 2005;54: 1189– 1201.
17. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. Nutr Rev. 2005; 63(5): 133-57.
18. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. Am J Clin Nutr. 1993; 58(5): 754-65.

19. Rutledge AC, Adeli K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev.* 2007; 65(6 -2): 13-23.
20. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol.* 2008; 19(1): 16-24.
21. Korkmaz, A. Fruktöz; Kronik Hastalıklar İçin Gizli Bir Tehdit. *TAF Prev Med Bull* 2008; 7(4):343-346.
22. Altan, N., Sepici Dinçel, A., Koca, C., “Diabetes mellitus ve oksidatif stres”, *Turk. J. Biochem.*, 2006;31(2): 51-56.
23. Reddy, S.S., Ramatholisamma, P., Karuna, R., Saralakumari, D., “Preventive effect of *Tinospora cordifolia* against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats”, *Food Chem. Toxicol.*, 2009; 47(9): 2224-2229.
24. Grattagliano, I., Palmieri, V.O., Portincasa, P., Moschetta, A., Palasciano, G., “Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: A unifying hypothesis”, *J. Nutr. Biochem.*, 2008; 19(8): 491-504.
25. Armutçu, F., Coşkun, O., Gürel, A., Kanter, M., Can, M., Uçar, F., Unalacak, M., “Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats”, *Clin. Biochem.*, 2005;38(6): 540-547.
26. Vos, M.B., Kimmons, J.E., Gillespie, C., Welsh, J., Michels Blanck, H. Dietary fructose consumption among US children and adults; The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape Journal of Medicine*, 2008;10: 160.
27. Ross, A.P., Bartness, T.J., Mielke, J.G., Parent, M.B. A high fructose diet impairs spatial memory in male rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2009;92: 410–416.
28. Bocarsly, M.E., Powell, E.S., Avena, N.M., Hoebel, B.G., High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels., *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, 2010;97:101-106.
29. Mellor KM, Wendt IR, Ritchie RH, Delbridge LM. Fructose diet treatment in mice induces fundamental disturbance of cardiomyocyte Ca^{+2} handling and myofilament responsiveness. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;302(4):964-72.
30. Mellor KM, Ritchie RH, Davidoff AJ, Delbridge LM. Elevated dietary sugar and the heart: experimental models and myocardial remodeling. *Can J Physiol Pharmacol* 2010;88(5):525-40.
31. Concha II, Velasquez FV, Martinez JM, Angulo C, Droppelmann A, Reyes AM, Slebe JC, Vera JC, Golde DW. Human erythrocytes express GLUT5 and transport fructose. *Blood.* 1997; 89(11): 4190
32. Medina RA, Owen GI. Glucose transporters: expression, regulation and cancer. *Biol Res.* 2002; 35(1): 9-26.
33. Funari VA, Crandall JE, Tolan DR. Fructose metabolism in the cerebellum. *Cerebellum.* 2007; 6(2): 130-40.

34. Nakagawa T, Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ. Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2005; 1(2): 80-6.
35. Lingelbach LB, McDonald RB. Description of the long-term lipogenic effects of dietary carbohydrates in male Fischer 344 rats. *J Nutr.* 2000; 130(12): 3077-84.
36. Le KA, Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9(4): 469-75.
37. Jurgens H, Haass W, Castaneda TR, Schurmann A, Koebnick C, Dombrowski F, Otto B, Nawrocki AR, Scherer PE, Spranger J, Ristow M, Joost HG, Havel PJ, Tschop MH. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *ObesRes.* 2005; 13(7): 1146-56.
38. Le KA, Faeh D, Stettler R, Ith M, Kreis R, Vermathen P, Boesch C, Ravussin E, Tappy L. A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(6): 1374-9.
39. Gersch MS, Mu W, Cirillo P, Reungjui S, Zhang L, Roncal C, Sautin YY, Johnson RJ, Nakagawa T. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; 293(4): 1256-61.
40. Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Bautista-Garcia P, Soto V, Avila-Casado C, Vega-Campos IP, Nakagawa T, Zhao L, Franco M, Johnson RJ. Effects of febuxostat on metabolic and renal alterations in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008.
41. Nyby MD, Abedi K, Smutko V, Eslami P, Tuck ML. Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. *Hypertens Res* 2007; 30(5):451-7.
42. Bell RC, Carlson JC, Storr KC, Herbert K, Sivak J. High-fructose feeding of streptozotocin-diabetic rats is associated with increased cataract formation and increased oxidative stress in the kidney. *Br J Nutr* 2000; 84(4):575- 82.
43. Mohammadi A, Gholamhoseinian A, Fallah H. *Zataria multiflora* increases insulin sensitivity and PPAR γ gene expression in high fructose fed insulin resistant rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2014;17(4):263-70.
44. Sivakumar AS, Anuradha CV. Effect of galangin supplementation on oxidative changes and inflammatory changes in fructose-fed rat liver. *Chemico- Biol Int* 2011; 193: 141-148.
45. Kangralkar VA, Patil SD, Bandivadekar RM. Oxidative stress and diabetes: A Review. *Int J Pharm Appl* 2010; 1: 38-45.
46. Livesey G, Taylor R: Fructose consumption and consequences for glycation, plasma triacylglycerol, and body weight: meta-analyses and meta-regression models of intervention studies. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1419-1437.

47. Rizkalla SW, Boillot J, Tricottet V, et al: Effects of chronic dietary fructose on glomerular basement membrane thickness and on glycemic and lipid control in normal rats. Effect of copper supplementation. *Br J Nutr* 1993;70: 199-209.
48. Blakely SR, Hallfrisch J, Reiser S, Prather ES: Long-term effects of moderate fructose feeding on glucose tolerance parameters in rats. *J Nutr* 1981;111:307-314.
49. Thorburn AW, Storlien LH, Jenkins AB, Khouri S, Kraegen EW: Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 1155-1163.
50. Kobayashi R, Nagano M, Nakamura F, Higaki J, Fujioka Y, Ikegami H, et al. Role of angiotensin II in high fructose-induced left ventricular hypertrophy in rats. *Hypertension*. 1993;21(2):1051-5.
51. Knight J, Assimios DG, Easter L, Holmes RP. Metabolism of fructose to oxalate and glycolate. *Horm Metab Res* 2010; 42: 868-73.
52. Taylor EN, Curhan GC. Fructose consumption and the risk of kidney stones. *Kidney Int* 2008; 73: 207-12.
53. Asselman M, Verkoelen CF. Fructose intake as a risk factor for kidney stone disease. *Kidney Int* 2008; 73: 139-40.
54. Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Jimenez A, Bautista P, Cristobal M, Nepomuceno T, Soto V, Avila-Casado C, Nakagawa T, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Franco M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: 423-9.
55. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F625-31.
56. Balcıoğlu İ. “Stres Kavramı ve Tarihsel Gelişimi”. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri 9, Medikal Açıdan Stres ve Çareleri, Sempozyum Dizisi No: 47. Aralık 2005; 09-12.
57. Güçlü N. “Stres Yönetimi”. G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi.2001;21;1: 91-109,<http://gefad.gazi.edu.tr/window/dosyapdf/2001/1/2001-1-91-109-9nezahatgccclc.pdf> adresinden 04.02.2017 tarihinde erişilmiştir.
58. McEwen BS. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiol Rev*. 2007;87(3):873-904.
59. Bomholt SF1, Harbuz MS, Blackburn-Munro G, Blackburn-Munro RE. Involvement and Role of the Hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) Stress Axis in Animal Models of Chronic Pain and Inflammation. *Stress*. 2004; 7(1):1-14.
60. Yurdakoş E. “STRES FİZYOLOJİSİ” İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. <http://docplayer.biz.tr/1719865-Stres-fizyoloji-prof-dr-ertan-yurdakos-i-u-cerrahpasa-tip-fakultesi-fizyoloji-anabilim-dali.html> adresinden 04.22.2017 tarihinde erişilmiştir.
61. Selye H. Stress In Health And Disease. Butterworth-Heinemann, 2013.

62. Wagner H, Norr H, Winterhoff H. Plant adaptogens. *Phytomedicine* 1994; 1: 63-76.
63. Kocatürk PA., STRESE CEVAP, Ankara Üniversitesi Tıp Mecmuası, 2000.
64. Herman, J.P. and Cullinan, W.E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis, *Trends Neurosci.* 1997; 20: 78–84.
65. McEwen, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 171–179.
66. McEwen, B. S., & Stellar, E. Stress and the individual: Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine* 1993; 153: 2093–2101.
67. Herman JP1, Cullinan WE. Neurocircuitry of Stress: Central Control of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Axis. *Trends Neurosci.* 1997;20(2):78-84.
68. Reyes, T. M. *et al.* Urocortin II: a member of the corticotropin-releasing factor (CRF) neuropeptide family that is selectively bound by type 2 CRF receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2001;98: 2843–2848.
69. Heinrichs, S. C. & Koob, G. F. Corticotropin-releasing factor in brain: a role in activation, arousal, and affect regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004;311:427–440.
70. Pasquali, R., Vicennati, V., Cacciari, M., Pagotto, U. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome. *Ann. NY Acad. Sci.* 2006; 1083: 111–128.
71. Herbert, J. *et al.* Do corticosteroids damage the brain? *J. Neuroendocrinol.* 2006; 18: 393–411.
72. Signe F. Bomholt, Michael S. Harbuz, Gordon Blackburn-Munro & Ruth E. Blackburn-Munro Involvement and Role of the Hypothalamopituitary-Adrenal (HPA) Stress Axis in Animal Models of Chronic Pain and Inflammation. *Stress.* 2004;7(1):1-14.
73. Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10: 459-466.
74. Morilak DA, Barrera G, Echevarria J, Garcia AS, Hernandez A, Ma S, Petre CO. Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005; 29: 1214-1224.
75. Maier SF, Watkins LR. Stressor controllability and learned helplessness: the roles of the dorsal raphe nucleus, serotonin, and corticotropin-releasing factor. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005; 29: 829-841.
76. Mitsushima D, Yamada K, Takase K, Funabashi T, Kimura F. Sex differences in the basolateral amygdala: the extracellular levels of serotonin and dopamine, and their responses to restraint stress in rats. *Eur J Neurosci*, 2006; 24: 3245-3254.
77. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci*, 2005; 28: 403-450.
78. Goto Y, Otani S, Grace AA. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. *Neuropharmacology*, 2007; 53: 583-587.

79. Adamec R, Holmes A, Blundell J. Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: sex, serotonin and other factors-relevance to PTSD. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008; 32: 1287-1292.
80. Corwin EJ. *Handbook of Pathophysiology*, 3rd Edition. Chapter 6, Klein LC, Corwin EJ, Homeostasis and the Stress Response. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
81. Koob GF. A role for brain stress systems in addiction. *Neuron*, 2008; 59: 11-34.
82. Walter F. Boron, MD, PhD and Emile L. Boulpaep. *Medical Physiology*, 3rd Edition, 2017.
83. Orth, D.N., Mount, C.D. Specific high-affinity binding protein for human corticotropin-releasing hormone in normal human plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987;143:411–417.
84. Potter, E., Behan, D.P., Fischer, W.H., Linton, E.A., Lowry, P.J., Vale, W.W. Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins. *Nature* 1991; 349: 423–426.
85. Meyer, A.H., Ullmer, C., Schmuck, K., Morel, C., Wishart, W., Lubbert, H., Engels, P. Localization of the human CRF2 receptor to 7p21-p15 by radiation hybrid mapping and FISH analysis. *Genomics* 1997; 40: 189–190.
86. Vale, W., Spiess, J., Rivier, C., Rivier, J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and betaendorphin. *Science* 1981;213:1394–1397.
87. Rivier, C., Brownstein, M., Spiess, J., Rivier, J., Vale, W. In vivo corticotropin-releasing factor-induced secretion of adrenocorticotropin, beta-endorphin, and corticosterone. *Endocrinology* 1982;110: 272–278.
88. Rivier, C.L., Plotsky, P.M. Mediation by corticotropin releasing factor (CRF) of adeno-hypophysial hormone secretion. *Annu. Rev. Physiol.* 1986;48: 475–494.
89. Swanson, L.W., Sawchenko, P.E., Rivier, J., Vale, W.W. Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* 1983; 36: 165–186.
90. Palkovits, M. Anatomy of neural pathways affecting CRH secretion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1987;512:139–148.
91. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*, 2006; 8: 383-395.
92. Vaughan J, Donaldson C, Bittencourt J, Perrin MH, Lewis K, Sutton S, Chan R, Tumbull AV, Levejoy D, Rivier C. Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor. *Nature*, 1995; 378: 287-292.
93. Swanson LW, Sawchenko PE. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci*, 1983; 6: 269-324.
94. Brownstein MJ. Biosynthesis of vasopressin and oxytocin. *Annu Rev Physiol*, 1983; 129-135.

95. Aguilera G, Rabadan-Diehl C. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation. *Regul Pept*, 2000; 96: 23-29.
96. Seaward BL. Managing stress. Principles and strategies for health and well-being. Ninth Edition. Chapter 1: The nature of stress, 2018.
97. White, PC. Speiser, PW. Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Endocrine Reviews* 2000; 21(3):245-291.
98. Bertagna, X. Proopiomelanocortin-derived peptides. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23: 467–485.
99. Mountjoy KG, Robbins LS, Mortrud MT, Cone RD. The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. *Science* 1992; 257:1248–1251.
100. Waterman MR, Bischof LJ. Cytochromes P450 12: diversity of ACTH (cAMP)-dependent transcription of bovine steroid hydroxylase genes. *FASEB* 1997; 11: 419–427.
101. Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 2000;21: 55–89.
102. Miller GE1, Chen E, Zhou ES. If It Goes Up, Must It Come Down? Chronic Stress and the Hypothalamic- Pituitary-Adrenocortical Axis in Humans. *Psychol Bull.* 2007;133(1):25-45.
103. Cameron, A., Henley, D., Carrell, R., Zhou, A., Clarke, A., Lightman, S. Temperature-responsive release of cortisol from its binding globulin: a protein thermocouple. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 95: 4689–4695.
104. Weiner, H. Perturbing the organism: The biology of stressful experience. Chicago: University of Chicago Press 1992.
105. McEwen, B. S. The neurobiology of stress: From serendipity to clinical relevance. *Brain Research* 2000; 886: 172–189.
106. Walker, E. F., & Diforio, D. Schizophrenia: A neural diathesisstress model. *Psychological Review* 1997; 104: 667–685.
107. Bjorntorp, P., & Rosmond, R. Hypothalamic origin of the Metabolic Syndrome X. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1999; 892: 297–307.
108. Sephton, S. E., & Spiegel, D. (2003). Circadian disruption in cancer: A neuroendocrine-immune pathway from stress to disease. *Brain, Behavior, and Immunity* 2003; 17: 321–328.
109. Heijnen, C. J., & Kavelaars, A. (2005). Psychoneuroimmunology and chronic autoimmune diseases: Rheumatoid arthritis. In K. Vedhara & M. Irwin (Eds.), *Human psychoneuroimmunology* 2005:195–218. New York: Oxford University Press.
110. Cohen, S., Kessler, R. C., & Underwood, L. G. Strategies for measuring stress in studies of psychiatric and physical disorders. In S. Measuring stress: A guide for health and social scientists 2005; 3–28. New York: Oxford University Press.

111. Raison, C. L., & Miller, A. H. When not enough is too much: The role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *American Journal of Psychiatry* 2003;160: 1554– 1565.
112. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*, 2000; 886: 172-189.
113. Jacobson L, Sapolsky R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev*, 1991; 12: 118-134.
114. Feldman S, Conforti N, Weidenfeld J. Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. *Neurosci Biobehav Rev*, 1995; 19: 235-240.
115. Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005; 29: 1201-1213.
116. Herman JP, Cullinan WE, Young EA, Akil H, Watson SJ. Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. *Brain Res*, 1992; 592: 228-238.
117. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984; 81: 6174-6177.
118. Saphier D, Feldman S. Effects of septal and hippocampal stimuli on paraventricular nucleus neurons. *Neuroscience*, 1987; 20: 749-755.
119. Finlay JM, Zigmond MJ, Abercrombie ED. Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam. *Neuroscience*, 1995; 64: 619-628.
120. Figueiredo HF, Bruestle A, Bodie B, Dolgas CM, Herman JP. The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. *Eur J Neurosci*, 2003; 18: 2357-2364.
121. Davis M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci*, 1992; 15: 353-375.
122. Robbins TW, Everitt BJ. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol*, 1996; 6: 228-236.
123. Imperato A, Puglisi-Allegra S, Casolini P, Angelucci L. Changes in brain dopamine and acetylcholine release during and following stress are independent of the pituitary-adrenocortical axis. *Brain Res*, 1991; 538: 111-117.
124. Feenstra MG, Botterblom MH, van Uum JF. Local activation of metabotropic glutamate receptors inhibits the handling-induced increased release of dopamine in the nucleus accumbens but not that of dopamine or noradrenaline in the prefrontal cortex: comparison with inhibition of ionotropic receptors. *J Neurochem*, 1998; 70: 1104-1113.

125. Rodrigo R, Miranda A, Vergara L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clin Chim Acta*. 2011; 24: 412-410.
126. Algül S. Egzersiz zamanının vücut metabolik, kardiyovasküler, endokrin ve oksidan-antioksidan sistemleri üzerine olan etkilerinin antrenmanlı ve sedanterlerde karşılaştırmalı olarak incelenmesi, Elazığ: Fırat Üniversitesi,2016.
127. Özcan, O, Erdal, H, Çakırca, G, Yönden, Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015; 6(3): 331-336. DOI: 10. 5799 / ahinjs.01.2015.03.0545
128. Finaud,J., Lac,G., and Filaire,E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006; 36: 327-358.
129. Betteridge, DJ. What is Oxidative Stress? *Metabolism* 2000; 49(2): 3-8.
130. Kim, K., S.G. Rhee, and E.R. Stadtman. Nonenzymatic cleavage of proteins by reactive oxygen species generated by dithiothreitol and iron. *J Biol Chem* 1985; 260(29): 15394-7.
131. Halliwell B, Aeschbach R, Lölinger J, et al. The characterization on antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 601-17.
132. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry* 1995, 64: 97-112.
133. Beckman, K.B. and Ames, B.N. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78: 547-581.
134. Bedard, K. and Krause, K.H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2007; 87: 245-313.
135. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 1997;324 (1): 1-18.
136. Finkel, T. and Holbrook, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing 2000; 408: 239-247.
137. Chopra S, Wallace HM. Induction of spermidine/spermine N1-acetyltransferase in human cancer cells in response to increased production of reactive oxygen species. *Biochemical Pharmacology* 1998; 55: 1119-1123.
138. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 1993; 90 (17): 7915-7922.
139. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *American Journal of Physiology* 1996; 271(5): 1424-1437.
140. Halliwell B. What nitrates tyrosine? Is nitrotyrosine specific as a biomarker of peroxynitrite formation in vivo? *FEBS Letters* 1997;411 (2-3): 157-160.
141. H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal* 1996;313 (1): 17-29.

142. Investigations Of Oxidative Stress Effects And Their mechanisms In Rat Brain After Systemic Administration Of Ceria Engineered Nanomaterials Sarita S. Hardas *University of Kentucky*, saritash135@gmail.com
143. Brito VB, Folmer V, Soares JCM, et al. Long-term sucrose and glucose consumption decreases the δ -aminolevulinate dehydratase activity in mice. *Nutrition* 2007; 23: 818-26.
144. Brito VB, Rocha JBT, Puntel GO, et al. Inhibition of δ -aminolevulinate dehydratase is not closely related to the development of hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice. *Exp Toxicol Pathol*. 2011; 63: 443-51.
145. Habib SA, Othman EM. In vitro upregulation of erythrocytes glucose uptake by *Rhaphanus sativa* extract in diabetic patients. *Biochimie*. 2012; 94: 1206-12.
146. Berköz M, Yalın S. Normal ve preeklampatik gebelerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite, *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; 10(2) : 53–58.
147. Andersen H. R., Nielsen J.B., Nielsen F and Grandjean P: Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem*. 1997;43:(4) 562–568.
148. Cosens DJ, Manning A. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature* 1969; 224: 285–287.
149. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature*, 2003;426:517- 524.
150. Montell C & Rubin GM. Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron* 1989; 2: 1313–1323.
151. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochim Biophys Acta* 2007;1772:805–812.
152. Venkatachalam K, Montell C. TRP channels. *Annu Rev Biochem* 2007;76: 387–417.
153. Yamamoto S, Takahashi N, Mori Y. Chemical physiology of oxidative stress-activated TRPM2 and TRPC5 channels. *Prog Biophys Mol Biol* 2010; 103: 18–27.
154. Talavera K, Nilius B, Voets T. Neuronal TRP channels: thermometers, pathfinders and life-savers. *Trends Neurosci* 2008; 31: 287–295.
155. Gees M, Colasoul B, Nilius B. The role of transient receptor potential cation channels in Ca^{+2} signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a003962.
156. Ramsey IS, Delling M & Clapham DE. An introduction to TRP channels. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 619–647.
157. Gaudet R. TRP channels entering the structural era. *J Physiol* 2008;586: 3565–3575.
158. Latorre R, Zaelzer C & Brauchi S. Structure-functional intimacies of transient receptor potential channels. *Q Rev Biophys* 2009; 42: 201–246.
159. Song MY & Yuan JX. Introduction to TRP channels: structure, function, and regulation. *Adv Exp Med Biol* 2010;661: 99–108.
160. Watanabe H, Murakami M, Ohba T, Takahashi Y, Ito H. TRP channel and cardiovascular disease. *Pharmacol Therap* 2008; 118:337–351.
161. Nazıroğlu M. TRPM2 Cation Channels, Oxidative Stress and Neurological Diseases: Where Are We Now? *Neurochem Res*. 2011; 36(3): 355-66.

162. Fleig A, Penner R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features. *Trends Pharmacol Sci.* 2004; 25: 633–639.
163. Fleig A, Penner R. Emerging roles of TRPM channels. *Novartis Found Symp* 2004;258: 248–266.
164. Naziroglu M. New molecular mechanisms on the activation of TRPM2 channels by oxidative stress and ADP-ribose. *Neurochem Res* 2007; 32: 1990–2001.
165. Saygın M, Naziroğlu M. Kalpteki moleküler Ca^{+2} sinyali üzerinde TRPM katyon kanallarının rolü. *J. Exp. Clin. Med.*, 2012; 29:83-90.
166. Mederos Y, Schnitzler M, Waring J, Guder-mann T, Chubanov V. Evolutionary determinants of divergent calcium selectivity of TRPM channels. *FASEB J* 2008;22: 1540 – 1551.
167. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient Receptor Potential cation channels in disease. *Physiol Rev.* 2007; 87: 165-217.
168. Perraud AL, Fleig A, Dunn CA, Bagley LA, Launay P, Schmitz C, Stokes AJ, Zhu Q, Bessman MJ, Penner R, Kinet JP & Scharenberg AM. ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature* 2001;411:595–599.
169. Nagamine K, Kudoh J, Minoshima S, Kawasaki K, Asakawa S, Ito F, Shimizu N. Molecular cloning of a novel putative Ca^{2+} channel protein (TRPC7) highly expressed in brain. *Genomics* 1998; 54: 124–131.
170. Gurling H (1998). "Chromosome 21 workshop". *Psychiatric Genetics.* 8 (2): 109–113. doi:10.1097/00041444-199800820-00015. PMID 9686433
171. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, Yamada H, Shimizu S, Mori E, Kudoh J, Shimizu N, Kurose H, Okada Y, Imoto K, Mori Y. LTRPC2 Ca^{2+} -permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002;9: 163–173.
172. Hill K, Tighe NJ, Kelsell RE, Benham CD, McNulty S, Schaefer M, Randall AD. Characterization of recombinant rat TRPM2 and a TRPM2-like conductance in cultured rat striatal neurons. *Neuropharmacology* 2006;50: 89–97.
173. Sano Y, Inamura K, Miyake A, Mochizuki S, Yokoi H, Matsushime H & Furuichi K. Immunocyte Ca^{2+} influx system mediated by LTRPC2. *Science* 2001;293: 1327–1330.
174. Uemura T, Kudoh J, Noda S, Kanba S & Shimizu N. Characterization of human and mouse TRPM2 genes: identification of a novel N-terminal truncated protein specifically expressed in human striatum. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:1220–1243.
175. McHugh D, Flemming R, Xu SZ, Perraud AL & Beech DJ. Critical intracellular Ca^{2+} dependence of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) cation channel activation. *J Biol Chem* 2003;278: 11002–11006.
176. Tong L, Denu JM. Function and metabolism of sirtuin metabolite *O*-acetyl-ADP-ribose. *Biochim Biophys Acta* 2010;1804:1617–1625.

177. Jiang LH. Subunit interaction in channel assembly and functional regulation of transient receptor potential melastatin (TRPM) channels. *Biochem Soc Trans* 2007;35: 86–88.
178. Uchida K1, Tominaga M. The role of TRPM2 in pancreatic β -cells and the development of diabetes. *Cell Calcium*. 2014; 56(5):332-9. doi: 10. 1016/j.ceca.2014.07.001.
179. Bessman MJ, Frick DN & O’Handley SF (1996). The MutT proteins or “Nudix” hydrolases, a family of versatile, widely distributed, “housecleaning” enzymes. *J Biol Chem* 1996;271: 25059–25062.
180. Perraud AL, Shen B, Dunn CA, Rippe K, Smith MK, Bessman MJ, Stoddard BL & Scharenberg AM. NUDT9, a member of the Nudix hydrolase family, is an evolutionarily conserved mitochondrial ADP-ribose pyrophosphatase. *J Biol Chem* 2003;278: 1794–1801.
181. Kolisek M, Beck A, Fleig A & Penner R. Cyclic ADP-ribose and hydrogen peroxide synergize with ADP-ribose in the activation of TRPM2 channels. *Mol Cell* 2005;18: 61–69.
182. Beck A, Kolisek M, Bagley LA, Fleig A & Penner R. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate and cyclic ADP-ribose regulate TRPM2 channels in T lymphocytes. *FASEB J* 2006; 20: 962–964.
183. Lange I, Penner R, Fleig A & Beck A. Synergistic regulation of endogenous TRPM2 channels by adenine dinucleotides in primary human neutrophils. *Cell Calcium* 2008;44: 604–615.
184. Du J, Xie J, Yue L. Modulation of TRPM2 by acidic pH and the underlying mechanisms for pH sensitivity. *J Gen Physiol* 2009;134: 471–488.
185. Starkus JG, Fleig A & Penner R. The calcium-permeable non-selective cation channel TRPM2 is modulated by cellular acidification. *J Physiol* 2010;588: 1227–1240.
186. Yang W, Zou J, Xia R, Vaal ML, Seymour VA, Luo J, Beech DJ & Jiang LH (2010). State-dependent inhibition of TRPM2 channel by acidic pH. *J Biol Chem* 2010;285: 30411–30418.
187. Starkus J, Beck A, Fleig A & Penner R. Regulation of TRPM2 by extra- and intracellular calcium. *J Gen Physiol* 2007;130: 427–440.
188. Csanady L, Torocsik B. Four Ca^{2+} ions activate TRPM2 channels by binding in deep crevices near the pore but intracellularly of the gate. *J Gen Physiol* 2009;133:189–203.
189. Toth B, Csanady L. Identification of direct and indirect effectors of the transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) cation channel. *J Biol Chem* 2010; 285: 30091–30102.
190. Hecquet CM, Ahmmed GU, Vogel SM & Malik AB. Role of TRPM2 channel in mediating H_2O_2 -induced Ca^{2+} entry and endothelial hyperpermeability. *Circ Res* 2008;102:347–355.
191. Hecquet CM & Malik AB. Role of H_2O_2 -activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009;101: 619–625.

192. Hecquet CM, Ahmmed GU & Malik AB. TRPM2 channel regulates endothelial barrier function. *Adv Exp Med Biol* 2010;661: 155–167.
193. Kraft R, Grimm C, Grosse K, Hoffmann A, Sauerbruch S, Kettenmann H, Schultz G & Harteneck C. Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglia. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;286: 129–137.
194. Yang KT, Chang WL, Yang PC, Chien CL, Lai MS, Su MJ & Wu ML. Activation of the transient receptor potential M2 channel and poly(ADP-ribose) polymerase is involved in oxidative stress-induced cardiomyocyte death. *Cell Death Differ* 2006;13: 1815–1826.
195. Carter RN, Tolhurst G, Walmsley G, Vizuete-Forster M, Miller N & Mahaut-Smith MP. Molecular and electrophysiological characterization of transient receptor potential ion channels in the primary murine megakaryocyte. *J Physiol* 2006;576: 151–162.
196. Yamamoto S, Shimizu S, Kiyonaka S, Takahashi N, Wajima T, Hara Y, Negoro T, Hiroi T, Kiuchi Y, Okada T, Kaneko S, Lange I, Fleig A, Penner R, Nishi M, Takeshima H & Mori Y. TRPM2-mediated Ca²⁺ influx induces chemokine production in monocytes that aggravates inflammatory neutrophil infiltration. *Nat Med* 2008; 14: 738–747.
197. Ishii M, Shimizu S, Hara Y, Hagiwara T, Miyazaki A, Mori Y & Kiuchi Y. Intracellular-produced hydroxyl radical mediates H₂O₂-induced Ca²⁺ influx and cell death in rat β -cell line RIN-5F. *Cell Calcium* 2006;39: 487–494.
198. Togashi K, Hara Y, Tominaga T, Higashi T, Konishi Y, Mori Y & Tominaga M. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *EMBO J* 2006; 25: 1804–1815.
199. Dong XP, Wang X & Xu H. TRP channels of intracellular membranes. *J Neurochem* 2010;113: 313–328.
200. Inamura K, Sano Y, Mochizuki S, Yokoi H, Miyake A, Nozawa K, Kitada C, Matsushime H & Furuichi K. Response to ADP-ribose by activation of TRPM2 in the CRI-G1 insulinoma cell line. *J Membr Biol* 2003; 191: 201–207.
201. Gasser A, Glassmeier G, Fliegert R, Langhorst MF, Meinke S, Hein D, Krüger S, Weber K, Heiner I, Oppenheimer N, Schwarz JR & Guse AH (2006). Activation of T cell calcium influx by the second messenger ADP-ribose. *J Biol Chem* 2006; 281: 2489–2496.
202. Wehage E, Eissfeldt J, Heiner I, Jungling E, Zitt C. & Luckhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP - ribose. *J. Biol. Chem.* 2002; 277; 21950- 23156.
203. Nazıroğlu M, Lückhoff A. A calcium influx pathway regulated separately by oxidative stress and ADP-ribose in TRPM2 channels: Single channel events. *Neurochem. Res.* 2008; 33; 1256- 1262.
204. Ayub K & Hallett MB. The mitochondrial ADPR link between Ca²⁺ store release and Ca²⁺ influx channel opening in immune cells. *FASEB J* 2004;18, 1335–1338.

205. Perraud AL, Takanishi CL, Shen B, Kang S, Smith MK, Schmitz C, Knowles HM, Ferraris D, Li W, Zhang J, Stoddard BL & Scharenberg AM. Accumulation of free ADP-ribose from mitochondria mediates oxidative stress-induced gating of TRPM2 cation channels. *J Biol Chem* 2005;280, 6138–6148.
206. Sumoza-Toledo A1, Penner R. TRPM2: a multifunctional ion channel for calcium signalling. *J Physiol.* 2011;589(7):1515-25. doi: 10. 1113/jphysiol.2010. 201855.
207. Olah ME, Jackson MF, Li H, Perez Y, Sun HS, Kiyonaka S, Mori Y, Tymianski M, MacDonald JF. Ca²⁺-dependent induction of TRPM2 currents in hippocampal neurons. *J Physiol* 2009;587:965–979.
208. Nazıroğlu, M. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: Where are we now? *Neurochem. Res.* 2011;36: 355-366.
209. Nazıroğlu M, Lückhoff A. A calcium influx pathway regulated separately by oxidative stress and ADP-ribose in TRPM2 channels: Single channel events. *Neurochem Res* 2008; 33: 1256–1262.
210. Nazıroğlu M, Lückhoff A. Effects of antioxidants on calcium influx through TRPM2 channels in transfected cells activated by hydrogen peroxide. *J Neurol Sci* 2008; 270:152–158.
211. Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375–429.
212. Tanuma, S., Yagi, T., Johnson, G.S. Endogenous ADP ribosylation of high mobility group proteins 1 and 2 and histone H1 following DNA damage in intact cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 1985;237: 38-42.
213. Oliver, F.J., Menissier-de Murcia, J., Nacci, C., Decker, P., Andriantsitohaina, R., Muller, S., de la Rubia, G., Stoclet, J.C., de Murcia, G. Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective NF- κ B activation in poly (ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice. *EMBO J.* 1999; 18(16):4446-4454.
214. Lipski J, Park TI, Li D, Lee SC, Trevarton AJ, Chung KK, Freestone PS, Bai JZ. Involvement of TRP-like channels in the acute ischemic response of hippocampal CA1 neurons in brain slices. *Brain Res* 2006;1077:187–199.
215. Bai JZ1, Lipski J. Differential expression of TRPM2 and TRPV4 channels and their potential role in oxidative stress-induced cell death in organotypic hippocampal culture. *Neurotoxicology* 2010; 31(2):204–214.
216. Du J, Xie J, Yue L. Intracellular calcium activates TRPM2 and its alternative spliced isoforms. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 7239–7244.
217. M. Oğuzhan ÜN. Labview Tabanlı Hedef Takip Sisteminin Geliştirilmesi, 2013.
218. Prof. J. Srinivas. Design of object identification system based on machine vision, 2015.
219. Jeffrey Travis ve Jim Kring. “LabVIEW for Everyone: Graphical Programming Made Easy and Fun”, Prentice Hall, 2006.
220. M. Sairaj Gururaj1 et al. A Review on Image Tracking Technique in Labview, 2016

221. Hans-Petter Halvorsen. Introduction to Vision Systems in LabVIEW, 2016.
222. Aksoy M, Yıldırım EA, Ekici B, Mengi M, Yurdakoş E. Akut Fluoksetin Uygulamasının Kronik İmmobilizasyon Stresi Üzerine Etkileri. *Düşünen Adam* 2002; 15(4): 205-209.
223. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* 1985;85: 367–370. [PubMed: 3923523].
224. Moreau, M., Andre, C., O'Connor, J.C., Dumich, S.A., Woods, J.A., Kelley, K.W., Dantzer R., Lestage, J., Castanon, N. Inoculation of *Bacillus Calmette-Guerin* to mice induces an acute episode of sickness behavior followed by chronic depressive-like behavior. *Brain Behav Immun.* 2008;22(7):1087-95. doi: 10.1016/j.bbi.2008.04.001.
225. Fukui M, Rodriguiz RM, Zhou J, Jiang SX, Phillips LE, Caron MG, Wetsel WC. *Vmat2* heterozygous mutant mice display a depressive-like phenotype. *J Neurosci.* 2007;27(39):10520-9.
226. Wei, D., Bailey, M. J., Andrew, P. & Ryhanen, T. Electrochemical biosensors at the nanoscale. *Lab Chip* 2009;9: 2123–31.
227. Riediger T. The receptive function of hypothalamic and brainstem centres to hormonal and nutrient signals affecting energy balance. *Proceedings of the Nutrition Society* 2012; 71: 463–477.
228. Luo DD, An SC, Zhang X. Involvement of hippocampal serotonin and neuropeptide Y in depression induced by chronic unpredicted mild stress. *Brain Res Bull.* 2008; 77(1):8-12. doi: 10.1016/j.brainresbull.2008.05.010.
229. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003;463:3-33.
230. Carli M, Prontera C, Samanin R. Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology* 1989; 28: 471-6.
231. Walsh, R.N., Cummins, R.A. The open field test: a critical review *Psychol. Bull.* 1976; 83: 481–504.
232. Belzung, C., Berton, F. Further pharmacological validation of the Balb/c neophobia in the free exploratory paradigm as an animal model of trait anxiety. *Behav. Pharmacol.* 1997;8: 541–548.
233. Takahashi, L.K. , Kalin, N.H. Role of corticotropin-releasing factor in mediating the expression of defensive behavior. In: Blanchard, R.J., Brain, P.F., Blanchard, D.C., Parmigiani, S. (Eds.), *Ethoexperimental Approaches to the Study of Behavior*. NATO ASI Series. Kluwer Academic Publishing, Kluwer, Dordrecht, Boston, London, 1989, pp. 580–594.
234. N. Kuleshkaya, V. Voikar, Assessment of mouse anxiety-like behavior in the light-dark box and open-field arena: role of equipment and procedure, *Physiol. Behav.* 2014;133: 30–38.

235. Crawley LN, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 1980;13: 167-170.
236. Belzung, C., Misslin, R., Vogel, E., Dodd, R.H., Chapouthier, G. Anxiogenic effects of methyl-h-carboline-carboxylate in a light/dark choice situation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987; 28: 29–33.
237. Riebe C, Wotjak C. A practical guide to evaluating anxiety-related behavior in rodents. Chapter 10. In: Arpad S, Tamás B (eds) *TRP Channels in Drug Discovery: Volume II, Methods in Pharmacology and Toxicology*, Springer Science Business Media LLC. 2012.
238. Hascoët M, Bourin M, Nic Dhonnchadha BA. The mouse light-dark paradigm: a review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001; 25(1):141-66.
239. Tannenbaum BM, Brindley DN, Tannenbaum GS, Dallman MF, McArthur MD, Meaney MJ. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *Am J Physiol*. 1997; 273(6 -1):1168-77.
240. Anderson, J. W., and B. Sieling. Nutrition and diabetes. In: *Nutrition Update*, edited by J. Weininger and G. M. Briggs. New York: Wiley, 1985, p. 49–69.
241. Diaz MR, Mooney SM, Varlinskaya EI. Acute prenatal exposure to ethanol on gestational day 12 elicits opposing deficits in social behaviors and anxiety-like behaviors in Sprague Dawley rats. *Behav Brain Res*. 2016; 310: 11-9. doi: 10.1016/j.bbr.2016.05.003.
242. Lahouel A, Kebieche M, Lakroun Z, Rouabhi R, Fetoui H, Chtourou Y, Djamila Z, Soulimani R. Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016.
243. Turasan E., Yüksek fruktozlu mısır şurubunun sıçanlarda subkronik etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 2014.
244. Erel O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 38: 1103-1111.
245. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 2004; 37: 277-285.
246. Jurgens, H., Haass, W., Castaneda, T.R., Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obesity Research & Clinical Practice*, 2005; 13: 146–56.
247. Jiang SZ, Eiden LE. Activation of the HPA axis and depression of feeding behavior induced by restraint stress are separately regulated by PACAPergic neurotransmission in the mouse. *Stress* 2016; 19(4): 374-382.
248. Bates HE, Sirek AS, Kiraly MA, et al. Adaptation to mild, intermittent stress delays development of hyperglycemia in the Zucker diabetic Fatty rat independent of food intake: role of habituation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 2008; 149(6): 2990-3001.

249. Bates HE, Kiraly MA, Yue JT, et al. Recurrent intermittent restraint delays fed and fasting hyperglycemia and improves glucose return to baseline levels during glucose tolerance tests in the Zucker diabetic fatty rat--role of food intake and corticosterone. *Metabolism* 2007; 56(8): 1065-1075.
250. D.P. Figlewicz, G. Ioannouc, J. Bennett Jaya, b, S. Kittlesona, C. Savardc, and C.L. Roth. Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat *Physiol Behav* 2009; 98(5): 618–624.
251. Ackroff,K., Sclafani, A., Rats' preferences for high fructose corn syrup vs. sucrose and sugar mixtures *Physiology & Behavior* 2011;102:548–552.
252. Nissenbaum, J.W, Sclafani A. Qualitative differences in polysaccharide and sugar tastes in the rat: a two-carbohydrate taste model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1987;11: 187–96.
253. Celec,P., Pálffy,R., Gardlík,R., Behuliak, M.,Hodosy,J., Jáni,P., Bozek,P., Sebeková,K., Renal and metabolic effects of three months of decarbonated cola beverages in rats, *Experimental Biology and Medicine*, 2010;235:1321-1327.
254. Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, et al. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the refrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2012; 39(1): 112-119.
255. Heather R. Light, Embedzayi Tsanzi, Joseph Gigliotti, Keri Morgan, and Janet C. Tou. The Type of Caloric Sweetener Added to Water Influences Weight Gain, Fat Mass, and Reproduction in Growing Sprague-Dawley Female Rats. *Experimental Biology and Medicine* 2009;234(6):651-661.
256. Light, H.R, Tsanzi, E, Gigliotti, J., Morgan, K, Tou, JC. The type of caloric sweetener added to water influences weight gain, fat mass, and reproduction in growing Sprague Dawley female rats. *Exp Biol Med* 2009;234:651–61.
257. Kimber L Stanhope, Peter J Havel. Endocrine and metabolic effects of consuming beveragessweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(6): 1733–1737. doi: 10.3945/ajcn.2008.25825D
258. Yun J, Koike H, Ibi D, et al. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4. *J Neurochem* 2010; 114(6): 1840-1851.
259. Devaki M1, Nirupama R, Yajurvedi HN. Chronic stress-induced oxidative damage and hyperlipidemia are accompanied by atherosclerotic development in rats. *Stress.* 2013;16(2):233-43. doi: 10.3109/10253890.2012.719052.
260. Zhang, L., Perdomo, G., Kim , D.H., Qu, S.,Trucco, M., Dong, H.H., “Protemic analysis of fructose –induced fatty liver in hamster”,*Metabolism*, 2008; 57(8):1115-1124.

261. Catak Z, Aydin S, Sahin I, Kuloglu T, Aksoy A, Dagli AF. Regulatory neuropeptides (ghrelin, obestatin and nesfatin-1) levels in serum and reproductive tissues of female and male rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Neuropeptides* 2014;48(3):167-77. doi: 10.1016/j.npep.2014.04.002.
262. Sarfraz M, Mughal NB, Rahim A. Preventive Effects of Sesame Seeds on Hyperglycemia and Serum Lipids in Fructose fed Mice. *JIMC* 2015;10(1): 128-131.
263. Maithili Karpaga Selvi, N., Sridhar, M. G., Swaminathan, R. P., & Sripradha, R. Curcumin Attenuates Oxidative Stress and Activation of Redox-Sensitive Kinases in High Fructose- and High-Fat-Fed Male Wistar Rats. *Scientia Pharmaceutica*, 2015;83(1):159–175. <http://doi.org/10.3797/scipharm.1408-16>
264. Silva CC, Lazzarettia C, Fontanive T, Dartora DR, Bauereisf B, Gamarog GD. Estrogen-dependent effects on behavior, lipid-profile, and glycemicindex of ovariectomized rats subjected to chronic restraint stress. *Behavioural processes*, 2014;103: 327-33.
265. Ricart-Jane, D., Rodriguez-Sureda, V., Benavides, A., Peinado-Onsurbe, J., Lopez-Tejero, M.D., Llobera, M. Immobilization stress alters intermediatemetabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism* 2002;51: 925–931.
266. Ronsein, G.E., Dutra, R.L., Silva, E.L., Martinello, F., Hermes, E.M., Balen, G., Jorge, S., Waltrick, C.D.A., Silva, C.S.M., Santos, B.M., Santos, B.M., Leal, V., Roldão, U.Q., Cantos, G.A. Influência do estresse nos níveis sanguíneos de lipídios, ácidoascórbico, zinco e outros parâmetros bioquímicos. *Acta Bioquim. Clin. L.* 2004;38: 39–46.
267. Niamh X. Cawley. Sugar Making Sugar: Gluconeogenesis Triggered by Fructose via a Hypothalamic-Adrenal-Corticosterone Circuit. *Endocrinology*. 2012; 153(8): 3561–3563.
268. Paula D. Prince, Yanina Santander, Estefania M. Gerez, Christian Höcht Ariel H. Polizio, Marcos A. Mayer, Carlos A. Taira, Cesar G. Fraga, Monica Galleano, Andrea Carranza . Fructose increases corticosterone production in association with NADPH metabolism alterations in rat epididymal white adipose tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2017;46: 109-116.
269. Akil, H.A., Morano, M.I. Stress. In: Bloom, F.E., Kupfer, D.J.(Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Raven Press, New York, pp. 1995;773 – 785.
270. McEwen, B.S. Central effects of stress hormones in health and disease. Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur. J. Pharmacol.* 2008;583: 174–185.
271. Vreugdenhil, E., de Kloet, E.R., Schaaf, M., Datson, N.A. Genetic dissection of corticosterone receptor function in the rat hippocampus. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2001;11: 423–430.
272. Apple, J.K., Dikeman, M.E., Minton, J.E., McMurphy, R.M., Fedde, M.R., Leith, D.E., Unruh, J.A. Effects of restraint and isolation stress and epidural block-ade on

- endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. *J. Anim. Sci.* 1995;73: 2295–2307.
273. Aloisi, A. M., Ceccarelli, I., & Lupo, C. (1998). Behavioural and hormonal effects of restraint stress and formalin test in male and female rats. *Brain Research Bulletin*, 1998;47(1): 57-62. doi:10.1016/s0361-9230(98)00063-x
 274. De Castro UGM, dos Santos RAS, Silva ME, de Lima WG, Campagnole-Santos MJ, Alzamora AC. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids in Health and Disease*. 2013;12: 136. doi:10.1186/1476-511X-12-136.
 275. Gu H, Tang C, Peng K, Sun H, Yang Y., Effects of chronic mild stress on the development of atherosclerosis and expression of toll-like receptor 4 signaling pathway in adolescent apolipoprotein E knockout mice. *J Biomed Biotechnol* 2009; 11: 1–13.
 276. Ricart-Jane, D., Rodriguez-Sureda, V., Benavides, A., Peinado-Onsurbe, J., Lopez-Tejero, M.D., Llobera, M., 2002. Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism* 51, 925–931.
 277. Sharabi Y, Oron-Herman M, Kamari Y, Avni, I, Peleg E, Shabtay Z, Grossman E, Shamiss A. Effect of PPAR-gamma agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *American Journal of Hypertension* 2007;20:206–210.
 278. Kösele E, Kızıltan G, Türker P, Saka M, Akçıl Ok M, Bacanlı D, Aydos TR, Bayraktar N, Özdemir H. The effects of glucose and fructose on body weight and some biochemical parameters in rats. *Progress in Nutrition* 2018;20(1):46-51.
 279. Ricart-Jane, D. , Rodriguez-Sureda, V. , Benavides, A. , Peinado-Onsurbe, J., Lopez-Tejero, M.D., Llobera, M., 2002. Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism* 51, 925–931.
 280. Wada T, Kenmochi H, Miyashita Y, Sasaki M, Ojima M, Sasahara M, Koya D, Tsuneki H, Sasaoka T. Spironolactone improves glucose and lipid metabolism by ameliorating hepatic steatosis and inflammation and suppressing enhanced gluconeogenesis induced by a high-fat and high-fructose diet. *Endocrinology* 2010;151:2040–2049.
 281. Samuel VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2011;22: 60–65.
 282. Massimo Collino, M. Elisa Benetti, E. Mara Rogazzo, M. Raffaella Mastrocola, R. Muhammed M. Yaqoob, M. M., Manuela Aragno, M., Christoph Thiemermann, C., Fantozzi, R., Reversal of the deleterious effects of chronic dietary HFCS-55 intake by PPAR-d agonism correlates with impaired NLRP3 inflammasome activation, *Biochemical Pharmacology* 2013;85 :257–264.
 283. Gaby, A.R. Adverse effects of dietary fructose. *Alternative Medicine Review* 2005;10: 294-306.

284. Nade VS, Kawale LA, Naik RA, Yadav AV. Adaptogenic effect of *Morus alba* on chronic footshock-induced stress in rats. *Indian J Pharmacol.* 2009; 41: 246–51.
285. Björntorp P. Body fat distribution, insulin resistance, and metabolic diseases. *Nutrition* 1997; 13(9):795-803.
286. T. Ahn, C.S. Bae, C.H. Yun. Acute stress-induced changes in hormone and lipid levels in mouse plasma. *Veterinari Medicina*, 2016;61(2): 57–64.
287. Ramasamy C, Leelavinothan P. Protective effect of umbelliferone on high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in rats. *Biomed Aging Pathol* 2014;4: 23–8.
288. Maithili Karpaga Selvi, N., Sridhar, M. G., Swaminathan, R. P., & Sripradha, R. Curcumin Attenuates Oxidative Stress and Activation of Redox-Sensitive Kinases in High Fructose- and High-Fat-Fed Male Wistar Rats. *Scientia Pharmaceutica*, 2015;83(1): 159–175. <http://doi.org/10.3797/scipharm.1408-16>
289. Król E, Krejpcio Z, Michalak S, Wójciak RW, Bogdański P. Effects of Combined Dietary Chromium(III) Propionate Complex and Thiamine Supplementation on Insulin Sensitivity, Blood Biochemical Indices, and Mineral Levels in High-Fructose-Fed Rats. *Biological Trace Element Research.* 2012;150(1-3):350-359. doi:10. 1007/s12011-012-9515-5.
290. Ş. Şimşek, T. Yüksel, İ. Kaplan, C. Uysal, and H. Aktaş, “The levels of cortisol and oxidative stress and DNA damage in child and adolescent victims of sexual abuse with or without posttraumatic stress disorder,” *Psychiatry Investigation* 2016;13(6): 616–621.
291. Mariola Herbet, Agnieszka Korga, Monika Gawrońska-Grzywacz, et al., “Chronic Variable Stress Is Responsible for Lipid and DNA Oxidative Disorders and Activation of Oxidative Stress Response Genes in the Brain of Rats,” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2017, Article ID 7313090, 10 pages, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7313090>.
292. M. Vaváková, Z. Ďuračková, and J. Trebatická. Markers of oxidative stress and neuroprogression in depression disorder. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, ArticleID 898393, 12 .
293. K. B. Storey. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 1996;29(12): 1715–1733.
294. Blici M, Efe H, Köroğlu MA, Uydu HA, Bekaroğlu M, Değer O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *Journal of Affective Disorders*, 2001;64(1) :43–51.
295. Bajpai A, Verma AK, Srivastava M, and Srivastava R. Oxidative stress and major depression. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2014;(12)8: 04–07.
296. Gancheva S, Galunska B, Zhelyazkova-Savova M. Diets rich in saturated fat and fructose induce anxiety and depression-like behaviours in the rat: is there a role for lipid peroxidation? *Int J Exp Pathol.* 2017;98(5):296-306. doi: 10. 1111/iep.12254.

297. Cao D, Lu H, Lewis TL, Li L. Intake of Sucrose-sweetened Water Induces Insulin Resistance and Exacerbates Memory Deficits and Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *J Biol Chem*. 2007;282(50):36275-82.
298. Li C, Vaughan J, Sawchenko PE, Vale WW. Urocortin III-immunoreactive projections in rat brain: partial overlap with sites of type 2 corticotrophin-releasing factor receptor expression. *J Neurosci*, 2002; 22: 991-1001.
299. Delgado-Morales R, del Rio E, Gomez-Roman A, et al. Adrenocortical and behavioural response to chronic restraint stress in neurokinin-1 receptor knockout mice. *Physiology Behavior* 2012; 105(3): 669-675.
300. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 3-33.
301. Guedri K, Frih H, Chettoum A, Rouabhi R. Chronic restraint stress induced neurobehavioral alterations and histological changes in rat. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 2017; 9: 123-129.
302. Harrell CS, Burgado J, Kelly SD, Johnson ZP, Neigh GN. High-fructose diet during periadolescent development increases depressive-like behavior and remodels the hypothalamic transcriptome in male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;62:252-64. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.08.025
303. Riediger T. The receptive function of hypothalamic and brainstem centres to hormonal and nutrient signals affecting energy balance. *Proc Nutr Soc* 2012; 71(4): 463-477.
304. Yoon SH, Kim BH, Ye SK, Kim MH. Chronic non-social stress affects depressive behaviors but not anxiety in mice. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014; 18(3): 263-268.
305. Fonfria E, Marshall IC, Benham CD, Boyfield I, Brown JD, Hill K, Hughes JP, Skaper SD, McNulty S. TRPM2 channel opening in response to oxidative stress is dependent on activation of poly (ADP-ribose) polymerase. *Br J Pharmacol*. 2004 ;143(1):186-92.
306. Demirdaş A, Nazıroğlu M, Övey IS. Short-Term Ketamine Treatment Decreases Oxidative Stress Without Influencing TRPM2 and TRPV1 Channel Gating in the Hippocampus and Dorsal Root Ganglion of Rats. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2017; 37(1): 133–144.
307. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of Neurochemistry*, 2006; 97: 1634–1658.
308. Jang, Y. et al. TRPM2 mediates the lysophosphatidic acid-induced neurite retraction in the developing brain. *Pflugers Arch*, 2014; 466(10): 1987–1998.
309. Robbins TW. Arousal systems and attentional processes. *Biol Psychiatry* 1997; 45: 57-71.
310. Robbins TW. Controlling stress: how the brain protects itself from depression. *Nat Neurosci* 2005; 8: 261-262.
311. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*. 2007;87(3):873-904.

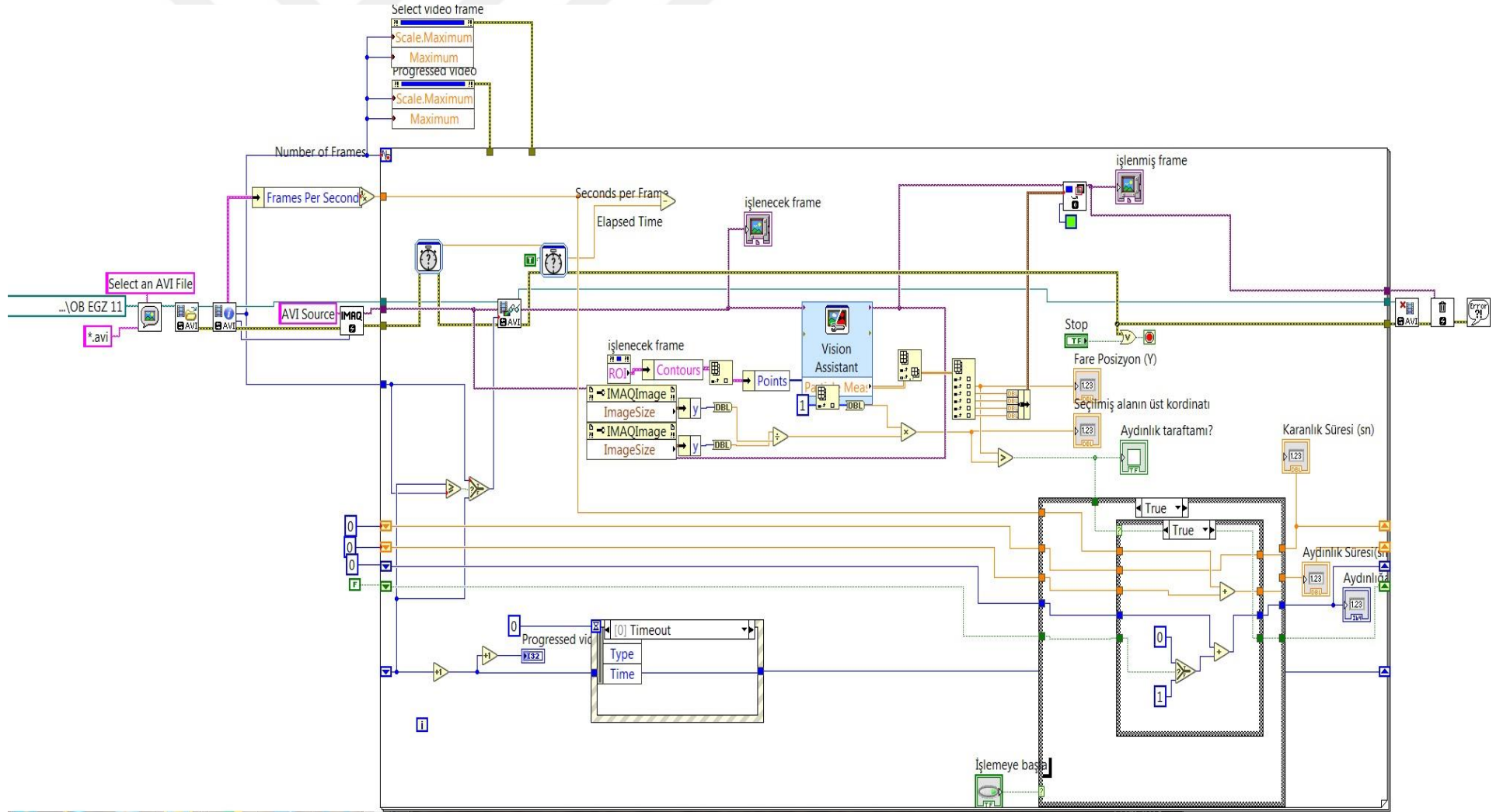
312. Vyas A, Mitra R, Rao BSS, Chattarji S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 2002;22: 6810–6818.
313. Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WGM, Liston C, Hof PR, McEwen BS, Morrison JH. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex* 16: 313–320, 2006.
314. Conrad CD, Magarinos AM, LeDoux JE, McEwen BS. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav Neurosci* .1999;113: 902–913.
315. Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci*. 2006; 29: 565–98.

8. EKLER

- 1) Aydınlık-Karanlık Testi Labview Blok Diagramı
- 2) Aydınlık-Karanlık Testi Labview Ön Panel
- 3) Kuyruktan Asma Testi Labview Blok Diagramı
- 4) Kuyruktan Asma Testi Labview Ön Panel
- 5) Açık Alan Testi Labview Blok Diagramı
- 6) Açık Alan Testi Testi Labview Ön Panel



Ek 1: Aydınlık Karanlık Testi Blok Diyagramı



Ek 2:Aydınlık Karanlık Testi Ön Panel

işlenecek frame

işlenmiş frame

Seçilmiş alanın üst

0

Fare Pozisyon (Y)

0

İşlemeye başla

Aydınlık

Aydınlığa Geçiş Sayısı

0

Karanlık Süresi (sn)

0

Aydınlık Süresi(sn)

0

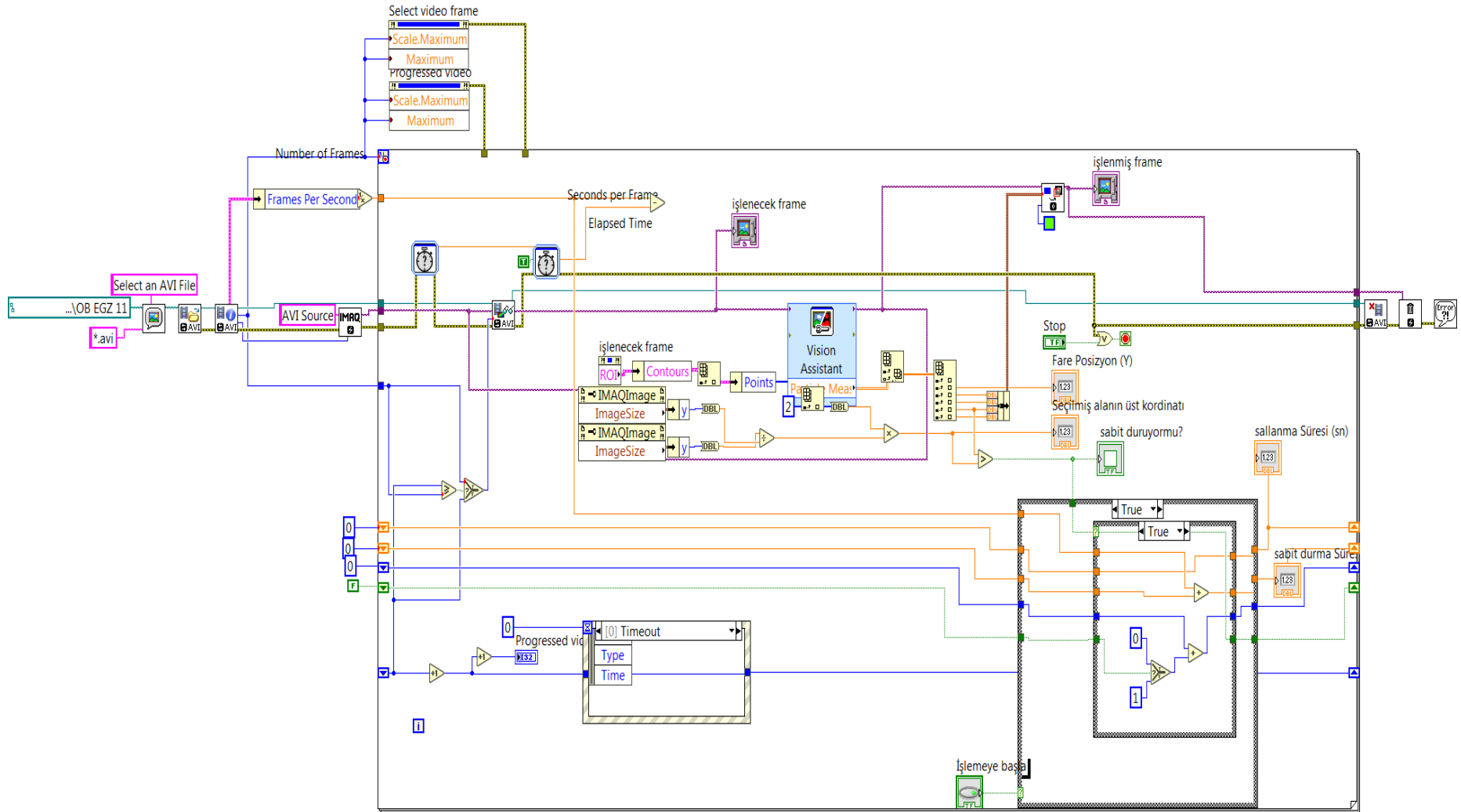
Select video frame

0 250 500 750 1000 1250 1750 2250 2750 3000 3500 3750 4250 4750 5250 5500 6000 6250 6750 7000 7500 8064

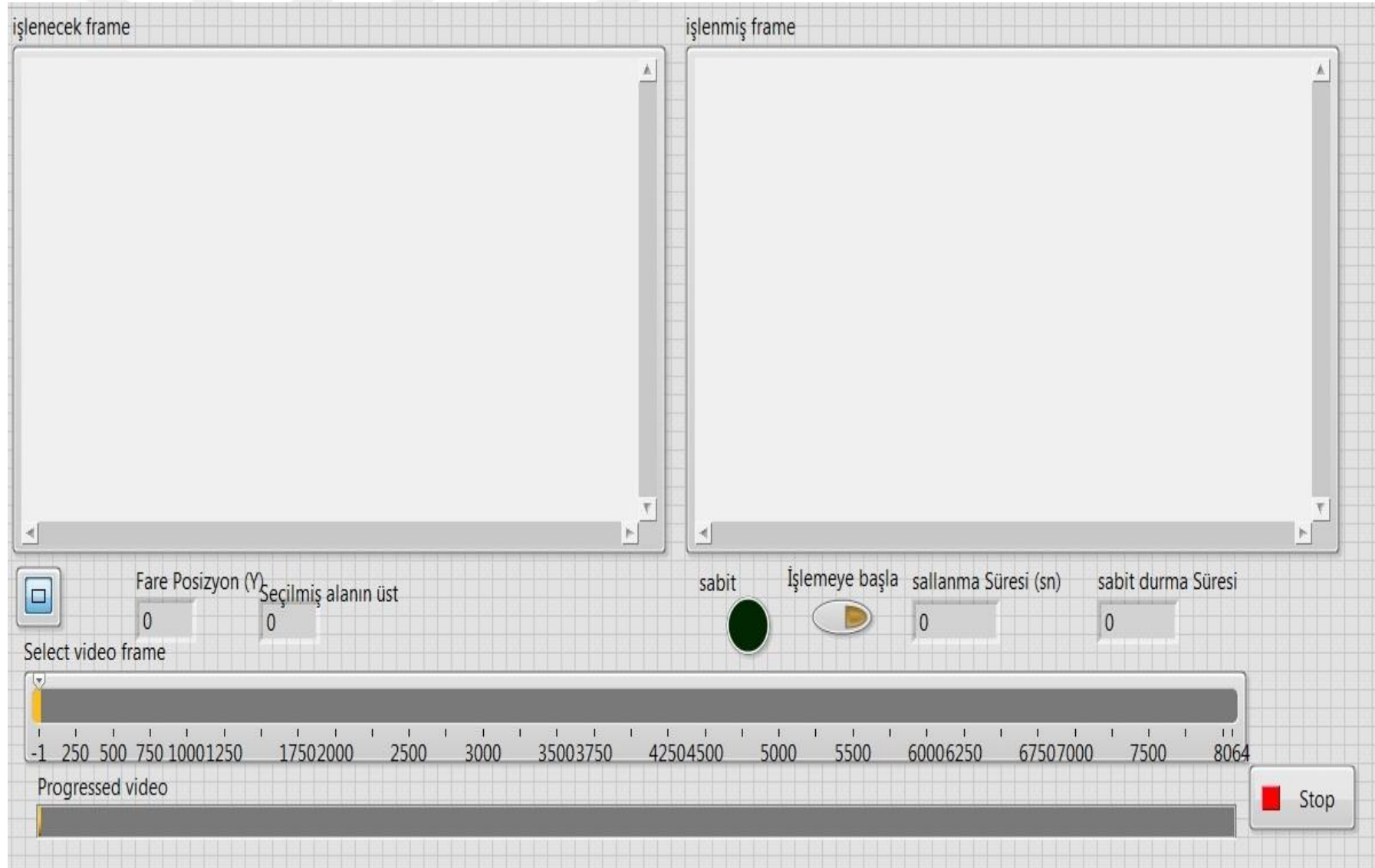
Progressed video

Stop

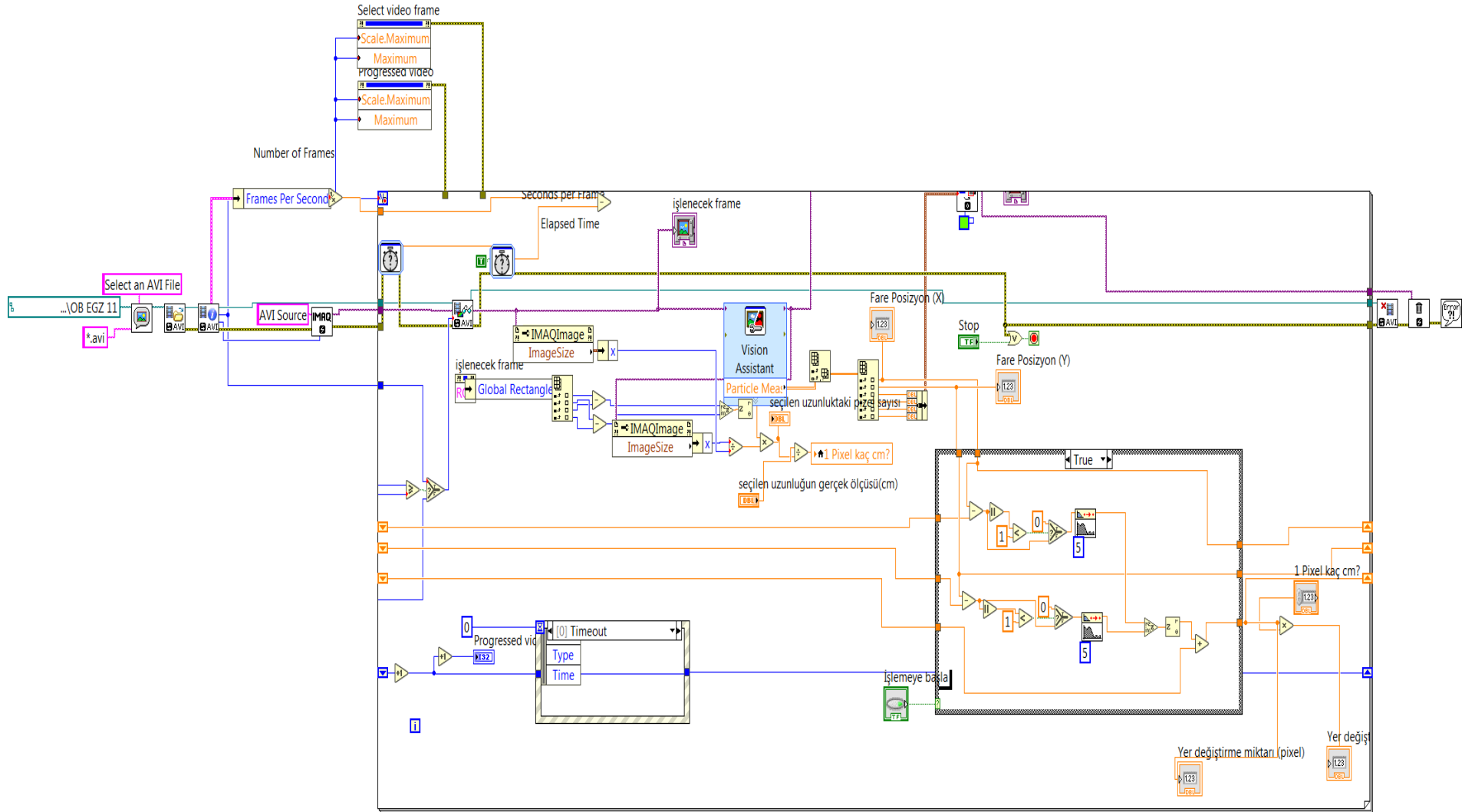
Ek 3: Kuyruktan Asma Testi Blok Diyagramı



Ek 4: Kuyruktan Asma Testi Ön Panel



Ek 5: Açık Alan Testi Blok Diyagramı



Ek 6: Açık Alan Testi Ön Panel

işlenecek frame

seçilen uzunluktaki pizel sayısı 1 Pixel kaç cm?

seçilen uzunluğun gerçek ölçüsü(cm)

Fare Posizyon (X)

Fare Posizyon (Y)

işlenmiş frame

Select video frame

İşlemeye başla

Yer değiştirme miktarı (pixel)

Yer değiştirme miktarı (cm)

Progressed video

Stop

9. ÖZGEÇMİŞ

15.08.1991 yılında İstanbul'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2009-2012 yılları arasında Bilgisayar Öğretmenliği, 2012-2013 yılları arasında Biyomühendislik, 2013-2015 yılları arasında Mekatronik Mühendisliği okudum ve 2015 yılında mezun oldum. 2015 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Aynı yıl Fırat Tekonkent bünyesinde mühendis olarak çalıştım. İki tubitak projesinde görev yaptım.