

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



ERKEK SIÇANLARDA, SÜTTEN KESİLDİKTEN
SONRA ASPROSİN UYGULAMASININ YEM, SU
TÜKETİMİ, KİLO ALIMI VE ENERJİ
METABOLİZMASINDA ETKİLİ HORMONLAR
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Samet Ramazan KOÇOĞLU

2022

ONAY SAYFASI

.....

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans

Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Emine KAÇAR

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım 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.

Samet Ramazan KOÇOĞLU

24/12/2021

Danışman

Doç. Dr. Emine KAÇAR

Fizyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel ve akademik tecrübesiyle bana daima yol gösterip desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Emine KAÇAR'a,

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR'a, deney aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. İhsan SERHATLIOĞLU'na, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Sayın Prof. Dr. Sinan CANPOLAT'a, Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlileri Dr. Nazife ÜLKER'e, Dr. Ahmet YARDIMCI'ya,

Bütün zorlu zamanlarımda olduğu gibi bu süreçte de yanımda olduğunu hissettiren, en büyük destekçim, yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Hacer KOÇOĞLU'na,

Tez süresince göstermiş oldukları manevi destekleri için Biyofizik ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans, doktora ve uzmanlık eğitimini devam ettiren tüm arkadaşlarıma,

Ömrüm boyunca benden maddi manevi desteğini esirgemeyen anne ve babama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı ile 220S744 numaralı proje kapsamında destekleyerek yüksek lisans tezimin gerçekleşmesini sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1.ÖZET.....	1
2.ABSTRACT	3
3.GİRİŞ	5
3.1. Beslenme ve Enerji Metabolizması	7
3.2. Beslenme ve Enerji Metabolizmasının Düzenlenmesinde Etkili Sistemler	9
3.2.1. Merkezi Sinir Sisteminin Beslenme Üzerindeki Rolü	10
3.2.1.1. Hipotalamusun Beslenme Üzerindeki Rolü.....	10
3.2.1.2. Hipotalamik Çekirdeklerin Beslenme Üzerindeki Etkisi .	12
3.2.1.2.1. Arkuat Nükleus.....	13
3.2.1.2.2. Paraventriküler Nükleus.....	14
3.2.1.2.3. Lateral Hipotalamik Alan.....	15
3.2.1.2.4. Ventromedial Nükleus	15
3.2.1.2.5. Dorsomedial Nükleus	16

3.2.2. Nöropeptiderjik Sistemin Beslenme Üzerindeki Rolü	17
3.2.2.1 Nöropeptid Y.....	17
3.2.2.2. Agouti İlişkili Protein (AgRP)	18
3.2.2.3. Pro-Opiomelanokortin Sistemi (POMC)	19
3.2.2.4. Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript	19
3.2.2.5. Oreksinler.....	20
3.2.3. Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Beslenme Üzerindeki Rolü	21
3.2.3.1. Dopamin	21
3.2.3.2. Noradrenalin.....	21
3.2.3.3. Serotonin.....	22
3.2.4. Gastrointestinal Hormonlarının Beslenme Üzerindeki Rolü...	22
3.2.4.1. Ghrelin	22
3.2.5. Yağ Doku Hormonlarının Beslenme Üzerindeki Rolü	24
3.2.5.1. Leptin.....	24
3.2.6. Asprosin.....	26
3.2.6.1. Asprosinin Glukojenik Etkisi.....	27
3.2.6.2. Asprosinin İştah Mekanizması Üzerine Etkisi.....	28
3.2.6.3. Asprosinin DM, İnsülin Direnci ve Obezite Üzerine Etkisi.....	29

3.2.6.4. Asprosinin Miyokardial ve Mikrovasküler Hasar Üzerine Etkisi.....	31
3.2.6.5. Asprosinin Polikistik Over Sendromu (PKOS) Üzerine Etkisi.....	31
3.2.6.6. Asprosinin Metabolik Sendrom Üzerine Etkisi	32
4. GEREÇ VE YÖNTEM	33
4.1. Deney Hayvanları ve Bakımı	33
4.2. Deney Hayvanlarının Beslenmesi.....	33
4.3. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	34
4.4. Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Takibi.....	34
4.5. Hayvanların Yem ve Su Tüketimlerinin Belirlenmesi.....	35
4.6. ELISA Yöntemi.....	35
4.7. İstatistiksel Analiz.....	37
5.BULGULAR.....	38
5.1. Yem Tüketimi.....	38
5.2. Su Tüketimi	41
5.3. Ağırlık Değişimi	43
5.4. Serum hormon seviyeleri	46
5.5. Doku Ağırlıkları.....	59
6.TARTIŞMA.....	60
7. KAYNAKLAR	67
8. ÖZGEÇMİŞ	76

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kullanılan sıçan yeminin içeriği (%).....	33
Tablo 2. Kümülatif olarak hesaplanan günlük yem tüketim ortalamaları (g/100 g CA).....	38
Tablo 3. Kümülatif olarak hesaplanan günlük su tüketim ortalamaları (mL)	41
Tablo 4. Günlük vücut ağırlığı yüzde değişim ortalamaları.....	44
Tablo 5. Asprosin uygulamasının serum hormon seviyeleri üzerine etkisi.....	47
Tablo 6. Asprosin uygulamasının böbrek ve karaciğer ağırlıkları üzerine etkisi (mg/100 gr Vücut Ağırlığı)	59

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Hipotalamusa gelen ve enerji dengesini sağlayan periferik sinyaller	11
Şekil 2 Hipotalamik çekirdekler ve fizyolojik rolleri	13
Şekil 3. İştah üzerine etkili hormonlar	17
Şekil 4. Asprosinin etki ettiği dokular ve etki mekanizması.....	27
Şekil 5. Asprosinin Tip 2 DM hastalığı ile ilişkisi	30
Şekil 6. Kontrol ve asprosin gruplarının 69 günlük dönemde kümülatif olarak tükettikleri yem miktarları.....	40
Şekil 7. Kontrol ve asprosin gruplarının 69 günlük dönemde kümülatif olarak tükettikleri su miktarları.....	43
Şekil 8. Kontrol ve asprosin grubu arasında 69 günlük dönemde vücut ağırlıklarının değişimi	46
Şekil 9. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum glukoz seviyesi üzerine etkisi.....	48
Şekil 10. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum insülin seviyesi üzerine etkisi.....	49
Şekil 11. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum leptin seviyesi üzerine etkisi.....	50
Şekil 12. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum ghrelin seviyesi üzerine etkisi.....	51
Şekil 13. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum GH seviyesi üzerine etkisi.....	52

Şekil 14. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum TSH seviyesi üzerine etkisi.....	53
Şekil 15. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum asprosin seviyesi üzerine etkisi.....	54
Şekil 16. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum kortikosteron seviyesi üzerine etkisi.....	55
Şekil 17. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum LDL seviyesi üzerine etkisi.....	56
Şekil 18. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum HDL seviyesi üzerine etkisi.....	57
Şekil 19. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum TG seviyesi üzerine etkisi	58
Şekil 20. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının böbrek ve karaciğer ağırlıkları üzerine etkisi.....	59

KISALTMALAR LİSTESİ

AgRP:	Aqouti-related Neuropeptid
AMP:	Hipotalamik 5-Adenosine Monophosphate
AMPK:	Aktive Edilmiş Protein Kinaz
α-MSH:	α -Melanosit Uyarıcı Hormon
CRH :	Kortikotropin Serbestleştirici Hormon
cAMP :	Siklik Adenozin Monofosfat
CRH:	Kortikotropin Serbestleştirici Hormon
CART:	Kokain-Amfetamin İlişkili Transkript
CA:	Canlı Ağırlık
DM:	Diabetes Mellitus
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FÜDAM :	Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
FBN1:	Profibrillini Kodlayan Gen
GABA:	Gamma-Aminobütirik Asit
GH:	Growth Hormon
GHS:	Büyüme Hormonu Salgılatıcıları
GHIH:	Büyüme Hormonu Baskılayıcı Hormon
GHRH:	Büyüme Hormonu Serbestleştirici Hormon
GnRH:	Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
HDL:	High Density Lipoprotein
IUGR:	İntrauterin Büyüme Geriliği
İ.p:	İntraperitoneal
İ.c.v:	İntraserebroventriküler
JAK/STAT :	Janus Kinaz/Sinyal Transdüserleri ve Transkripsiyon Aktivatörleri
LDL:	Low Density Lipoprotein
MC4R:	Melanokortin 4 Reseptörü
MCH:	Melanin Konsantre Edici Hormon
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
NPS:	Neonatal Progeroid Sendromu

NTS:	Nükleus Traktus Solitarus
NPY:	Nöropeptid Y
POMC:	Proopiomelanokortin
PKOS:	Polikistik Over Sendromu
PIF:	Dopamin ve Prolaktin İnhibe Edici Faktör
TSH:	Troid stimüle hormon
TG:	Trigliserid
TRH:	Tritropin serbestleştirici hormon
DSÖ:	Dünya Sağlık �rg�t�



1.ÖZET

Asprosin büyük oranda beyaz yağ dokusundan salgılanan enerji metabolizmasında etkinliği olduğu düşünülen 140 aminoasitli yeni bir adipokindir. Literatürde asprosin ile ilgili yapılan çalışmalarda, obez insan ve hayvanların patolojik olarak serum asprosin konsantrasyonlarının yüksek seyretmesi, asprosinin obezite ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Asprosin ile ilgili yapılan araştırmaların çoğunluğu, obeziteye odaklanmış olsa da diyabet ve insülin direnci, metabolik sendrom, PKOS gibi pek çok hastalığın patogeneğinde de asprosinin rol alabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Asprosinin enerji metabolizmasında etkinliği ve obeziteyle ilişkilendirilmiş olması, asprosinin iştah ve kilo alımı üzerine etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda çalışmamız sütten kesildikleri gün olan 21.günden itibaren günlük düzenli olarak asprosin uygulanan sağlıklı erkek sıçanların; yeme-içme davranışlarının ve ağırlık değişimlerinin günlük takibi yapılarak, sıçanlarda asprosin uygulamasının ağırlık değişimine, yem-su tüketimine ve enerji metabolizmasında etkin rolü olan hormonlar üzerindeki olası etkilerini ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Bu amaçla çalışmamızda, sütten kesildikleri 21. günde ortalama 35 ± 2 gram olacak şekilde Sprague-Dawley ırkı 24 erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar kontrol ve asprosin olmak üzere (her grup için $n=12$) iki ana gruba ayrılarak, asprosin grubuna her gün 13:00-15:00 saatleri arasında intraperitoneal olarak (500 ng/kg) asprosin uygulandı. Kontrol grubuna asprosin grubunda olduğu gibi her gün aynı saatlerde intraperitoneal (1ml/kg) serum fizyolojik uygulandı. Her iki gruptaki hayvanların her gün saat 13:00 saatlerinde yem, su tüketimi ve ağırlık değişimi takipleri

yapılarak kayıt altına alındı. Çalışma sonunda dekapite edilen hayvanlardan alınan kan örneklerinden ELISA kitiyle çalışılmak üzere asprosin, leptin, ghrelin, insülin, TSH, GH ve kortikosteron düzeyleri incelenmiştir. Biyokimyasal olarak lipid profili LDL, HDL ve TG düzeyleri incelendi. Elde edilen veriler doğrultusunda; kontrol grubuna oranla asprosin uygulamasının sağlıklı erkek sıçanlarda yem, su tüketimlerinde ve ağırlıklarında artış sağladığı ancak istatistiksel bir farklılık olmadığı görüldü. Serum hormon seviyelerine bakıldığında asprosin grubunda kontrol grubuna oranla kortikosteron seviyelerinde anlamlı artış olduğu görülmüştür. Biyokimyasal olarak incelendiğinde LDL seviyelerinin asprosin grubunda istatistiksel olarak daha düşük seyrettiği tespit edildi.

Sonuç olarak sağlıklı erkek sıçanlarda asprosin uygulanmasının gıda alımına ve ağırlık değişimine anlamlı etkisinin olmadığı ayrıca asprosin alan grubun kortikosteron seviyelerinde anlamlı olarak artış tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Asprosin, İştah, Ağırlık değişimi

2.ABSTRACT

Investigation of the Effects of Asprosin Application on Feed, Water Consumption, Weight Gain and Hormones Effective in Energy Metabolism in Male Rats After Weaning

Asprosin is a new adipokine with 140 amino acids, which is thought to be effective in energy metabolism, mostly secreted from white adipose tissue. In studies on asprosin in the literature, the pathologically high serum asprosin concentrations of obese humans and animals revealed that asprosin is associated with obesity. Although most of the studies on asprosin have focused on obesity, there are studies showing that asprosin may play a role in the pathogenesis of many diseases such as diabetes and insulin resistance, metabolic syndrome, and PCOS. The effectiveness of asprosin in energy metabolism and its association with obesity suggest that asprosin may have an effect on appetite and weight gain. Considering these data, our study included healthy male rats administered asprosin daily starting from the 21st day of weaning; It was aimed to reveal the possible effects of asprosin administration on weight change, feed-water consumption and hormones that have an active role in energy metabolism in rats by daily monitoring of eating-drinking behaviors and weight changes. For this purpose, 24 male Sprague-Dawley rats weighing 35 ± 2 grams on the 21st day of weaning were used in our study. The animals were divided into two main groups ($n=12$) as control and asprosin, and asprosin was administered intraperitoneally (500 ng/kg) to the asprosin group between 13:00 and 15:00 every day. As in the asprosin group, intraperitoneal (1 ml/kg) saline was applied to the control group at the same times every day. Feed,

water consumption and weight changes of the animals in both groups were monitored every day at 13:00 and recorded. At the end of the study, asprosin, leptin, ghrelin, insulin, TSH, GH and corticosterone levels were examined from the blood samples taken from the decapitated animals to be studied with the ELISA kit. Biochemically, lipid profile, LDL, HDL and TG levels were examined. In line with the data obtained; Compared to the control group, asprosin administration increased the feed and water consumption and weight of healthy male rats, but there was no statistical difference. When the serum hormone levels were examined, it was observed that there was a significant increase in corticosterone levels in the asprosin group compared to the control group. When analyzed biochemically, LDL levels were found to be statistically lower in the asprosin group. As a result, it was determined that the administration of asprosin in healthy male rats did not have a significant effect on food intake and weight change, and there was a significant increase in corticosterone levels in the group that received asprosin.

As a result, it was determined that the administration of asprosin did not have a significant effect on food intake and weight change in healthy male rats, and there was a significant increase in corticosterone levels in the group that received asprosin.

Keywords: Asprosin, Appetite, Change of weight

3.GİRİŞ

Büyüme ve gelişme, yaşamın sürdürülmesi, sağlığın korunması veya iyileştirilmesi, yaşam kalitesinin artırılması, sağlıklı beslenme sayesinde gerçekleşmektedir. Dünya genelinde yetersiz veya aşırı beslenme ile ilişkili hastalıklarının prevalansında önemli derecede bir yükseliş görülmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda obezite başta olmak üzere birçok sistemik hastalıklara yol açan spesifik olmayan beslenme problemleri, ciddi halk sağlığı sorunları arasında yer almakta ve insanların yaşam kalitesini ve süresini negatif yönde etkilemektedir (1, 2).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, 2016 senesinde 18 yaşından büyük bireylerin 1.9 milyardan fazlasının aşırı kilolu ve bunların 650 milyondan fazlası obez olduğu belirtilmektedir. Bu veriler dünya yetişkin nüfusunun %39'unun aşırı kilolu ve %13'ünün obez olduğunu göstermektedir (3). Obezite prevalansının artması beraberinde kronik veya metabolik hastalıkların sıklığının da artmasına neden olmaktadır. Obezitenin; insülin direnci, Diabetes Mellitus (DM), hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, kalp yetmezliği, inme, solunum problemleri, uyku apnesi ve kanser gibi birçok hastalığın da ortaya çıkışına zemin hazırladığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (4-7).

Günlük olarak vücuda alınan enerji miktarının harcanan enerjiden daha fazla olması halinde, kullanılmayan enerji vücutta yağ olarak birikmekte ve bireyin aşırı kilo alımına dolayısıyla obezite veya birçok metabolik hastalığa sebebiyet vermektedir (8). Multifaktöryel ve karmaşık bir etiyolojisi olan obezite, vücuda

alınan ve kullanılan enerji arasındaki dengenin bozulması sonucu vücutta sağlığı bozacak derecede aşırı ve anormal yağ birikimi olarak tanımlanmaktadır (9, 10).

Vücut ağırlığının normal seviyelerde tutulmasının yanı sıra enerji metabolizmasının sürdürülebilmesi bir takım karmaşık sistemler ile sağlanabilmektedir. Bu karmaşık sistemler, yüksek kortikal merkezlerin yanı sıra alınan besinin enerji değeri, açlık ve tokluk nöron sinyallerini ileten periferik alanlardan oluşmaktadır. Enerji homeostazisi ve beslenme tutumlarının düzenlenmesinde en önemli beyin bölgelerinden biri hipotalamustur (11). Hipotalamusa projekte olan nöropeptit sinyallerinin, beslenmeyi uyardığı (oreksijenik etki) veya engellediği (anoreksijenik etki) gösterilmiştir (12). Bu peptidlerin her birinin diğerlerinden etkilendiği ve çevresel sinyallere karşı duyarlı olduğu bilinmektedir. Hipotalamus ayrıca beslenmede önemli olan sindirim sistemi, yağ dokusu ve beyin sapı kaynaklı sinyallerin alındığı ve sonuçlandırıldığı nöronal çekirdeklere sahiptir (13). Enerji homeostazı, beslenme davranışının düzenlenmesi ve vücut enerji depolarının durumu hipotalamusun duyarlılığı ile sağlanmaktadır (14).

Asprosin yağ dokusundan sentezlenen 140 aminoasitli yeni bir adipokindir. Asprosin kan beyin bariyerini geçer ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) ikinci haberci sistemi ile aqouti-related neuropeptid (AgRP) nöronlarını uyarır ve böylece oreksijenik etki oluşturur. Oreksijenik etkinin ortaya çıkmasında proopiomelanokortin (POMC) nöronlarının inhibisyonu da etkilidir. Bunun sonucunda, iştahın uyarılmasıyla vücutta yağ birikimi ve vücut ağırlığında artış gerçekleşir (15). Açlık esnasında ise karaciğerden glukozun kana salınması ile eş zamanlı olarak asprosinin kan düzeyinde artış görülmekte yemek yemeyi takiben

asprosin düzeyi tekrar düşmektedir. Eş zamanlı fakat ayrı mekanizmalarla karaciğerde glukoz salınımı ve hipotalamus üzerindeki etki ile iştahın uyarılması söz konusudur (16).

Enerji metabolizmasında etkinliği ve iştah arttırıcı özelliği olan ve doğrudan ya da dolaylı yoldan beslenmeyi etkilediği düşünülen Asprosin hormonunu ile ilgili literatürde yeterince çalışma bulunmamaktadır. Diyabet, obezite ve metabolik sendromda daha yüksek olduğu tespit edilen asprosinin, bu hastalıkların tedavisinde hedeflenmesi gereken bir molekül olabileceği belirtilmektedir. Bu çalışmada günlük düzenli asprosin uygulamasının; erkek sıçanlarda yem tüketimi, su alımı, vücut ağırlık değişimi gibi metabolik verilere etkisi ile enerji metabolizmasında etkinliği olan leptin, ghrelin, insülin, tiroid stimüle hormon (TSH), growth hormon (GH), kortikosteron, trigliserid (TG), low density lipoprotein (LDL) ve high density lipoprotein HDL gibi biyokimyasal parametrelerin üzerine olan etkisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

3.1. Beslenme ve Enerji Metabolizması

Beslenme davranışı; alınan besinin miktarını, yemek vakitlerini ve sirkadyen ritmini homeostatik (enerji ihtiyacı için oluşan biyolojik açlık durumu) veya hedonik (enerji ihtiyacı olmaksızın haz amaçlı oluşan açlık) yollarla alınacak besinin seçimi gibi çok farklı olayları etkileyen ve kontrol eden genetik, fizyolojik ve sosyal faktörlerin karmaşık bir etkileşimiyle düzenlenir (17). Besinin vücuda alınması ile besinin sindirilmesi, taşınması, kullanılması ve depolanması için çeşitli nöronal sinyallerle ve endokrinlerjik yollarla bilgilendirilen beyin merkezi bölgeleri; otonomik, hormonal ve davranışsal sinyaller üreterek vücudun enerji dengesini düzenlemektedir (18).

Vücut kompozisyonu ve toplam ağırlığının dengelenmesi için kişinin enerji alımı ve enerji tüketiminin belirli bir oranda olması gerekmektedir. Beslenme ile alınan enerjinin %27'si hücrelerin işlevsel fonksiyonları için kullanılırken; geriye kalan büyük oranı proteinlerin sentezi-yıkımı, iyon dengesinin korunması, doku-organ aktiviteleri ve fiziksel aktiviteler için harcanır. Ayrıca bunun sonucunda harcanan enerji ısıya dönüşür. Enerji alımı uzun süre enerji kullanımından fazla olursa, vücuttaki fazla enerji yağa dönüşerek vücut kütesini artırır. Eğer enerji alımı vücudun metabolik ihtiyaçlarını karşılayacak seviyeden az ise enerji tüketimi enerji alımına eşitleninceye kadar vücudun toplam kütesinde azalma meydana gelir (19) .

Dinlenme halindeki 70 kg'lık yetişkin bir bireyin bazal metabolizma hızı yaklaşık 2100 kcal/gün olarak hesaplanmaktadır. Bu enerji; temel hücresel süreçlerin devamlılığının sağlanması için ve vücut sıcaklığı, kalp atışı, bağırsak motilitesi, akciğer ventilasyonu gibi vücudun hayati fonksiyonlarının yerine getirilmesi için harcanmaktadır. Herhangi bir aktivitede enerji harcanması ise vücudun dinlenme halindeki daha fazla enerji harcanmaktadır. Egzersiz veya fiziksel hareketlilik, 24 saatlik toplam enerji tüketimi üzerine büyük bir etkiye sahiptir. Ayrıca tüketilen enerji insandan insana, günden güne farklılık gösterebilmektedir.

Egzersiz veya fiziksel aktivite olarak kabul edilmeyen, egzersiz ile alakasız termogenez olarak adlandırılan uyuma yeme ve spor benzeri hareketler haricinde tüketilen enerji (otururken ayağa dokunmak, ders sırasında etrafa bakınmak, klavyede yazı yazmak gibi) kişiler arasında 3 ile 10 kat arasında değişiklik gösterebilmektedir. Yirmi dört saatte 500 kcal'ı aşabilen bu enerji tüketiminin aynı

miktarda kalori alımı olan kişilerde bile farklı kilo artışlarına sebep olabileceği gösterilmiştir.

Diyetle indüklenen termogenez ise her besin alımında organizmanın harcadığı enerjiyi kastetmektedir. Günlük ortalama kalori tüketiminin yaklaşık %10'u gıdaların sindirimi, emilimi ve depolanması için kullanılmaktadır. Bu kalori tüketimi alınan besinlerin türüne göre değişebilmektedir. Buna örnek olarak protein içeren besinler, karbonhidrat ya da yağ içeren besinlerden daha yüksek bir termojenik etkiye sahiptir. Dolayısıyla protein metabolizması için daha çok enerji harcanması gereklidir (20).

3.2. Beslenme ve Enerji Metabolizmasının Düzenlenmesinde Etkili Sistemler

Vücut enerji homeostazisini sağlamak için vücuttaki enerji depolarındaki değişimleri algılayarak, besin alımı ve enerji tüketimini kısa ve uzun vadeli çeşitli kontrol mekanizmaları ile düzenlemektedir. Enerji depolarındaki eksiklik, çeşitli mekanizmalar ile açlığa yol açmakta ve bireyi besin alımına yöneltmektedir (18). Açlık hissi midedeki huzursuzluk ve ritmik kasılmalar gibi fizyolojik mekanizmalar ile ortaya çıkmaktadır. İştah ise geçmişteki besin deneyimlerine dayanarak besinin özelliklerini seçme konusunda bireye yardımcı olan belli bir gıdaya karşı olan istek hissini belirtmektedir. Vücudun besin ihtiyacının karşılanmasıyla tokluk hissi oluşmaktadır. Bu his ve davranışların hepsi çevresel, sosyokültürel, biyolojik ve fizyolojik faktörlerden etkilenmektedir. Bu etkilenmeler sonucunda merkezi sinir sisteminde (MSS) beslenmeyi ve enerji metabolizmasını düzenlemek için özgün uyarılar oluşmaktadır (19, 21).

3.2.1. Merkezi Sinir Sisteminin Beslenme Üzerindeki Rolü

Besin alımının düzenlenmesi; monoaminerjik, nöropeptiderjik ve endokannabinoid gibi çeşitli sistemlerin MSS ile etkileşimiyle düzenlenmektedir. Bunun yanı sıra MSS, gıda alımının başlatılmasındaki duysal deneyimlerle birlikte yutma, besinlerin emilimi, metabolizma ve enerji depolanması gibi olayları da kontrol altında tutan geniş bir sinir ağını içermektedir. Özetle enerji homeostazisi; gastrointestinal sistem, pankreas ve yağ dokudan gelen periferik sinyallerin, beyin sapı ve hipotalamustaki özgün merkezlere iletilerek açlık veya tokluk geri bildirim sinyallerinin oluşturulmasıyla sağlanmaktadır (19, 22).

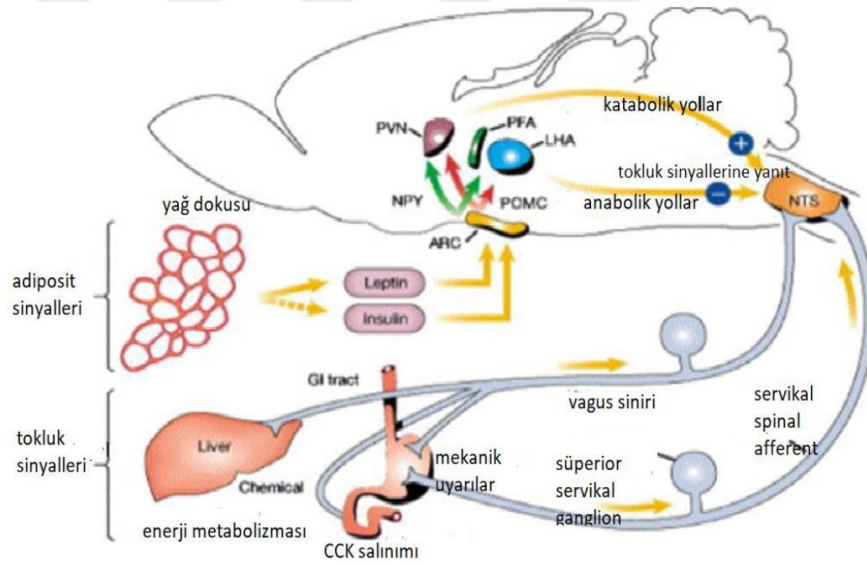
3.2.1.1. Hipotalamusun Beslenme Üzerindeki Rolü

Hipotalamus, beyin kütlelerinin %1'inden azını oluşturduğu halde vücutta enerji dengesini sağlayan çoğu mekanizmanın kontrol odağıdır. Hipotalamus çoğu beyin bölgesi ile zengin bir bağlantı halindedir. Endokrin sistem ile üst beyin arasındaki bağlantı hipotalamus sayesinde kurulmaktadır. Buna ek olarak da davranışsal, otonomal ve hormonal durumları düzenlenmektedir. Ayrıca sirkadiyen ve mevsimsel ritmi, homeostatik mekanizmaları kontrol etmektedir. Örneğin; Susama, acıkma, cinsel davranış, vücut sıcaklığının düzenlenmesi, sempatik sinir sistemin ve hipofiz bezinin denetlenmesi hipotalamus sayesinde gerçekleşmektedir (23).

Hipotalamus ayrıca endokrin bir bez olarak görev yapmaktadır. Büyüme hormonu serbestleştirici hormon (GHRH), kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH), büyüme hormonu baskılayıcı hormon (GHIH), tritropin serbestleştirici

hormon (TRH), gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH), dopamin ve prolaktin inhibe edici faktör (PIF) hipotalamusta sentezlenmektedir (24, 25).

Hipotalamus gastrointestinal kanaldan gelen mekanik duysal iletileri (midenin boş veya dolu olması), kanda taşınan besin maddelerinin kimyasal sinyalleri (glukoz, amino asitler ve yağ asitleri), gastrointestinal hormonlardan gelen sinyalleri, yağ dokusundan salınan hormonlardan gelen sinyalleri (asprosin gibi), beslenmeyi dengeleyen beyin korteksinden kaynaklanan sinyalleri (görme, koku ve tat) de almaktadır (19, 26). Hipotalamusa gelen bu sinyallerin bir kısmı Şekil 1’de gösterilmiştir.



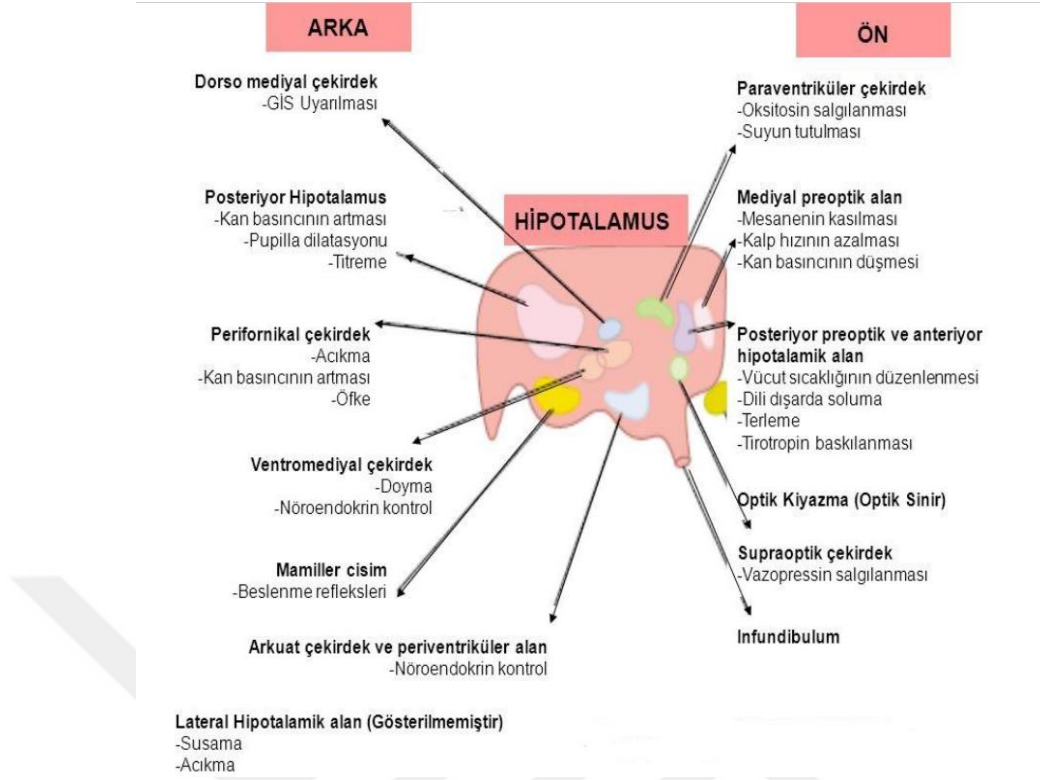
Şekil 1. Hipotalamusa gelen ve enerji dengesini sağlayan periferik sinyaller

Gastrointestinal sistemden MSS’e beslenme ile alakalı bilgi aktarımını sağlayan en önemli yolak vagus siniridir. Vagus sinirinin afferent sinir lifleri, gastrik kanaldan ve mideden aldığı sinyalleri beyin sapına iletmektedir. Beyin sapına projekte olan bu sinyaller nükleus traktus solitarus (NTS) tarafından hipotalamus ve ilgili beyin odaklarına gönderilmektedir (27). MSS’e gelen bu

afferent sinyaller gıda alımının düzenlenmesini sağlayan nöroendokrinlerjik sistemleri uyarır. Eskiden beri yapılan araştırmalar, hipotalamusun beslenmenin düzenlenmesi ve metabolizmanın kontrolünde çok çeşit peptid ve hormon aracılığıyla etkin rol oynadığı gösterilmiştir (28).

3.2.1.2. Hipotalamik Çekirdeklerin Beslenme Üzerindeki Etkisi

Enerji homeostazisi ve besin alımının kontrolünü sağlayan hipotalamus, birçok nöronal çekirdekten meydana gelmiştir. Hipotalamik nükleuslar aksonal uzantılar yoluyla etkileşim halindedir ve yağ dokusu ile gastrointestinal sistemden kaynaklanan periferik açlık ve tokluk hissinin sinyallerine karşı oluşacak beslenme yanıtını şekillendirmektedir (29, 30). Paraventriküler nükleus, dorsomediyal nükleus, ventromedial nükleus, lateral hipotalamik alan ve arkuat nükleus beslenmeyi düzenleyen ve enerji dengesini sağlayan temel çekirdeklerdir. Hipotalamusta yer alan nükleuslar ve bu nükleuslar tarafından kontrol edilen metabolik olaylar şekil 2’de gösterilmektedir (31, 32).



Şekil 2 Hipotalamik çekirdekler ve fizyolojik rolleri

Deney hayvanlarında oluşturulan hipotalamik hasarlar sonucu, beslenmenin merkezi kontrolünü açıklayan “çift merkezli alan” hipotezi ortaya çıkmıştır. Bu teorilerden biri “doyma merkezi” olarak adlandırılan ventromedial nükleustur. Diğeri ise “açlık merkezi” olarak adlandırılan lateral hipotalamik alandır. Lateral hipotalamik alanın deneysel olarak hasarlanması sonucu gıda alımında azalma ve iştahsızlık gözlemlendiği, ventromedial çekirdeğin lezyonlarında ise iştahta ve kiloda artma meydana geldiği rapor edilmiştir (33-35).

3.2.1.2.1. Arkuat Nükleus

Hipotalamik arkuat çekirdek iştahı ve enerji homeostazisini düzenleyen birçok merkezi nöronların ve periferik sinyallerin toplandığı yerdir. Arkuat

çekirdek nöronları önemli derecede etkileşim halindedirler ve insülin, leptin, ghrelin ve kolesistokinin gibi iştaha etkisi olan hormonların temel hedef noktasıdır.

Arkuat çekirdeğinde fonksiyonel olarak birbirinden farklı, iştah ve enerji dengesini kontrol eden iki ayrı nöron tipi bulunmaktadır. Bunlardan birincisi proopiyo-melanokortin (POMC) nöronlarıdır. POMC, kokain-amfetamin ilişkili transkript (CART) ve α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) salgılanmasını sağlamaktadır. Bunun etkisiyle vücudun besin alımını azaltır ve enerji tüketimini artırır. İkinci olarak nöropeptid Y (NPY) ve agouti-ilişkili protein (AgRP) üreten nöronlardır. Bu nöronlar ise gıda alımını artırır, enerji tüketimini azaltır (29, 36).

3.2.1.2.2. Paraventriküler Nükleus

Enerji metabolizması ve iştahın düzenlenmesinde paraventriküler alan çok sayıda nöroendokrinetik sinyali alan hipotalamus çekirdeklerinden biridir. Özellikle arkuat çekirdekteki NPY/AgRP ve POMC/CART nöronları ile lateral hipotalamik alanda yer alan oreksin nöron sinyalleri paraventriküler çekirdeğe uğramaktadır (37). Bu sinyaller paraventriküler çekirdekten çıktıktan sonra beyin sapı, omurilik, korteks, talamus ve ön hipofiz gibi beslenme ve enerji üzerinde etkili birimlere ulaşmaktadır. Bunun sonucunda besin alımı baskılanırken enerji tüketimine yönelik mekanizmalar uyarılmış olur (38).

Deneyisel olarak bilateral paraventriküler çekirdeklerinde lezyon oluşturulan sıçanlarda besin alımının aşırı derecede arttığı ve aşırı kilo alımının gerçekleştiği görülmüştür (39). Bunun yanı sıra paraventriküler çekirdek, NTS'den gelen tokluk sinyallerinin sonlandığı yer olarak da bilinmektedir (40). Kolesistokinin ve leptin gibi periferik peptidlere cevap olarak paraventriküler

çekirdekdeki nöron aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Buna karşın oreksinerjik sinyallerden sorumlu NPY ve ghrelinin benzer bir etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Leptinin paraventriküler çekirdek yoluyla gıda alımı ve iştahı azaltıcı etkisinde α -MSH etkinliği gösterilmiştir. Öyleki, leptin arkuat nükleustan α -MSH salınımını uyarır ve bu sinyaller paraventriküler çekirdeğe projekte olur. α -MSH düzeyindeki artış paraventriküler çekirdekte yer alan melanokortin 4 reseptörünü (MC4R) uyarmaktadır (41-43).

3.2.1.2.3. Lateral Hipotalamik Alan

Vücut ağırlığının azalmasına yanıt olarak lateral hipotalamik alanın uyarılması besin alımını arttırmakta ve enerji tüketimin azaltmaktadır. Bunun etkisiyle yağ depoları arttırılarak kilo alımının arttırılmasına çalışılmaktadır. Deneysel lateral hipotalamik alan hasarının anoreksi ile sonuçlandığı, gıda alımının azaldığı, kilo kaybının gerçekleştiği bildirilmiştir (34).

Bu çekirdek bir yandan, aynı nöronal merkezde yer alan ve iştahı arttıran oreksin ve melanin konsantre edici hormon (MCH) sinyalleri ile uyarı alırken diğer taraftan arkuat çekirdekten oreksijenik sinyaller almaktadır. Magnoselüler nöronlarda üretilen MCH beslenmenin düzenlenmesinde önemli bir nöropeptittir. Sıçanlara kronik MCH enjekte edilmesinin lateral hipotalamik alan yoluyla gıda alımını ve vücut yağ kütlelerini arttırdığı bildirilmiştir (44, 45).

3.2.1.2.4. Ventromedial Nükleus

Hipotalamik çekirdeklerden ventromedial nükleus “doyma merkezi” olarak tanımlanmakta ve besin alımı üzerinde baskılayıcı bir etkisi vardır. Bray ve

arkadaşları deneysel ventromedial nükleus hasarının sıçanlarda iştahı arttırdığını ve obeziteye neden olduğunu bulmuşlardır (46). Fakat daha sonraki bazı araştırmalarda aynı sonuç elde edilememiştir. İnsanlarda yapılan bir araştırmada oral yoldan glukoz verilmesinin ventromedial çekirdek nöronlarını uyardığı gözlenmiştir. Bu araştırma sonuçları ventromedial çekirdekte glukoz duyarlı nöronların var olduğunu göstermektedir (47). Ghrelin ve leptin gibi vücudun merkezi sinir sistemi düzeyinde açlık veya tokluk hissinin oluşumundan sorumlu nöropeptidlerin, ventromedial nükleusun nöron aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Leptin aracılı POMC nöronlarının aktivasyonu ve NPY sentezinin baskılanması ventromedial nükleusun anoreksijenik etkisini açıklamaktadır (48). Sıçan ventromedial nükleusları içine leptinin enjekte edilmesinin vücut ağırlığını ve besin alımını belirgin bir düzeyde azalttığı gözlenmiştir (49). Buna benzer bir araştırmada da ventromedial nükleus içine 50 ng kadar düşük dozda leptin enjeksiyonunun sempatik sistem sinir aktivitesini ve vücut enerji tüketimini arttırdığı rapor edilmiştir (50).

3.2.1.2.5. Dorsomedial Nükleus

Deneysel olarak dorsomedial çekirdeğin uyarılması, gıda alımında uyarıcı ve baskılayıcı etki göstermektedir (51). Sıçanlarda oluşturulan dorsomedial nükleus hasarının iştah artışı ve obezite ile sonuçlandığı gözlenmiştir (51, 52). Dorsomedial nükleusun besin alımını düzenleyici etkisi, bilhassa hipotalamusun arkuat nükleus alanından köken alan ve aktive edildiklerinde gıda alımını arttıran NPY ve AgRP yolları ile düzenlenmektedir (53). Gebe ve laktasyon sürecindeki sıçanlarda iştah artışının bir nedeni olarak dorsomedial nükleus içerisindeki NPY aktivitesinin

artması olduğu rapor edilmiştir (54). Deneysel obezite oluşturulan farelerde kontrol grubuna kıyasla dorsomedial nükleus ve ventromedial nükleusdaki NPY düzeyinin yaklaşık % 40 daha fazla olduğu tespit edilmiştir (55). Bunun aksine CART nöronların dorsomedial nükleusa projekte olarak leptin aracılı gıda alımını baskıladığı da gözlenmiştir (56).

Beslenmeyi Azaltanlar	Beslenmeyi Arttıranlar
Leptin	Nöropeptid Y
İnsulin	Aguti-iliskili protein
Serotonin	Melanin-yoğunlaştırıcı hormon
Norepinefrin	Oreksin A ve B
Kortikotropin serbestleştirici hormon	Endorfinler
Kolesistokinin	Galanin
α -MSH	Glutamat ve GABA
Glukagon-benzeri peptid	Kortizol
Kokain ve amfetamin ilişkili transkript Peptid YY	Ghrelin

Şekil 3. İştah üzerine etkili hormonlar

3.2.2. Nöropeptiderjik Sistemin Beslenme Üzerindeki Rolü

3.2.2.1 Nöropeptid Y

İştah artırıcı etkinliği ön plana çıkan NPY'nin, kalp ve damar fonksiyonları, öğrenme ve bellek, anksiyete gibi birden fazla sistemde fizyolojik rolü olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. NPY, hipotalamustaki besin ve enerji metabolizmasında görevli çoğu çekirdekde görülmekte olup en fazla arkuat çekirdekte yoğunlaştığı bilinmektedir (57, 58). Ghrelin, adiponektin, oreksin hormonlarının NPY nöronlarının aktivitesini sağlayarak besin alımını arttırdığı gösterilmiştir (59-61).

Diğer yandan leptin, amilin ve insülin NPY salınımını baskılayarak besin alımını azaltmaktadır (62, 63).

Kısa süreli iştah mekanizmasından sorumlu olan NPY fizyolojik etkilerini G protein kenetli beş farklı reseptör aracılığıyla düzenlemektedir. Fakat NPY'nin oreksijenik etkisini sağlayan asıl reseptörler Y1 ile Y5 reseptörüdür (64). Sıçanlarda NPY Y1 reseptör agonistlerinin beyin içine enjekte edilmesi besin alımını uyarırken antagonistleri besin alımını baskıladığı bildirilmiştir (65, 66). Diğer bir çalışmada sıçanların paraventriküler çekirdeğine ve lateral hipotalamik alana düzenli bir şekilde NPY enjeksiyonunun besin alımını hızlıca aktifleştirdiği ve tokluk duygusunun oluşunu geciktirdiği görülmüştür. NPY iştah artırıcı etkisini alan besinin miktarında bir artış oluşturarak ve besin alım süresini uzatarak göstermektedir. Bunun yanında yağ birikiminde artış ve termogeneziste azalma, kalori harcanmasında sınırlanma rapor edilmiştir. Bunlar sonucunda yüksek düzeyde hiperfaji gözlenmekte ve obezite oluşma riski artmaktadır (67, 68).

3.2.2.2. Agouti İlişkili Protein (AgRP)

AgRP, arkuat çekirdeğin medial kısmında yer alan farelerde enerji ve iştah dengesinin devamlılığı için gerekli olan besin alımını arttıran oreksijenik bir peptittir. NPY'nin aksine AgRP' nin uyarılması besin alımının uzun süreli düzenlenmesini sağlamaktadır (69).

AgRP, bir yandan ghrelinin iştah artırıcı etkilerine aracılık ederken diğer taraftan leptin ve insülin gibi vücut kütlelerinin kontrolünde kilit rol oynayan iştah azaltıcı peptidlerin etkisini azaltmaktadır (70). Oreksinler ve opioid reseptörlerinin de AgRP'nin iştah arttırıcı etkisine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Deneysel

araştırmalarda yüksek plazma AgRP seviyelerinin obeziteye sebebiyet verdiği, bunun aksine AgRP gen mutasyonlarının ise obezite oluşumunu engellediği gösterilmiştir (71, 72).

3.2.2.3. Pro-Opiomelanokortin Sistemi (POMC)

Beslenmenin ve enerji homeostazisinin düzenlenmesinde görevli POMC, ncelikle α -MSH olmak üzere β -endorfin ve γ -MSH gibi moleküllerin öncül maddesidir. Vücuttaki yağ miktarının artışına bağlı olarak artan leptin seviyelerinin POMC gen aktivasyonu ve POMC türevleri peptidlerin üretimini arttırdığı bilinmektedir (73). POMC aktivasyonuna bağlı olarak artan α -MSH'nın iştah azaltıcı etkisi, merkezi düzeyde MC3 R ve MC4 R olmak üzere iki çeşit reseptör tarafından düzenlenmektedir. Bu reseptörlerin beyinde özellikle hiipotalamik arkuat nükleusta yoğun olduğu bilinmektedir (29).

Leptinin anoreksijenik sinyal uzantılarının paraventriküler çekirdeğe ulaşmasıyla MC4R uyarılır ve besin alımında azalma meydana gelir (74). İlave olarak, MC4R gen bozukluklarının besin alımı ve enerji metabolizmasını negatif yönde etkilediğine dair bulgular bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmada morbid obez insanların % 5'den daha fazlasının MC4R geninde mutasyon olduğu tespit edilmiştir (75).

3.2.2.4. Kokain ve Amfetamin İlişkili Transkript

İştahın düzenlenmesinde CART veya fragmanları baskılayıcı bir rol oynamaktadır. Bu nöronlar periferde ince bağırsağın miyenterik pleksusu, pankreas ve adrenal medulla gibi dokularda gösterilirken beyinde lateral hipotalamik alan ve

paraventriküler çekirdeklerde yaygın bir dağılım göstermektedir (76). Arkuat çekirdekte POMC nöronlarının %90 kadarı CART ile benzer bölgelerde bulunduğu gözlenmektedir. CART sinaptik nöronlarının ghrelin, leptin ve kolesistokinin gibi periferik sinyallerden etkilendiği rapor edilmiştir (77). Leptin, CART nöronlarını uyarak gıda alımını baskılamaktadır. Deneysel olarak leptin eksikliği ya da leptin direnci geliştirilen farelerde CART faaliyetlerinin azaldığı ve aynı araştırmada intra kranial CART enjeksiyonlarının doz ile orantılı olarak gıda alımını azalttığı bildirilmiştir (78). Farklı bir çalışmada, sıçanlarda hipotalamik CART nöron aktivitesinin baskılanmasıyla şiddetli besin alımı gözlenmiş ve sıçanın vücut kütlesinin arttığı raporlanmıştır (79).

3.2.2.5. Oreksinler

Yunanca'da iştah anlamında kullanılan "orexis" sözcüğünden dolayı oreksin adı verilen endojen oreksin sistemi 1998 yılında sıçan lateral hipotalamusta salgılanan iki ayrı (Oreksin-A ve Oreksin-B) peptid grubu olarak bulunmuştur (80). Oreksin-A ve oreksin-B'nin farmakodinamik etkileri kısmen benzer olmasına karşın farmakokinetik özelliklerinde değişiklik görülmektedir. Oreksin A yüksek lipofilik özelliğinden dolayı beyne hızlı bir şekilde difüze olabilmektedir. Oysa oreksin B düşük lipofilik özelliğinden dolayı beyne girememekte ve hızla metabolize edilmektedir. Oreksinlerin G-protein bağımlı OX1 ve OX2 olmak üzere iki farklı reseptörü bulunmuştur (81).

Oreksinlerin arkuat çekirdekte bulunan POMC ve NPY nöronları ile etkileşimde olduğu ve özellikle Oreksin-A'nın gıda alımını tetikleyici etkisinin NPY sinyal yollarıyla iletildiği rapor edilmiştir (82). Fare beyinlerine oreksin

enjekte edilmesinin güçlü bir oreksijenik cevap oluşturduğu ve tokluk duygusunun başlamasını geciktirdiği gözlenmektedir (83). Ayrıca gıda alımını takiben aktifleşen tokluk sinyalleri plazma oreksin düzeyini azaltmaktadır. Araştırmalar, uzun süreli açlık (48-72 saat) şartlarında oluşan hipogliseminin hipotalamustaki oreksin mRNA üretimini önemli bir derecede arttırdığını göstermektedir. Bu, oreksinlerin homeostatik mekanizmalardan etkilendiğini göstermektedir (81).

3.2.3. Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Beslenme Üzerindeki Rolü

3.2.3.1. Dopamin

Beslenme davranışının düzenlenmesinde dopaminin, D1 ve D2 reseptörlerine bağlanarak besin tüketimini ve vücut yağ kütlesini azalttığı bilinmektedir. Besin alımını baskılayıcı etkisini hipotalamik nöropeptit Y düzeyini azaltarak oluşturduğu belirtilmiştir. Deneysel olarak yapılan araştırmalarda obezleştirilen farelerde dopamin agonistlerinin vücut kütlesini azalttığı, öğün sayısı ve miktarını etkilediği gösterilmiştir (84, 85).

3.2.3.2. Noradrenalin

Noradrenalin sinyalleri paraventriküler çekirdek içerisinde NPY ve POMC peptidlerini içeren nöronal merkezlere yakın alanlarda bulunmaktadır. Noradrenalin iştah üzerindeki etkisini, α -adrenerjik reseptörlerin antagonistik etki gösteren iki alt tipi ile gerçekleştirmektedir. α_2 -adrenerjik reseptörlerin uyarılması iştahı arttırırken, α_1 -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasının iştahı azalttığı bildirilmiştir. Bu bilgilerin yanında noradrenalinin iştah azaltıcı etkinliğinin daha

kuvvetli olduğu düşünölmektedir. Bu etkinin oluşumunda noradrenalinin, yağ doku hücrelerinde, β 3-adrenerjik reseptörleri uyarak leptin gen aktivasyonunu negatif etki oluşturması etkilidir (85, 86)

3.2.3.3. Serotonin

Vücudun toplam serotonin düzeyinin yaklaşık %80'i gastrointestinal sistemde bulunan enterokromafin hücreleri tarafından üretilmektedir. Yapılan araştırmalar deney hayvanlarında serotonin sinyal aktivitesinin beslenmeyi ve enerji homeostazisinin düzenlendiğı beyin bölgelerinde aktif olduğunu göstermiştir. Serotonin özellikle 5-HT_{2C} reseptörü aracılığıyla iştahı baskılayıp enerji harcanmasını arttırmaktadır (87, 88). Ayrıca hipotalamusta anoreksijenik POMC nöronlarını uyarırken arkuat çekirdekteki NPY ve AgRP nöronlarını hiperpolarize ederek uyarılabilirliklerini azaltmaktadır. Ayrıca 5-HT_{2C} aracılı iştahın baskılanmasında POMC sinyal yolağının etkinliğinin daha baskın olduğunu gösterilmiştir (89).

3.2.4. Gastrointestinal Hormonlarının Beslenme Üzerindeki Rolü

3.2.4.1. Ghrelin

Ghrelin hormonu Kojima ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptığı çalışmada büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS) tip 1a reseptörünün endojen ligandı olarak keşfedilmiştir (90). Başlıca mide mukozasında görölen endokrin hormon sentezleme özelliğı olan hücreler tarafından sentezlenmektedir. Deneysel olarak mideleri çıkarılan farelerin kanlarına bakılmış ve ghrelin düzeylerinin yaklaşık %

80 oranında azaldığı gözlenmiştir. Bu araştırma vücuttaki toplam ghrelin seviyesinin çoğunluğunun mide mukozasından kaynaklandığını göstermektedir. Midenin yanı sıra hipotalamik çekirdeklerde, hipofizde, akciğer, plasenta, pankreas, ovaryum ve testis gibi çeşitli organ ve dokularda üretildiğine dair bulgular mevcuttur (91, 92).

Ghrelin, hipofiz bezinde GHS tip 1a reseptörlerinin uyarılmasıyla GH salınımını arttırmasının yanı sıra enerji metabolizması ve beslenmenin düzenlenmesinde güçlü iştah arttırıcı etkinliği olan bir hormondur (93). İştah arttırıcı etkisini çeşitli yollarla gerçekleştirmektedir. Öncelikle dolaşımdaki ghrelin hormonu kan-beyin bariyerini aşarak arkuat çekirdeğe etki eder, AgRP ve NPY nöronlarını uyararak iştahı arttırıcı etki oluşturmaktadır (59, 94). İkinci bir yol olarak, santral bir peptit olan oreksinin salınmasını artırarak iştahı artırır (95).

Ghrelinin hipotalamik arkuat nükleusda noradrenalin artışını sağlayıp santral beslenme davranışlarının başlamasını sağladığı gösterilmiştir (96). Ayrıca farelere santral yolla ghrelinin verilmesini takiben nükleus akkübensdeki dopamin seviyesinin arttığı, ödül yeme davranışının etkilendiği ve besin tüketiminin arttığı deneyimlenmiştir (97).

Yemek saatlerinden önce plazma düzeylerinin hızlı bir şekilde artan ghrelinin, gıda alımını takiben ise bazal seviyelerine geri döndüğü gösterilmiştir (98). Ghrelin bir yandan gıda alımını arttırırken öte yandan lipogenezi uyararak vücut yağ kütlelerinin artışına sebebiyet verdiği tespit edilmiştir (99).

Mevcut kanıtlar, ghrelinin beslenmeyi düzenlemesine ek olarak glukoz metabolizması ve enerji dengesini kontrol ettiğini göstermektedir (100). Bu etkisini hipotalamik 5-adenosine monophosphate (AMP) ile aktive edilmiş protein kinaz

(AMPK) aktivasyonu ile yapmaktadır. Deneysel olarak, sıçanlara santral veya periferik ghrelin enjekte edilmesinin AMPK aktivasyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Bu sıçanlarda AMPK aktivasyonu ile gıda alımında ve vücut kütlesinde önemli derecede artış olduğu ifade edilmiştir (101, 102).

3.2.5. Yağ Doku Hormonlarının Beslenme Üzerindeki Rolü

İnsanların vücut ağırlığının normal ve hastalık durumlarında değişmek üzere %5-50'lik kısmını beyaz yağ dokusu oluşturmaktadır. Beyaz yağ dokusu endokrin sinyalleşmenin temel kaynağı olarak kabul edilmektedir. Yağ dokusundan salınıp bu sinyalleşmeyi sağlayan proteinlere adipokinler denilmektedir. Adipokinler MSS'de iştah ve enerji dengesini düzenlenmesini sağlarken, periferde ise oksidatif kapasiteyi, insülin duyarlılığını ve lipid alımını etkiler. Adipokinlerin endokrin sistemde kritik bir görevi üstlendiğinin kanıtlarından ilki 1994 yılında keşfedilen leptindir. Bu yıldan sonra yapılan araştırmalar adipoz dokudan çeşitli adipokinlerin de salgılandığını göstermiştir (103).

3.2.5.1. Leptin

Leptin, 1994 yılında, Zhang ve arkadaşları tarafından, ob/ob mutasyonu olan obez farelerde bir mutant gen ürünü olarak bulunmuştur (103). OB geni tarafından kodlanan leptinin büyük bir kısmı beyaz yağ dokusundan sentezlenmektedir (104). Ayrıca mide, plesanta, iskelet kası, karaciğer gibi bazı periferik dokularda ve hipotalamus, serebellum, hipokampus, korteks gibi bazı beyin bölgelerinde de leptin ve leptin mRNA tespit edilmiştir. MSS'de etkisini kan beyin bariyerini aşarak hipotalamustaki özel reseptörlerine (LEP-R ya da OB-R)

bağlanarak oluşturmaktadır. Leptin, besin alımını azaltıp enerji kullanımını artırarak yağ depolanmasını azaltan ve bu sayede enerji metabolizmasının düzenlenmesini ve vücut ağırlığının kontrolünü sağlayan önemli bir hormondur (105, 106).

Leptin reseptörlerinin uyarılması çeşitli etkileri başlatır. Birinci olarak hipotalamusta Janus kinaz/sinyal transdüserleri ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK/STAT) yolunu aktive ederek arkuat çekirdekte NPY/AgRP sinyallerinin üretimini ve salınımını baskılar. Arkuat çekirdekte NPY/AgRP sentezinin baskılanmasıyla besin alımı ve iştah azalır (62). İkinci olarak POMC nöronal sinyallerinin oluşumunu artırır. Bu sinyaller sonucu kuvvetli bir anoreksijenik hormon olan α -MSH üretimi artmaktadır. Artan düzeyde α -MSH nöronal sinyalleri paraventriküler çekirdeğe projekte olur ve burada MC4R reseptörlerini aktive eder. MC4R'ün aktive olması sonucu iştah ve gıda alımı azalmaktadır (107).

Leptin, CART nöron aktivitesini sağlayarak metabolizma hızını arttırır. Ayrıca MCH ve oreksin sentezini azaltarak iştahı ve gıda alımını azaltmaktadır (108). Hipotalamustan vazomotor sisteme yollanan uyarılar aracılığıyla sempatik sinir sistem aktive edilmektedir. Bunun sonucu enerji harcanmasında etkili mekanizmalar devreye girer ve metabolizma hızı artar. Bu etkiyle vücut ağırlığında azalma gerçekleşmektedir (109). Leptin ayrıca pankreasın beta hücrelerinde sentezlenen insülinin sentezini, salınımını ve vücudun enerji depolamasını azaltmaktadır. Leptin, insülin sentezini baskılarken insülin, leptin sentezini ve salınımını artırmaktadır. İnsülin ve leptin arasındaki bu ilişki vücut için önemli bir hormonal negatif feedback mekanizmasıdır (110).

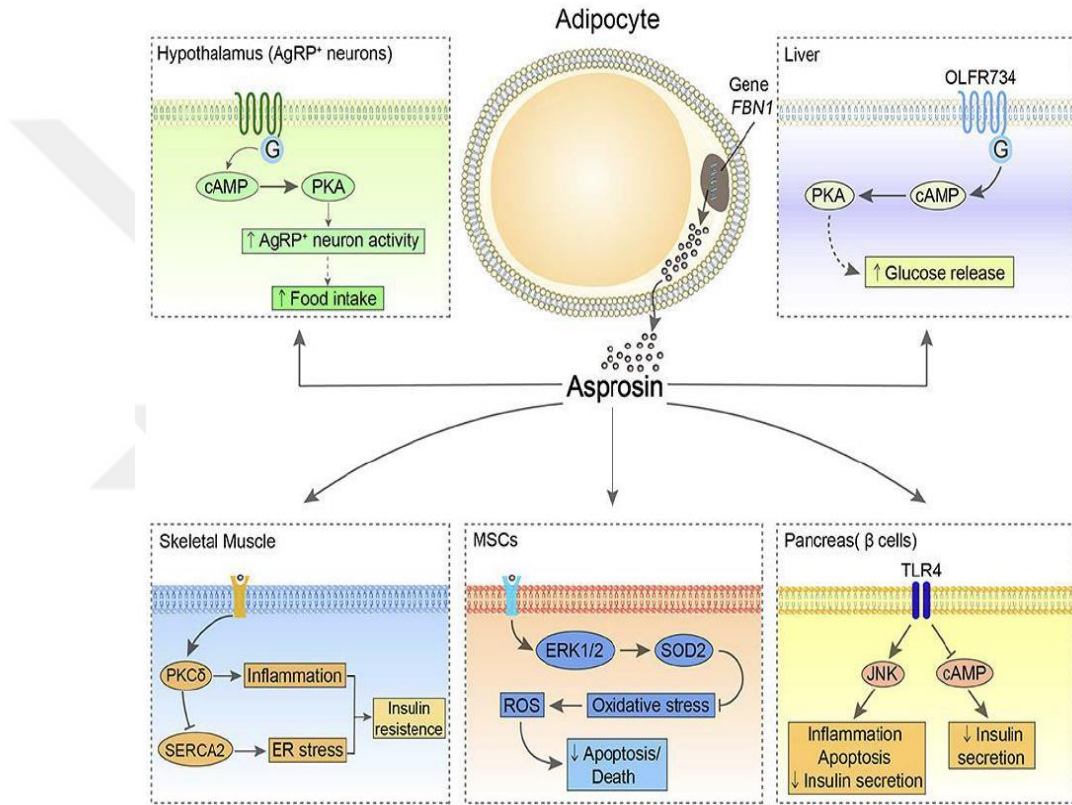
Çalışmalar, leptinin genetik eksikliğinin diyabet ve aşırı obezite ile ilişkili olabileceğini ve leptin direncinin leptin reseptör sinyalini değiştirebileceğini göstermektedir (103). Leptin hormonunun eksikliğinin hiperfaji ve obeziteye neden olduğu görülmüştür. Bunun aksine yapılan çalışmalar, obez kişilerde vücut yağ miktarı ile leptinin pozitif bir ilişkiye sahip olduğunu artan yağ oranıyla orantılı şekilde leptin plazma düzeylerinin de yükseldiğini göstermiştir. Bu, leptin reseptörlerinde ya da leptin sinyal yollarındaki bir hasardan dolayı oluşan leptin direnci olabileceğini göstermektedir (111, 112). Leptin ayrıca glukoz homeostazisi, hepatik insülin duyarlılığını ve enerji metabolizmasının dengesini düzenler (113). Şiddetli hepatik steto, insülin direnci ve DM'ye neden olan generalize lipodistrofi hastalarda, 2014 yılından bu yana leptin tedavisine FDA onay vermiş bulunmaktadır (114).

3.2.6. Asprosin

Etkileri yeni yeni keşfedilen asprosin hormonu ilk olarak 2016 yılında Chopre Romere ve arkadaşları tarafından neonatal progeroid sendromu (NPS) olan hastalarda yapılan bir araştırmada saptanmıştır. Doğumsal parsiyel lipodistrofi, yüz dismorfizmi ve ekstremitelerdeki şekil bozuklukları ile karakterize olan NPS hastalığında; kişilerin deri altı yağ doku miktarları oldukça azdır, vücut kitle indeksleri düşüktür, insüline duyarlıdırlar ve öglisemik bir tablo sergilemektedirler. NPS'li hastalarda profibrillini kodlayan gende (FBN1) mutasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Bu mutasyonların asprosin salınımını azalttığı farkedilmiştir (16).

Asprosin, FBN1 geninin iki ekzonundan (ekzon 65-66) kodlanmaktadır. FBN1 kromozomu 15q21.1'de lokalize, 235 kb uzunluğunda ve 66 ekzondan

oluşmaktadır. Ekzon 66, 2871 aminoasitten oluşan bir proprotein kodlamaktadır. Bu proprotein, C-terminalinden bir proteaz tarafından bölünür ve 140 aminoasitli asprosin hormonu üretilmiş olur. Asprosin temel olarak beyaz adipoz doku tarafından sentezlenmektedir. Ancak akciğer, kalp, böbrek, iskelet kası gibi çeşitli doku ve organlarda da salınımının olduğu tespit edilmiştir (115, 116). Asprosinin etkileri özet olarak şekil 4’de gösterilmektedir.



Şekil 4. Asprosinin etki ettiği dokular ve etki mekanizması

3.2.6.1. Asprosinin Glukojenik Etkisi

Asprosin karaciğer üzerine doğrudan etki ederek G proteinle aktive olan hücre içi cAMP düzeyini arttırmakta ve bunu takiben proteinkinaz A sinyal yolağını aktive etmesiyle hepatik glukoz yapımını ve dolayısıyla karaciğerden dolaşıma

glukoz geçişini arttırmaktadır (16). Li ve arkadaşları ise hem açlık hem de obezite hallerinde asprosinin OLFR734 reseptörü aracılığıyla karaciğere etki ederek glukoz yapımını uyardığını bildirmişlerdir. Asprosin bu etkisini glukagon ve katekolaminlere bağımlı olmadan göstermektedir. Knockout fareler asprosine karşı zayıflatılmış cevap oluştururlar. cAMP düzeylerinde ve karaciğerde glukoz yapımında azalma ve insülin duyarlılığında artış gözlenir. OLFR734 eksikliğinde hem açlık hem de yağdan zengin diyet tarafından uyarılan glukoz yapımı azalır. Bundan dolayı, açlık ve obezite durumlarında glukoz homeostazisinin korunmasında asprosinin kritik bir görev üstleneceği düşünülmektedir (117).

Wild-type farelere tek doz asprosinin subkutan enjekte edilmesiyle 30 dakika içerisinde plazma glukoz ve insülin düzeylerinde önemli artışın olduğu gösterilmiştir. Hiperinsülineminin aktifleşmesi ile beraber bir saat dolduğunda glukoz düzeyinin normale döndüğü gözlenmiştir. Ayrıca asprosine karşı nötralize edici bir antikör ile ya da FBN1 genetik delesyonu ile asprosin etkisinin bloke edilmesi, plazma insülin düzeyini ve hepatik glukoz yapımını, insülin seviyelerini ve vücut ağırlığını azaltmaktadır (15, 117).

3.2.6.2. Asprosinin İştah Mekanizması Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalar açlık esnasında ise karaciğerden glukozun kana salınması ile eş zamanlı olarak asprosinin kan düzeyinde artış görülmekte yemek yemeyi takiben asprosin düzeyinin tekrar düştüğünü göstermiştir. Böylece beslenme ile asprosin arasında sirkadiyen bir ritim olduğu anlaşılmıştır. Asprosin kan beyin bariyerini geçerek ve cAMP ikinci haberci sistemi ile AgRP nöronlarını uyarır ve böylece oreksijenik etki oluşturur. Oreksijenik etkinin ortaya çıkmasında

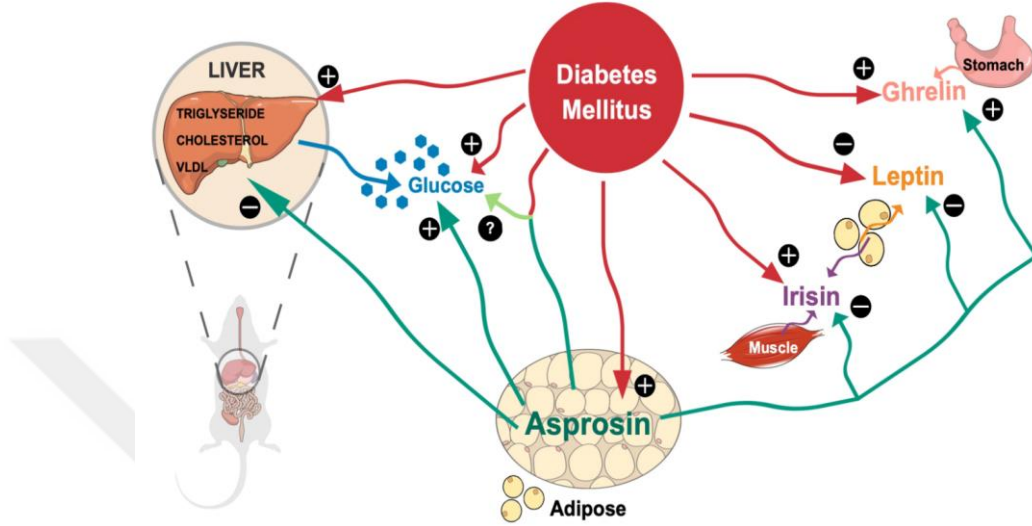
proopiomelanokortin (POMC) nöronlarının Gamma-aminobütirik asite (GABA) bağımlı şekilde inhibisyonu da etkilidir (15).

Bazı çalışmalar farelerde FBN1 gen mutasyonlarının AgRP nöron aktivitesini azalttığını, icv asprosin enjekte edilmesinden sonra ise bu durumun gerilediğini sunmuştur. Dolayısıyla FBN1 gen mutasyonu olan farelere asprosin uygulamasının var olan hipofajinin gerilemesini sağladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize açlık halinde asprosinin salınımının uyarıldığını ve asprosinin gıda alımını uyardığını göstermektedir. Ayrıca asprosinin vücudun enerji dengesini koruyan bir mekanizma olduğu öngörülebilir. Fakat asprosin düzeyinin patolojik olarak yükseldiği insülin direnci ve obezite gibi metabolik hastalıklarda, asprosinin hiperfajiye sebep olan ve enerji dengesini bozan bir mekanizma içinde etki gösterdiği görülmüştür. İnsülin direnci olan obez hayvanlarda anti-asprosin antikorunun iştahı azaltmada etkin rol aldığı bildirilmiştir. Ayrıca bu antikorun uygulaması ile asprosin seviyesi ve AgRP nöron aktivitesinin baskılandığı gözlenmiştir (117, 118).

3.2.6.3. Asprosinin DM, İnsülin Direnci ve Obezite Üzerine Etkisi

Asprosine olan ilginin günden güne artmasıyla çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda asprosinin obezite, insülin direnci ve diyabet ile yakından ilişkili olabileceği gözlenmektedir (117, 119, 120). Plazma düzeyindeki asprosin artışının insülin salınımının artışı ile meydana gelmesi, asprosinin insülin direnciyle bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 5). Tip 2 DM tanısı konulmuş

hastalar ve sağlıklı kişilerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, asprosin düzeyinin Tip 2 DM'lilerde glukoz salınımına karşılık bozulmuş yanıtının olduğu gösterilmiştir (117).



Şekil 5. Asprosinin Tip 2 DM hastalığı ile ilişkisi

Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada asprosinin, TLR4/JNK yoluyla pankreas Beta hücrelerini aktive ederek enflamasyonu, apoptozu ve glukoz bağımlı insülin salınımını azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca asprosinin baskılanmasıyla bu değişikliklerin gerilediğini göstermişlerdir. (121). Başka bir çalışmada ise PKC-delta/SERCA-2 yolağının aktive edilmesiyle iskelet kaslarının insüline duyarlılık düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (122).

Tükürük asprosin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada zayıf, normal, kilolu ve obez kişilerde serum asprosin düzeylerinin vücut kitle indeksi ile uyumlu olarak arttığı belirlenmiştir (119). Benzer şekilde obez insanlarda ve obez fare modellerinde asprosinin plazma düzeyleri (5-10 nM) obez olmayan kontrollerine göre daha yüksek bulunmuştur. Çocuklarda da yapılan araştırmada serum asprosin düzeylerinin obez çocuklarda normal kilolu kontrollerine göre

anlamalı derecede yüksek olduğunu belirlenmiştir (123). Wang ve arkadaşları bariatrik cerrahiden 6 ay sonra serum asprosin düzeylerinin önemli ölçüde düştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, serum asprosin seviyesinin, bariatrik cerrahi sonrası kilo kaybı yüzdesi için tek bağımsız belirleyici olduğunu eklemişlerdir (124).

3.2.6.4. Asprosinin Miyokardial ve Mikrovasküler Hasar Üzerine Etkisi

Araştırmalar asprosinin kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu etkilere sahip olduğunu belirtmektedir. Zhang ve arkadaşları, kalp krizi sonrası kalbe uygulanan asprosinin kalp kasılma gücünü koruduğunu ve fibrozisin azalmasına katkı sağladığını raporlamışlardır. Buna ek olarak asprosinin, kardiomyositleri hipoksiden koruduğunu ve apoptoza engel olduğunu bildirilmiştir (125). Farklı bir çalışma, 5 yıl boyunca takip edilen dilate kardiomyopati hastalarda artmış asprosin seviyelerinin daha az kardiyovasküler olayla ilişkili olduğunu sergilemiştir (126).

3.2.6.5. Asprosinin Polikistik Over Sendromu (PKOS) Üzerine Etkisi

PKOS'lu hastalarda sağlıklı insanlara göre HgA1c, LDL ve testosteron ile orantılı olacak şekilde asprosin düzeylerinin de yüksek olduğu gösterilmiştir (127). Alan ve arkadaşları insülin direnci olan kadınlarda asprosin düzeyinin artması ile PKOS oluşma riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir (128). Ayrıca Li ve arkadaşları, asprosin düzeyinin PKOS'lu kadınlarda prolaktin ve testosteron düzeyleri ile doğru orantılı şekilde yükseldiğini, seks hormonu bağlayıcı globulin ve estradiol düzeyleri ile negatif ilişkili olduğunu belirtmiştir (129).

3.2.6.6. Asprosinin Metabolik Sendrom Üzerine Etkisi

İnsülin direnci ile ilk semptom veren metabolik sendrom, glukoz intoleransı, dislipidemi, obezite, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi sistemik disfonksiyonların beraber görülebildiği önemli bir endokrin sistem hastalığıdır. Asprosinin de insülin direnci, glukoz düzensizliği, dislipidemi ve obezite ile ilişkili olduğu önceki araştırmalarda gözlenmiştir. Bu nedenle asprosinin metabolik sendrom gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir (119, 130).



4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları ve Bakımı

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) alınan Sprague-Dawley ırkı 24 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar sütten kesildikleri 21. günde ortalama 35 ± 2 gram olacak şekilde seçilip ayrı kafeslere alınmıştır. Işık düzeni 12 saat aydınlık 12 saat karanlık (07:00-19:00 saatleri arasında aydınlık) olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.2. Deney Hayvanlarının Beslenmesi

Sıçanların su tüketimleri için özel bölümlü kafeslere yerleştirilen, uç kısımlarında damlalık bulunan cam şişeler ile günlük 500 mililitre (ml) çeşme suyu sağlanmıştır. Sıçanların beslenmesinde ise Elazığ Yem Fabrikasından alınan özel pelet sıçan yemi kullanılmış olup kafes başına günlük 200 gram pelet yem verilecek şekilde ayarlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Kullanılan sıçan yeminin içeriği (%)

İçerik	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29.4
Balık unu	8
Kavimix VM 23-Z	0.2
Methionin	0.2
DCP*	1.6

* % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0.2 flor'dan oluşmaktadır.

4.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler sütün kesildikleri 21. günde ortalama 35 ± 2 gram olacak şekilde 24 hayvan seşilmiş olup kontrol (n:12) ve asprosin (n:12) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Asprosin grubuna her gün 13:00-15:00 saatleri arasında intraperitoneal (i.p) asprosin (500 ng/kg) uygulanmış olup, kontrol grubuna asprosin grubunda olduğu gibi her gün aynı saatlerde ip serum fizyolojik (1mL/kg) uygulanmıştır. Her iki gruptaki hayvanların her gün saat 13:00’da yem ve su tüketim miktarları ile ağırlık değişimlerinin takipleri yapılarak veriler kayıt altına alınmıştır.

1.Grup (Kontrol Grubu): Denekler sütün kesildikleri 21.günde ağırlık ortalamaları 35 ± 2 gram olacak şekilde 12 erkek sıçan dörderli üç ayrı kafese ayrılmıştır. Hayvanların her gün saat 13:00’da yem ve su tüketimi ile birlikte ağırlık değişimleri takip edilerek kayıt altına alınmıştır. Ayrıca her gün 13:00-15:00 saatleri arasında i.p olarak serum fizyolojik uygulanmıştır.

2.Grup (Asprosin Grubu): Denekler sütün kesildikleri 21. Günde ağırlık ortalamaları 35 ± 2 gram olacak şekilde 12 erkek sıçan dörderli üç ayrı kafese ayrılmıştır. Hayvanların her gün saat 13:00’da yem ve su tüketimi ile birlikte ağırlık değişimleri takip edilerek kayıt altına alınmıştır. Ayrıca her gün 13:00-15:00 saatleri arasında i.p olarak 500 ng/kg asprosin uygulanmıştır.

4.4. Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Takibi

Kontrol ve asprosin olarak iki gruba ayrılan 21 günlük hayvanların ağırlık ortalamaları 35 ± 2 gram olacak şekilde ayarlanmıştır. Her iki grupta yer alan

hayvanların ağırlık değişimleri deney süresince her gün saat 13:00-14:00 saatleri arasında ölçülmüş ve kayıt altına alınmıştır.

4.5. Hayvanların Yem ve Su Tüketimlerinin Belirlenmesi

Her iki gruptaki sıçanların günlük tükettikleri yem ve su miktarları ayrı ayrı hesaplanarak kaydedilmiştir. Sıçanların 21. günde tükettikleri yem ve su miktarları sıfır olarak hesaplanmıştır. Kafeste bulunan her bir hayvana beslenmesi için 21. günden 90. güne kadar günlük standart olarak 50 gram pelet yem ve 125 ml su verilmiştir. Her gün saat 13:00-14:00 arasında sıçanların 24 saatlik süreçte tükettikleri yem ve su miktarları hesaplanarak kayıt altına alınmıştır.

4.6. ELISA Yöntemi

ELISA için, her bir sıçandan yaklaşık olarak 4-5 ml kan alınmıştır. Alınan kanlar 4.000 rpm hızda ve 5 dakika boyunca santrifüj (Hettich, Almanya) edilmiştir. Serum kısmı; her bir ependorf tüpe yaklaşık 200 µL olacak şekilde ayrılmış ve -20 °C’de ELISA kitleriyle çalışılncaya kadar muhafaza edilmiştir.

ELISA yöntemi antijen ve antikor taramasında kullanılan serolojik testlerden biridir. Farklı ELISA yöntemleri mevcut olmakla birlikte, bu tez çalışmasında indirekt mikro ELISA yönteminden faydalanılmıştır. Bu çalışmada ELISA ile serum asprosin, TSH, GH, insülin, kortikosteron, ghrelin ve leptin düzeyleri belirlenmiştir.

Rat asprosin ELISA kiti (Sundred, ÇİN) katalog numarası 201-11-5748’dir. Kitin hassasiyeti 0.127 ng/ml’dir. Ölçüm aralığı 1.5-400 ng/ml’dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik

dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

Rat insülin ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R3034'tür. Kitin hassasiyeti 3.75 pg/ml'dir. Ölçüm aralığı 6.25-400 pg/ml'dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar pg/ml olarak hesaplandı.

Rat GH ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R3003'tür. Kitin hassasiyeti 0.94 ng/ml'dir. Ölçüm aralığı 1.56-100 ng/ml'dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

Rat ghrelin ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R0842'dir. Kitin hassasiyeti 0.1ng/ml'dir. Ölçüm aralığı 0.16-10 ng/ml'dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

Rat kortikosteron ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R0002'dir. Kitin hassasiyeti 1.87 ng/ml'dir. Ölçüm aralığı 4.69-300 ng/ml'dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

Rat TSH ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R0976'dır. Kitin hassasiyeti 0.75 ng/ml'dir. Ölçüm aralığı 1.25-80 ng/ml'dir.

Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

Rat leptin ELISA kiti (Elabscience, ABD) katalog numarası E-EL-R0582'dir. Kitin hassasiyeti 0.10 ng/ml'dir. Ölçüm aralığı 0.16-10 ng/ml'dir. Deney sonucunda elde edilen standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar ng/ml olarak hesaplandı.

4.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışma sonuçları istatistiksel açıdan SPSS 23.0 for Windows programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler, ortalama $\pm$ standart hata (ort $\pm$ SH) değerleri ile belirtilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi ve gruplar arası farklılıklar için Independent Sample T Testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde, p değerinin 0.05'den az olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5.BULGULAR

5.1. Yem Tüketimi

Prepubertal 22. günden erişkin 90. güne kadar her gün kontrol ve asprosin grubundaki sıçanların yem tüketimi kümülatif olarak hesaplanmıştır. Sıçanların 100 gram canlı ağırlık (CA) için kümülatif olarak hesaplanan 69 günlük yem tüketim $\text{ort} \pm \text{SH}$ değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

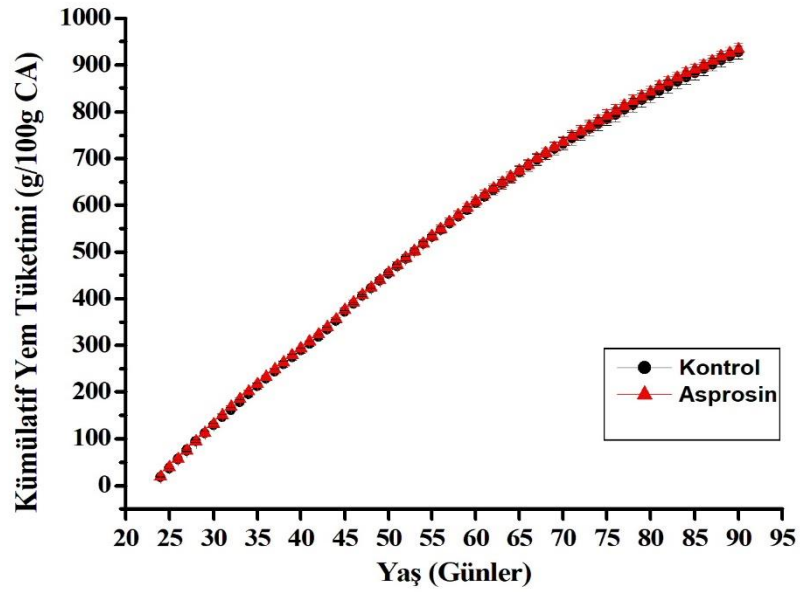
Tablo 2. Kümülatif olarak hesaplanan günlük yem tüketim ortalamaları (g/100 g CA)

Günler	Gruplar	
	Kontrol (Ort $\pm$ SH)	Asprosin (Ort $\pm$ SH)
22.gün	19.0 $\pm$ 0.93	19.4 $\pm$ 0.46
23.gün	37.6 $\pm$ 1.65	39.4 $\pm$ 0.76
24.gün	57.2 $\pm$ 2.63	57.6 $\pm$ 1.42
25.gün	75.4 $\pm$ 2.50	74.4 $\pm$ 2.17
26.gün	94.4 $\pm$ 2.48	93.2 $\pm$ 2.45
27.gün	111.8 $\pm$ 3.39	111.8 $\pm$ 2.57
28.gün	129.1 $\pm$ 4.04	130.9 $\pm$ 2.69
29.gün	146.2 $\pm$ 4.57	149.7 $\pm$ 3.16
30.gün	161.6 $\pm$ 5.36	167.9 $\pm$ 2.87
31.gün	177.9 $\pm$ 5.73	184.5 $\pm$ 3.26
32.gün	195.5 $\pm$ 6.32	200.7 $\pm$ 3.47
33.gün	212.3 $\pm$ 6.22	217.0 $\pm$ 3.19
34.gün	228.2 $\pm$ 6.27	232.0 $\pm$ 3.20
35.gün	243.3 $\pm$ 6.17	247.8 $\pm$ 3.36
36.gün	259.3 $\pm$ 5.96	263.3 $\pm$ 3.33
37.gün	274.3 $\pm$ 5.78	278.5 $\pm$ 3.57
38.gün	288.9 $\pm$ 5.55	292.9 $\pm$ 3.80
39.gün	303.3 $\pm$ 5.14	307.7 $\pm$ 4.02
40.gün	318.1 $\pm$ 4.64	323.1 $\pm$ 3.75
41.gün	334.6 $\pm$ 4.60	338.7 $\pm$ 3.94
42.gün	351.9 $\pm$ 3.96	355.5 $\pm$ 4.37
43.gün	372.4 $\pm$ 2.49	375.6 $\pm$ 4.87
44.gün	389.3 $\pm$ 2.05	391.5 $\pm$ 5.27
45.gün	406.1 $\pm$ 1.77	407.7 $\pm$ 5.42

	Kontrol (Ort±SH)	Asprosin (Ort±SH)
46.gün	422.6±2.01	423.2±6.16
47.gün	438.4±2.43	438.9±6.45
48.gün	453.9±2.69	454.8±7.10
49.gün	469.8±3.58	471.1±7.86
50.gün	485.9±4.21	486.5±8.44
51.gün	501.5±4.65	501.9±8.53
52.gün	517.3±5.13	517.9±8.30
53.gün	532.1±4.96	533.6±8.91
54.gün	547.2±5.85	549.0±8.94
55.gün	561.4±6.36	563.9±8.94
56.gün	576.0±6.97	578.9±8.74
57.gün	590.1±7.61	594.3±9.12
58.gün	605.0±8.55	608.8±9.32
59.gün	618.9±9.09	622.7±9.67
60.gün	632.6±9.61	636.3±9.92
61.gün	645.7±10.34	649.0±10.77
62.gün	658.7±11.11	660.8±11.15
63.gün	671.7±11.63	673.7±11.17
64.gün	684.6±12.11	686.5±11.58
65.gün	697.4±12.49	699.5±11.76
66.gün	710.1±12.72	711.2±12.45
67.gün	721.7±13.03	723.3±12.79
68.gün	732.1±13.22	734.8±12.85
69.gün	742.9±13.54	747.4±13.03
70.gün	752.8±13.89	757.6±13.32
71.gün	763.7±14.32	769.3±13.20
72.gün	774.6±14.38	780.8±13.26
73.gün	785.0±14.21	791.1±13.38
74.gün	794.0±14.38	801.2±13.19
75.gün	794.0±14.38	801.2±13.19
76.gün	794.0±14.38	801.2±13.19
77.gün	804.9±14.47	812.3±13.23
78.gün	814.2±14.41	821.9±13.46
79.gün	824.4±14.76	831.7±13.56
80.gün	833.8±14.61	841.5±13.52
81.gün	844.2±14.47	853.6±11.53
82.gün	853.6±14.56	862.9±11.54
83.gün	863.8±14.53	872.6±11.46
84.gün	873.3±14.45	882.0±11.81
85.gün	881.7±14.50	889.3±12.23
86.gün	891.5±14.50	898.4±12.00
87.gün	901.0±14.37	908.2±12.17
88.gün	909.5±14.21	917.6±12.17

Günler	Kontrol (Ort±SH)	Asprosin (Ort±SH)
89.gün	918.0±14.24	925.3±12.29
90.gün	926.5±14.36	933.4±12.44

Kontrol ve asprosin gruplarındaki sıçanların 100 gram canlı ağırlık (CA) için kümülatif olarak hesaplanan 69 günlük yem tüketim ort±SH değerleri şekil 6’da gösterilmektedir. Kontrol ve asprosin grubu arasında yem tüketimlerine ilişkin anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 6. Kontrol ve asprosin gruplarının 69 günlük dönemde kümülatif olarak tükettikleri yem miktarları

5.2. Su Tüketimi

Prepubertal 22. günden erişkin 90. güne kadar her gün kontrol ve asprosin grubundaki sıçanların su tüketimleri kümülatif olarak hesaplanmıştır. Sıçanların 100 gram canlı ağırlık (CA) için kümülatif olarak hesaplanan 69 günlük su tüketim $\text{ort} \pm \text{SH}$ değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

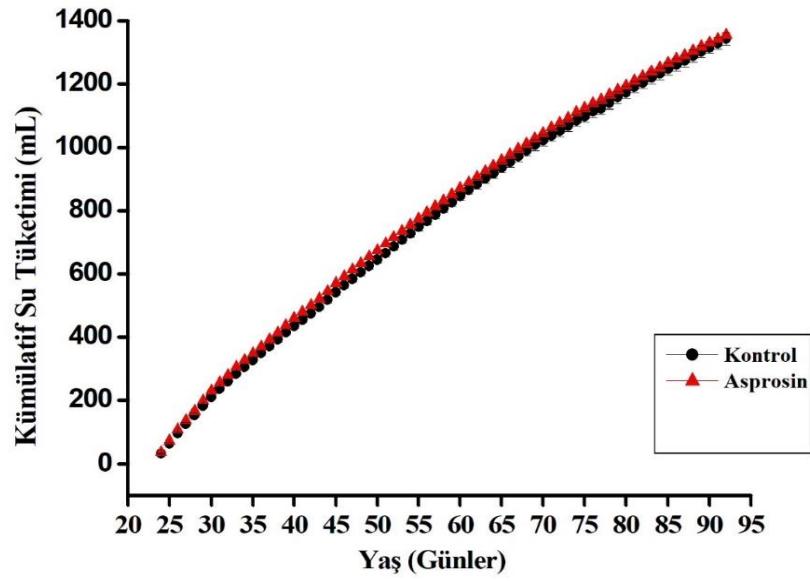
Tablo 3. Kümülatif olarak hesaplanan günlük su tüketim ortalamaları (mL)

Günler	Gruplar	
	Kontrol (Ort $\pm$ SH)	Asprosin (Ort $\pm$ SH)
22.gün	33.8 $\pm$ 1.96	37.5 $\pm$ 1.39
23.gün	65.0 $\pm$ 2.60	72.6 $\pm$ 2.06
24.gün	95.6 $\pm$ 3.46	107.4 $\pm$ 2.93
25.gün	124.7 $\pm$ 4.80	136.8 $\pm$ 4.07
26.gün	154.0 $\pm$ 5.38	166.3 $\pm$ 3.96
27.gün	182.7 $\pm$ 6.91	199.6 $\pm$ 2.66
28.gün	210.6 $\pm$ 7.17	230.4 $\pm$ 2.43
29.gün	236.6 $\pm$ 5.88	256.2 $\pm$ 3.25
30.gün	260.3 $\pm$ 6.93	280.5 $\pm$ 3.10
31.gün	284.1 $\pm$ 7.36	305.8 $\pm$ 4.74
32.gün	305.3 $\pm$ 7.23	326.7 $\pm$ 4.17
33.gün	327.4 $\pm$ 8.08	347.9 $\pm$ 3.61
34.gün	349.9 $\pm$ 8.56	369.7 $\pm$ 3.23
35.gün	371.2 $\pm$ 8.34	391.8 $\pm$ 2.66
36.gün	392.5 $\pm$ 8.05	414.1 $\pm$ 2.18
37.gün	414.5 $\pm$ 8.24	437.6 $\pm$ 3.69
38.gün	435.7 $\pm$ 8.38	459.6 $\pm$ 3.86
39.gün	455.0 $\pm$ 8.41	480.1 $\pm$ 4.15
40.gün	474.8 $\pm$ 8.07	500.9 $\pm$ 4.25
41.gün	495.4 $\pm$ 8.23	521.7 $\pm$ 4.41
42.gün	518.2 $\pm$ 9.25	545.5 $\pm$ 3.94
43.gün	541.9 $\pm$ 9.68	570.6 $\pm$ 3.41
44.gün	563.6 $\pm$ 9.30	591.8 $\pm$ 2.84
45.gün	584.5 $\pm$ 10.10	614.0 $\pm$ 2.83
46.gün	604.6 $\pm$ 10.32	633.4 $\pm$ 3.12
47.gün	625.8 $\pm$ 10.52	654.4 $\pm$ 3.73
48.gün	645.4 $\pm$ 11.47	675.0 $\pm$ 4.18
49.gün	666.0 $\pm$ 11.47	695.4 $\pm$ 4.90
50.gün	687.0 $\pm$ 11.25	715.0 $\pm$ 4.59

Günler	Kontrol (Ort±SH)	Asprosin (Ort±SH)
51.gün	707.7±11.17	734.9±4.50
52.gün	728.1±11.26	754.8±4.72
53.gün	748.8±12.08	774.9±5.54
54.gün	767.9±12.43	794.3±6.04
55.gün	787.6±12.49	813.4±6.94
56.gün	807.5±12.59	832.5±7.18
57.gün	826.4±13.09	851.8±7.86
58.gün	846.3±13.20	871.1±8.03
59.gün	865.2±13.72	889.1±8.15
60.gün	883.4±14.07	906.7±8.14
61.gün	901.2±14.77	925.1±9.46
62.gün	918.4±15.04	941.6±9.90
63.gün	936.0±15.58	959.1±10.74
64.gün	953.6±16.38	977.0±11.06
65.gün	972.2±16.46	994.6±11.50
66.gün	990.7±17.32	1011.4±11.71
67.gün	100.8±17.24	1027.9±11.54
68.gün	10226±17.59	1045.0±11.64
69.gün	1038.6±17.49	1062.7±11.09
70.gün	1052.6±17.88	1077.2±9.90
71.gün	1069.3±17.91	1093.4±9.65
72.gün	1084.9±18.03	1110.0±8.85
73.gün	1098.4±18.36	1123.1±8.10
74.gün	1113.8±18.57	1138.3±7.97
75.gün	1123.2±18.45	1148.5±8.14
76.gün	1139.9±18.65	1165.4±7.57
77.gün	1156.3±18.49	1180.2±7.74
78.gün	1172.7±18.69	1193.7±7.15
79.gün	1189.6±18.21	1209.1±6.56
80.gün	1203.8±18.13	1223.4±6.44
81.gün	1218.7±18.62	1238.2±6.55
82.gün	1231.8±18.88	1250.5±7.01
83.gün	1247.4±19.45	1265.6±7.04
84.gün	1260.3±19.38	1278.7±7.32
85.gün	1272.6±19.36	1289.8±7.46
86.gün	1287.9±19.53	1304.2±6.81
87.gün	1302.3±19.34	1317.7±7.10
88.gün	1314.5±19.09	1330.3±7.50
89.gün	1328.1±19.27	1341.6±7.49
90.gün	1342.0±19.70	1354.4±7.35

Independent Sample T Testi kullanılmıştır.

Kontrol ve asprosin gruplarındaki sıçanların 100 gram canlı ağırlık (CA) için kümülatif olarak hesaplanan 69 günlük su tüketim $\text{ort} \pm \text{SH}$ değerleri şekil 7’da gösterilmektedir. Kontrol ve asprosin grubu arasında su tüketimlerine ilişkin anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 7. Kontrol ve asprosin gruplarının 69 günlük dönemde kümülatif olarak tükettikleri su miktarları

5.3. Ağırlık Değişimi

Kontrol ve asprosin grubunun 69 günlük süreçte canlı ağırlığında meydana gelen yüzde değişimlerin $\text{ort} \pm \text{SH}$ değerleri Tablo 4’de verilmiştir.

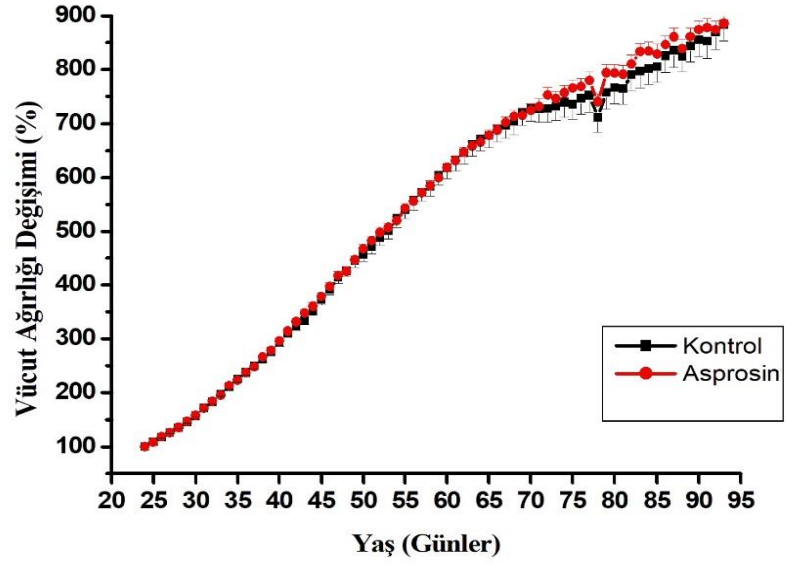
Tablo 4. Günlük vücut ağırlığı yüzde değişim ortalamaları

Günler	Gruplar	
	Kontrol (Ort±SH)	Asprosin (Ort±SH)
22.gün	109.5±1.00	108.3±0.49
23.gün	117.4±1.03	118.4±0.56
24.gün	126.1±1.20	126.4±1.20
25.gün	135.4±1.36	135.7±1.87
26.gün	145.2±1.53	146.6±2.06
27.gün	156.8±2.01	157.4±2.08
28.gün	171.0±2.84	170.8±2.92
29.gün	182.4±2.98	183.6±3.12
30.gün	196.9±3.50	195.0±3.39
31.gün	210.1±4.07	212.6±3.60
32.gün	224.1±4.52	222.4±3.63
33.gün	237.0±4.85	236.1±3.66
34.gün	249.3±5.53	247.9±3.33
35.gün	261.3±4.75	266.4±4.31
36.gün	276.0±5.46	277.9±4.22
37.gün	293.0±6.73	295.6±5.11
38.gün	309.5±6.72	314.1±5.37
39.gün	323.4±7.37	331.7±5.56
40.gün	334.2±7.75	348.1±6.21
41.gün	351.7±8.27	360.2±6.53
42.gün	372.8±9.33	378.4±6.64
43.gün	391.7±10.36	396.8±7.91
44.gün	414.6±11.03	417.7±7.48
45.gün	426.0±11.25	425.4±9.56
46.gün	445.1±12.70	446.8±7.76
47.gün	456.6±12.78	467.7±7.64
48.gün	471.7±13.68	482.7±8.45
49.gün	487.8±14.44	497.8±8.25
50.gün	501.3±15.50	507.0±7.94
51.gün	523.9±16.62	519.3±7.93
52.gün	539.9±15.81	542.9±8.34
53.gün	557.3±17.69	555.9±8.70
54.gün	572.5±16.64	571.6±8.44
55.gün	584.1±18.22	584.8±9.33
56.gün	604.0±18.52	599.3±10.54
57.gün	618.1±20.46	618.4±9.65
58.gün	632.6±19.52	631.1±8.89
59.gün	645.5±20.87	646.7±9.38
60.gün	661.5±21.98	657.9±9.59
61.gün	671.6±21.80	665.6±11.24

Günler	Kontrol (Ort±SH)	Asprosin (Ort±SH)
62.gün	678.0±22.04	678.5±9.39
63.gün	690.2±23.17	688.0±10.48
64.gün	696.6±23.43	702.6±10.20
65.gün	704.2±24.68	713.2±11.43
66.gün	720.8±23.39	715.5±11.54
67.gün	728.1±23.00	724.7±12.12
68.gün	727.5±24.51	732.1±13.29
69.gün	728.1±25.15	752.3±14.27
70.gün	732.5±25.84	746.3±13.07
71.gün	739.3±27.39	756.8±14.29
72.gün	736.1±27.56	765.6±15.09
73.gün	746.6±28.60	768.2±15.72
74.gün	752.1±30.28	779.6±15.81
75.gün	711.3±26.50	740.5±14.62
76.gün	757.3±30.70	793.8±15.40
77.gün	766.4±28.94	793.5±15.92
78.gün	764.3±28.42	791.0±16.76
79.gün	790.9±29.67	810.3±17.17
80.gün	797.3±31.16	833.0±16.09
81.gün	801.8±29.08	834.2±16.96
82.gün	805.8±29.33	828.9±18.65
83.gün	825.3±30.48	846.5±17.09
84.gün	835.7±31.69	860.8±16.74
85.gün	824.4±29.16	839.0±17.05
86.gün	843.6±29.61	861.0±16.08
87.gün	855.4±31.67	874.4±16.13
88.gün	852.6±31.93	877.9±17.05
89.gün	869.1±31.99	873.8±17.05
90.gün	883.8±30.35	885.9±17.36

Independent Sample T Testi kullanılmıştır

Kontrol ve asprosin grubunun 69 günlük süreçte canlı ağırlığında meydana gelen yüzde değişimlerin ort±SH değerleri Şekil 8’de gösterilmektedir. Kontrol grubu ile asprosin grubunun ağırlık değişimi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.



Şekil 8. Kontrol ve asprosin grubu arasında 69 günlük dönemde vücut ağırlıklarının değişimi

5.4. Serum hormon seviyeleri ve lipit profili

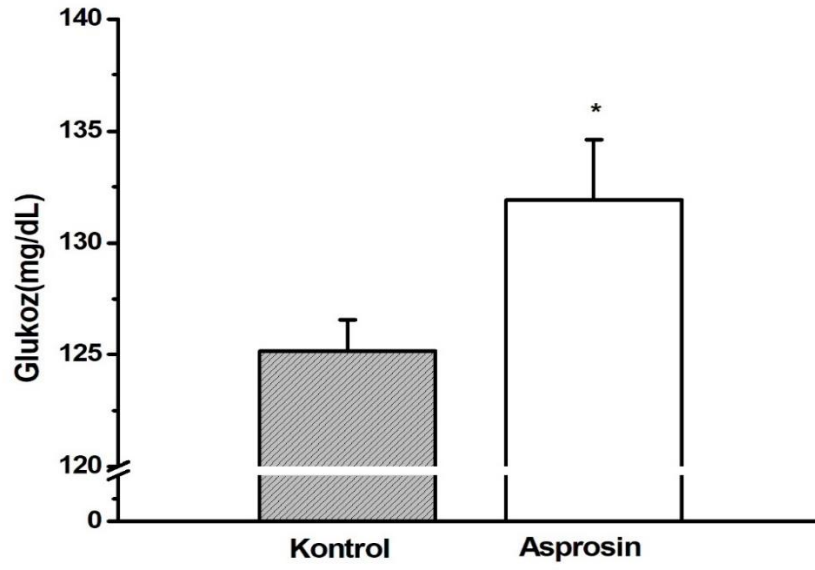
Kontrol ve asprosin grubunun serum insülin, leptin, ghrelin, TSH, kortikosteron, GH, asprosin, LDL, HDL ve TG düzeyleri Ort $\pm$ SH olarak tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Asprosin uygulamasının serum hormon seviyeleri üzerine etkisi

	KONTROL	ASPROSİN	p*
	Ort±SH	Ort±SH	
İnsülin (pg/mL)	38.77±10.49	21.69±4.03	0.143
Leptin (ng/mL)	1.41±0.09	1.67±0.12	0.106
Ghrelın (ng/mL)	0.97±0.07	0.81±0.06	0.087
GH (ng/mL)	57.33±2.01	55.28±3.46	0.606
TSH (ng/mL)	21.73±1.89	20.35±1.46	0.568
Glukoz (mg/dL)	125.16±1.39	131.91±2.70	0.037
Asprosin (ng/mL)	12.99±0.58	15.96±1.19	0.034
Kortikosteron (ng/mL)	97.32±6.87	140.89±12.55	0.006
LDL (mg/mL)	11.70±0.47	10.28±0.38	0.030
HDL (mg/mL)	12.91±0,65	13.48±0.58	0.517
TG (mg/mL)	64.75±3.70	62.67±5.66	0.761

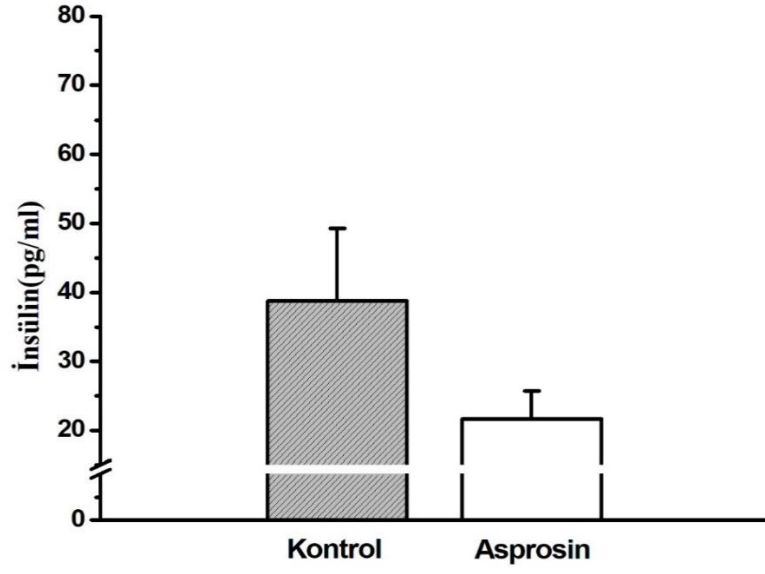
* Independent Sample T Testi kullanılmıştır.

GH: Growth hormon, TSH: Troid stimüle hormon, TG: Trigliserid, LDL: Low density lipoprotein, HDL: High density lipoprotein.



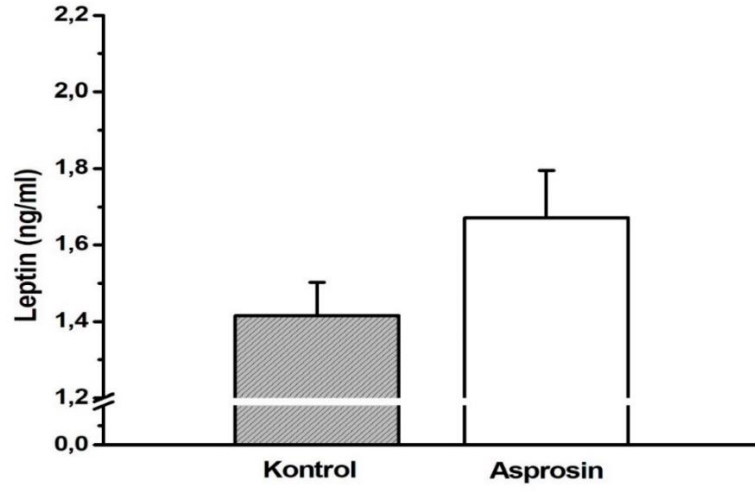
Şekil 9. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum glukoz seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum glukoz düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (131.91 ± 2.70) kontrol grubuna (125.16 ± 1.39) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$).



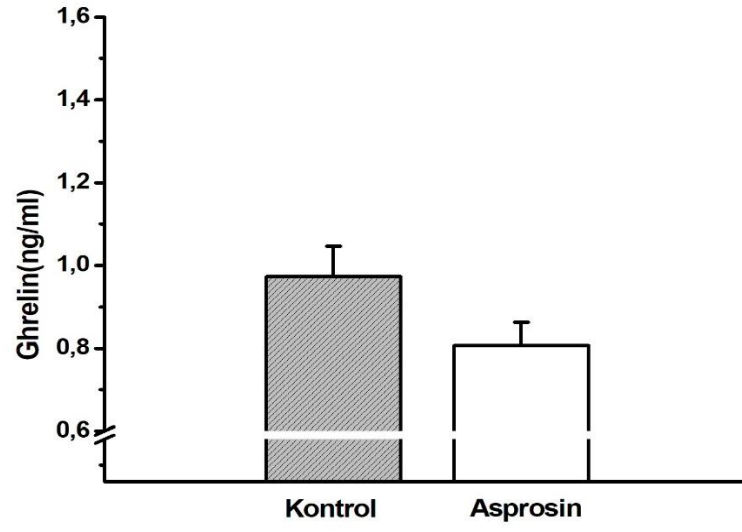
Şekil 10. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum insülin seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum insülin düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (21.69 ± 4.03) kontrol grubuna (38.77 ± 10.49) göre daha düşük olmasına rağmen anlamlı bir fark görülmemiştir.



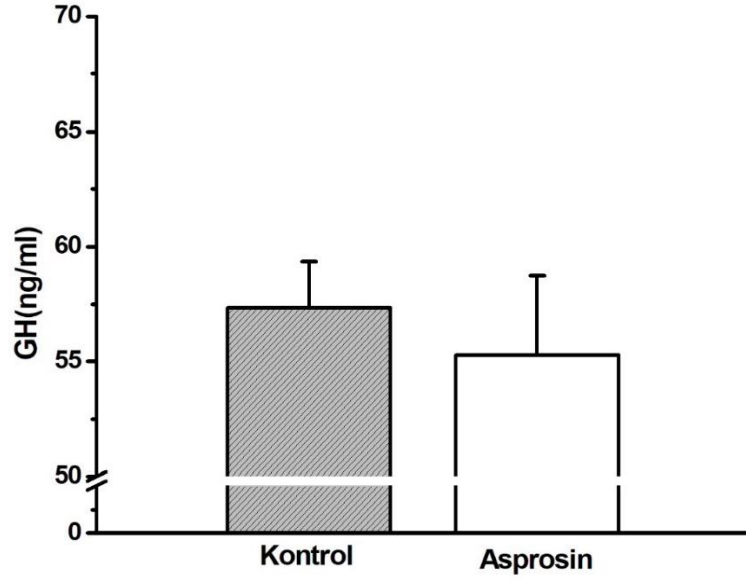
Şekil 11. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum leptin seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum leptin düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (1.67 ± 0.12), kontrol grubuna (1.41 ± 0.08) göre daha fazla olsa da anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



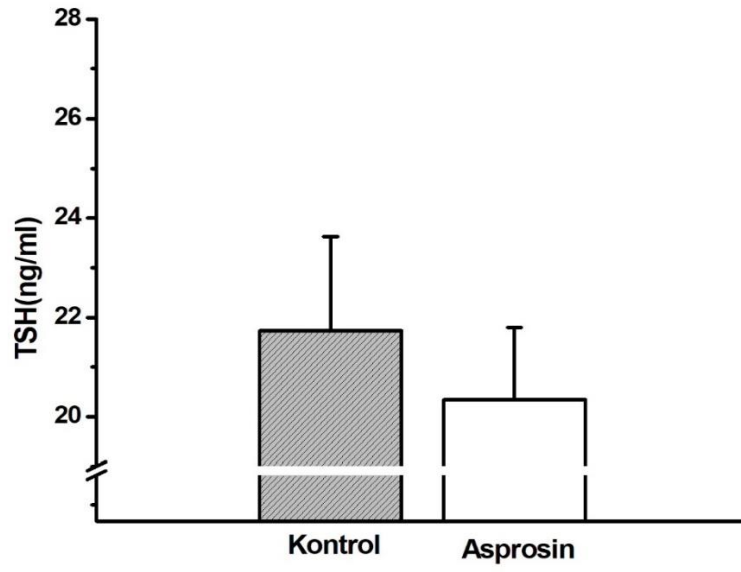
Şekil 12. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum ghrelin seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum ghrelin düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (0.81 ± 0.06), kontrol grubuna (0.97 ± 0.07) göre daha düşük olmasına rağmen anlamlı bir fark görülmemiştir.



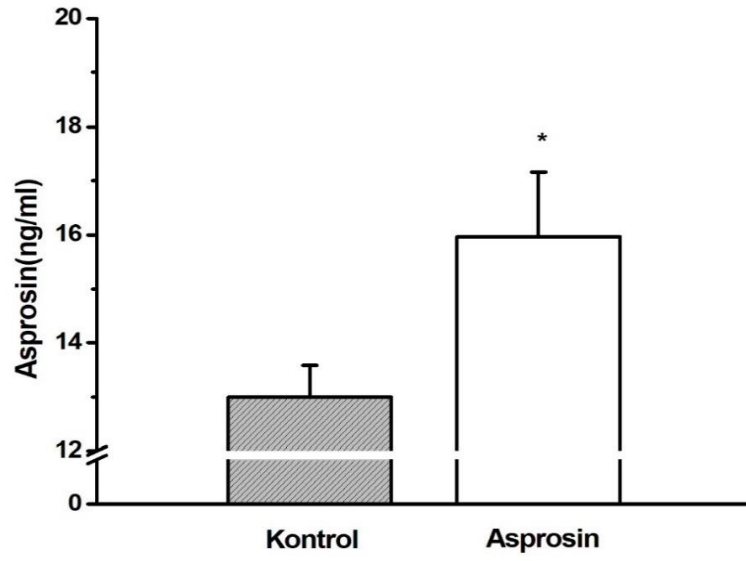
Şekil 13. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum GH seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum GH düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (55.28 ± 3.45), kontrol grubuna (57.33 ± 2.01) göre daha az olsa da anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



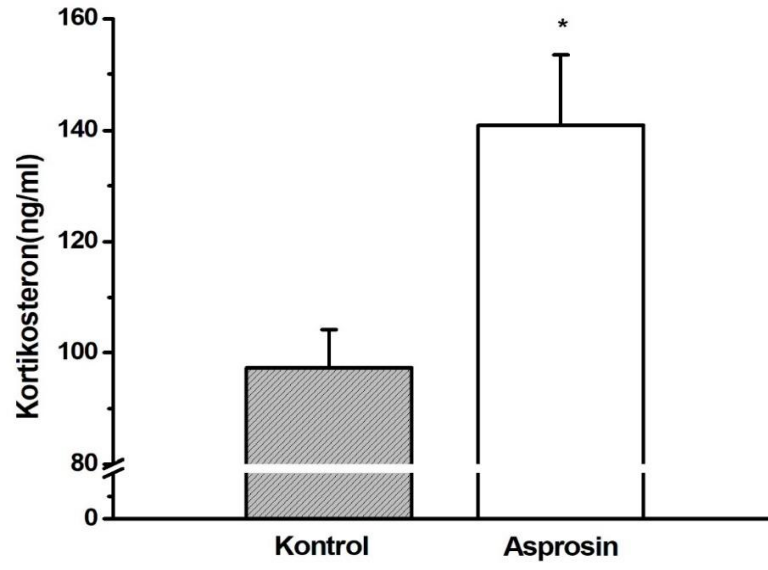
Şekil 14. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum TSH seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum TSH düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (20.35 ± 1.46), kontrol grubuna (21.73 ± 1.89) göre daha az olsa da anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.



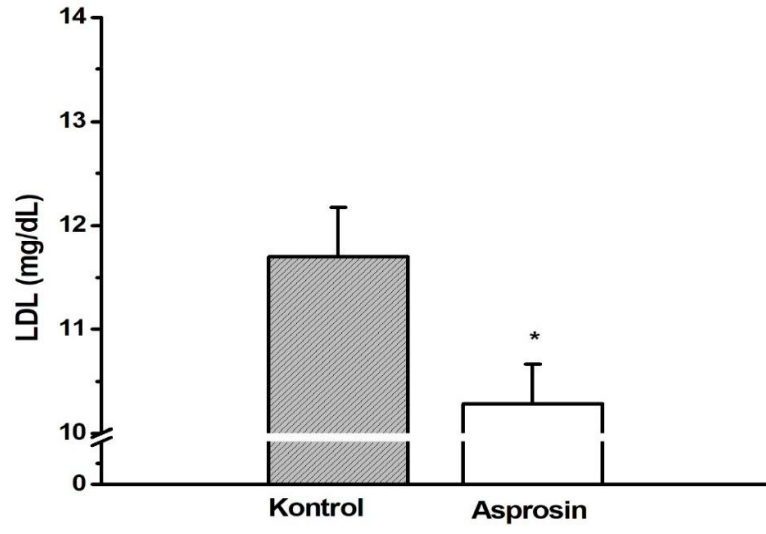
Şekil 15. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum asprosin seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum asprosin düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (12.99 ± 0.58), kontrol grubuna (15.96 ± 1.19) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$).



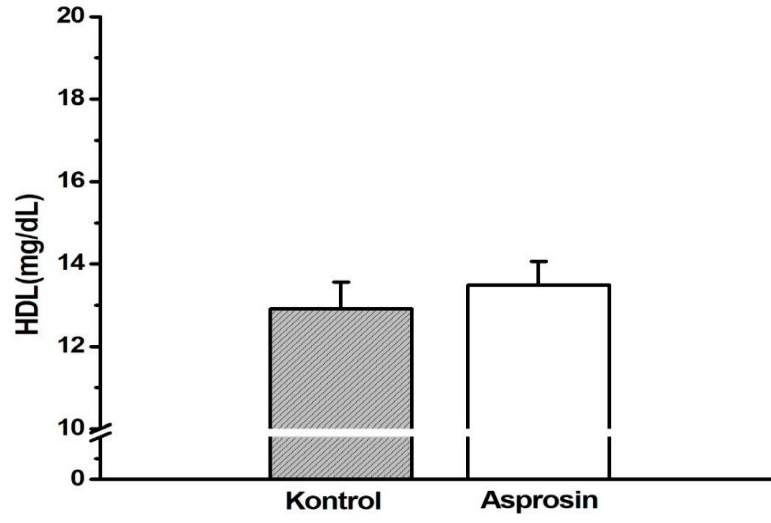
Şekil 16. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum kortikosteron seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum kortikosteron düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (140.89 ± 12.54) kortikosteron düzeyi, kontrol grubunkine (97.31 ± 6.87) göre anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$).



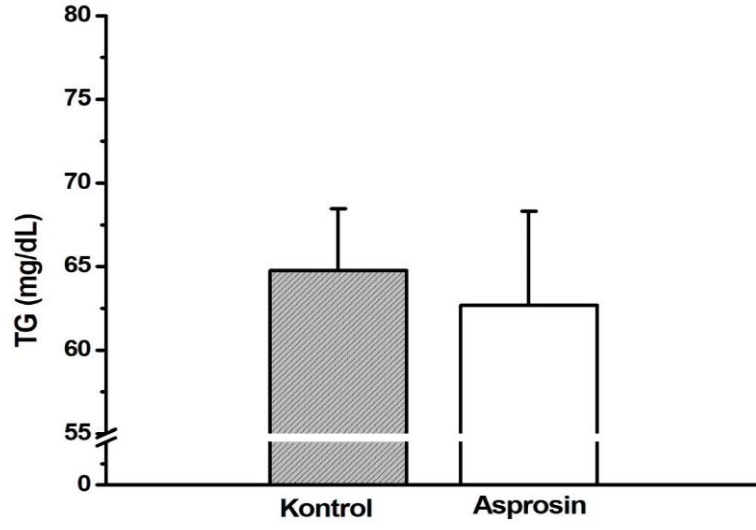
Şekil 17. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum LDL seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum LDL düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (10.28 ± 0.38) LDL düzeyi, kontrol grubunkine (11.70 ± 0.47) göre anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$).



Şekil 18. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum HDL seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum HDL düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (13.48 ± 0.58), kontrol grubuna (12.91 ± 0.65) göre daha fazla olduğu görülse de anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 19. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının serum TG seviyesi üzerine etkisi

Erkek sıçanlarda serum TG düzeylerinin ortalaması incelendiğinde asprosin grubunun (62.67 ± 5.66) TG düzeyi, kontrol grubunkine (64.75 ± 3.70) göre daha az olsa da anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

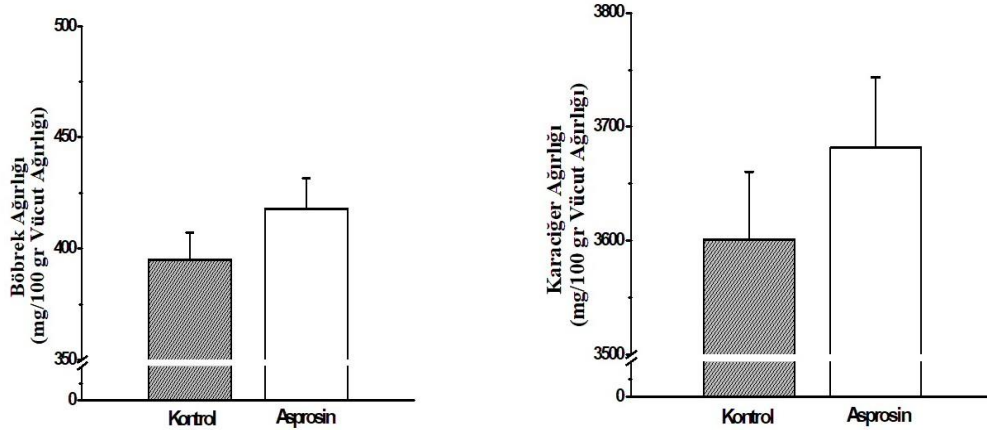
5.5. Doku Ağırlıkları

Asprosin uygulamasının erkek sıçanlarda böbrek ve karaciğer ağırlıkları üzerindeki etkileri Tablo 6’da gösterilmiştir. Böbrek ve karaciğer ağırlıklarının, kontrol grubuna kıyasla asprosin grubunda daha yüksek seyretmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 19).

Tablo 6. Asprosin uygulamasının böbrek ve karaciğer ağırlıkları üzerine etkisi (mg/100 gr Vücut Ağırlığı)

	KONTROL	ASPROSİN	p*
	Ort±SH	Ort±SH	
Böbrek	395.0±12.23	418.0±13.56	0.222
Karaciğer	3601.3±59.13	3681.6±61.85	0.358

*Independent Sample T Testi kullanılmıştır.



Şekil 20. Erkek sıçanlarda asprosin uygulamasının böbrek ve karaciğer ağırlıkları üzerine etkisi

6.TARTIŞMA

Asprosin büyük oranda beyaz yağ dokusundan salgılanan enerji metabolizmasında etkinliği olduğu düşünölen 140 aminoasitli yeni bir adipokindir. Literatürde Asprosin ile ilgili yapılan çalışmalarda, obez insan ve hayvanların patolojik olarak serum asprosin konsantrasyonlarının yüksek seyretmesi, asprosinin obezite ile ilişkili olabileceğini düşöndürmektedir (119, 120). Asprosin ile ilgili yapılan araştırmaların çoğunluğu, obeziteye odaklanmış olsa da diyabet ve insölin direnci, metabolik sendrom, PKOS gibi pek çok hastalığın patogenezinde de asprosinin rol alabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (125, 129, 131). Asprosinin enerji metabolizmasında etkinliği ve obeziteyle ilişkilendirilmiş olması, asprosinin iştah ve kilo alımı üzerine etkisi olabileceğini düşöndürmektedir.

Bu çalışmada, süttten kesildikten sonra prepubetal dönemden itibaren i.p asprosin (500 ng/kg) uygulanan Sprague-Dawley ırkı sağlıklı erkek sıçanların bu süreçte yem, su tüketimleri ve ağırlık değışimleri incelenmiştir. Ayrıca bu çalışmada asprosinin enerji metabolizmasında aktif rol alan bazı hormonlar üzerindeki etkileri ve serum lipid düzeylerine etkisi araştırılmıştır.

Bu çalışmamız kapsamında 69 günlük süreçte asprosin uygulanan erkek sıçanların kümülatif olarak hesaplanan günlük yem ve su tüketim ortalamalarının kontrol grubuna kıyasla asprosin grubunda daha yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı gözleendi. Aynı şekilde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında asprosin grubu sıçanların ağırlık artışları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Her ne kadar gruplar arasında ağırlık artış miktarında anlamlı bir fark görölmese de kontrol grubuna göre asprosin grubunun

ağırlık miktarlarının bir artış trendi içerisinde olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Edrees ve arkadaşlarının Wistar Albino ratlarda yaptığı çalışmada 2 hafta boyunca subkutan 30µg asprosin uygulanmasının, sıçanların besin alımını ve vücut ağırlığını anlamlı derecede arttırdığı bulunmuştur (132). Çalışmamızda anlamlı fark elde edilmemesinin temel sebepleri çalışmanın dönemsel farklılığı, kullanılan hayvanların cinsi, uygulanan asprosin hormonunun molekül tipi, uygulanma şekli veya dozundan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca çalışmamızda sağlıklı erkek sıçanlara asprosin uygulanmasının, besin alımı ve ağırlık değişiminde anlamlı bir artış oluşturmamış olması, literatürde yapılan çoğu çalışmada ise obezlerde asprosin seviyelerinin yüksek seyretmesi, obezlerde artmış viseral yağ dokusundan daha fazla asprosin salınımına bağlı olarak iştah ve ağırlık üzerine daha çok artış sağladığını ve bizim çalışmamızda asprosinin prepubertal dönemden itibaren uzun süreli tek başına gıda alımı ve ağırlık değişiminde anlamlı artış sağlamadığını düşündürmektedir.

Literatürdeki araştırmalarda, Tip 2 DM'li hastalarda serum asprosin seviyelerinin yüksek olduğu görülmüştür (16, 119, 120). Asprosinin karaciğere etki ederek karaciğerden dolaşıma glukoz geçişini arttırdığı ve genetik faktörlere bağlı asprosin disfonksiyonunun glukoz ve insülin konsantrasyonlarında önemli bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (16). İştah ve enerji metabolizması üzerindeki etkinliği araştırılan asprosin hormonunun enerji metabolizmasında önemli bir yeri olan insülin seviyelerini de değiştirebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda erkek sıçanlarda asprosin uygulanmasının kontrol grubuna oranla serum glukoz seviyelerinde anlamlı derecede artış sağladığı görülmüştür. Yüksek serum glukoz seviyelerinin görülmesinde sıçanlara uygulanan asprosinin karaciğer üzerine

doğrudan etki ederek hepatik glukoz yapımını ve dolayısıyla karaciğerden dolaşıma glukoz geçişini arttırmasıyla gerçekleştirdiği düşünülmüştür. Eldeki mevcut sonuçlar göz önüne alındığında erkek sıçanlara kronik asprosin uygulamasının insülin seviyelerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü. Yapılan bir çalışmada tek bir asprosin enjeksiyonunun, akut dönemde ilk 30 dakika içinde serum glukoz düzeyini arttırdığını ve enjeksiyondan 60 dakika sonra da tepki olarak hiperinsülinemi oluştuğu rapor edilmiştir (16). Bizim çalışmamızda bundan farklı olarak asprosinin uzun süreli (69 gün) etkisi incelenmiş olup uzun vadede asprosinin insülin seviyelerini etkilemediği görüldü.

Bu tez çalışması kapsamında sütten kesildikten sonra 90. güne kadar asprosin enjeksiyonu yapılan sağlıklı erkek sıçanların serum asprosin seviyeleri kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde yüksek bulundu. Çalışmamıza benzer olarak daha önceden yapılan bir araştırmada, obez erkek sıçanlarda asprosin düzeylerinin normal kilodaki sıçanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun aksine obez dişi sıçanların serum asprosin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (133). Bu çalışmalar doğrultusunda asprosinin dişi ve erkeklerde farklı etkiler oluşturabildiği söylenebilir.

Ghrelin, enerji metabolizması ve beslenmenin düzenlenmesinde güçlü iştah arttırıcı etkinliği olan bir hormondur (93). Yemek saatlerinden önce plazma düzeyleri hızlı bir şekilde artan ghrelinin, gıda alımını takiben ise bazal seviyelerine geri döndüğü rapor edilmiştir (98). Yapılan araştırmalar sonucunda, ghrelinin beslenmeyi düzenlemesine ek olarak glukoz metabolizması ve enerji dengesini de kontrol ettiğini göstermektedir. Asprosinin de benzer şekilde, iştah üzerine etkilerinden dolayı besin alımını arttırmada ghrelin benzeri bir etkiye sahip olduğu

düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda asprosin uygulanan erkek sıçanlarda, kontrol grubuna kıyasla asprosin grubunun serum ghrelin düzeylerinin daha düşük olduğu ancak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bu çalışmadan farklı olarak Hekim ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, asprosin uygulamasının ghrelin düzeyini arttırdığını göstermişlerdir (134). Bu araştırmalarda farklı bulguların elde edilmesinde deney hayvanlarının türlerinin aynı olmaması ve yapılan asprosin dozunun farklılığından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Ghrelinin iştah artışı ve kilo alımında etkili bir hormon olması ve çalışmamızda deney süresi boyunca asprosin grubunun ağırlık artışlarında kontrol grubuna oranla anlamlı bir ağırlık artışının olmayışı; ghrelin seviyelerinin de düşük seyretmesini destekler niteliktedir.

Enerji metabolizmasının düzenlenmesinde ve vücut ağırlığının kontrolünde etkinliği olan leptinin besin alımını azalttığı ve enerji kullanımını artırarak yağ depolanmasını azalttığı bilinmektedir (105, 106). Çalışmamız kapsamında enerji metabolizması ve beslenme üzerindeki etkinliği bilinen leptinin, asprosin uygulanan erkek sıçanlarda kontrollerine oranla serum leptin seviyelerinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü. Çalışmamıza benzer olarak Hekim ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmada serum leptin seviyelerinde anlamlı bir fark bulamamışlardır (134). Literatürdeki araştırmalar incelendiğinde, iştah, besin alımı ve kilo artışında etkili olan asprosin hormonunun leptin düzeyini hangi yönde etkilediğine dair yeterince bilgiye rastlanmamıştır.

GH salınımı, esas olarak gastrointestinal sistem tarafından salgılanan ghrelin tarafından uyarılmaktadır. GH'nin metabolik etkileri ağırlıklı olarak yağ dokusunda lipolizin uyarılmasını içermektedir. Bu da GH'nin yağ dokudan

sentezlenen asprosin ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmamızda sağlıklı erkek sıçanlara verilen asprosin hormonunun serum GH seviyeleri üzerinde anlamlı bir sonuç vermediği ancak asprosin grubunda ghrelinde olduğu gibi daha düşük seviyelerde olduğu görüldü. Bu çalışmada ghrelin seviyesinin düşük olması GH salınımının az olmasını ve düşük seviyelerde görülmesini etkilemiş olabilir.

Bu çalışmanın bulgularına benzer olarak Çin’de yapılan bir araştırmada uzun süreli yüksek GH seviyeleri olan akromegali hastalarında serum asprosin seviyelerinin sağlıklı kişilere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir (135). GH’nın yağ dokusunda lipolizi tetiklemesinden dolayı zamanla azalmaya neden olmakta ve bu da yağ dokudan sentezlenen asprosin hormonunun düşmesine sebep olduğu söylenebilir.

Stres sırasında salınarak stres sinyali beyne ileten ve MSS’deki fonksiyonel değişikliklere katılarak stres yanıtına aracılık eden birçok stres molekülü vardır. Adrenal bezden salgılanan kortizol (sıçanlarda kortikosteron) stres moleküllerinin başında gelmektedir. Kortizol/kortikosteron beynin farklı bölgelerinde intrasellüler glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak stres sırasında spesifik nöronal devrelerin modülasyonunu sağlamaktadır (136). Kortizol, stres anında hipoglisemiye önleyen katabolik bir moleküldür. Hipoglisemiye önlemek için glikoneogenezi, yağ ve proteinlerin yıkımını artırır ve pankreas beta hücrelerinden insülin salınımını baskılar (137). Bu tez çalışmasında erkek sıçanlarda kortikosteron düzeyinin kontrol grubuna kıyasla asprosin grubunda anlamlı derecede fazla olduğu görüldü ($p<0.05$). Literatürde asprosinin sağlıklı erkek sıçanlarda kortikosteronu ne yönde etkilediğine dair henüz bir çalışma bulunmamakla birlikte, bu çalışmada asprosinin kortikosteron seviyelerini arttırdığı

gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada abdominal obezitesi olan insanlarda normal insanlara göre daha yüksek kortizol seviyelerinin gözlenmiştir (138). Obezlerde asprosin düzeylerinin de yüksek seviyelerde seyretmesi, asprosinin kortizolle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak enerji metabolizmasında etkin rolü olan asprosin hormonunun fazla kilolu kişilerde salınımının artmasıyla kortizol seviyelerini de pozitif yönde etkilediği düşünülebilir.

Çalışmamızda periferal asprosin uygulanan sıçanların serum LDL düzeylerinin, kontrol grubuna kıyasla asprosin grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü. Ayrıca serum HDL ve TG düzeyleri incelendiğinde asprosinin HDL ve TG seviyeleri üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı görüldü. Bizim bulgularımızı destekler nitelikte olan ve yakın zamanda Hekim ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada asprosin verilen diyabetik farelerin karaciğerindeki TG ve LDL düzeylerinde azalma olduğu rapor edilmiştir (134). Çalışmamızdan farklı olarak ise yetişkin Wistar Albino sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada subkutan asprosin enjeksiyonunun serum TG ve LDL düzeylerini yükselttiği, HDL seviyesini düşürdüğü rapor edilmiştir (132). Literatür örnekleri incelendiğinde çalışmaların çoğu fazla kilolularda veya obezlerde dislipidemik tablonun (yüksek TG ve LDL, düşük HDL) gelişiminde asprosinin rol alabileceğini bildirmişlerdir (139, 140). Bu tez çalışmasında kullanılan hayvanların sağlıklı erkek sıçanlardan oluşması, asprosin enjeksiyonunun prepubertal dönemden itibaren 69 gün boyunca verilmiş olması, verilen asprosin dozuna bağlı olarak literatürdeki çoğu çalışmadan farklı verileri elde etmemizde etkili olduğu düşünülmüştür.

Sonuç Olarak;

Bu tez çalışmasında yeni bir adipokin olan asprosinin sağlıklı erkek sıçanlara prepubertal dönemden itibaren uzun vadeli periferik uygulanmasının besin alımı, ağırlık değişimi, iştah ve enerji metabolizması üzerindeki etkinliği araştırıldığında; sıçanlarda yem, su tüketimi ve kilo artışında anlamlı bir değişiklik gerçekleştirmediği gözlemlendi. Bu sonuç besin alımı ve kilo artışında asprosinin tek başına etkili olmadığını, karışık ve çok merkezli mekanizmaların görev aldığını düşündürmektedir. Bu çalışmada ilk kez asprosinin sağlıklı erkek sıçanlarda kortikosteron düzeylerinde anlamlı bir artışa sebep olduğu görüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Diamanti A, Basso M, Castro M et al. Clinical efficacy and safety of parenteral nutrition in adolescent girls with anorexia nervosa. *Journal of Adolescent Health*. 2008;42(2):111-8
2. Hay PJ, Claudino AM. Clinical psychopharmacology of eating disorders: a research update. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2012;15(2):209-22.
3. Organization WH. Obesity and overweight. 2020.
4. Dyer AR, Elliott P. The Intersalt study: relations of body mass index to blood pressure. Intersalt Co-operative Research Group. *Journal of Human Hypertension*. 1989;3(5):299-308.
5. Xavier F, Sunyer P. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report: National Heart, Lung, and Blood Institute; 1998.
6. Romero CA, Somers VK, Sierra JJ, et al. Diagnostic performance of body mass index to detect obesity in patients with coronary artery disease. *European heart journal*. 2007;28(17):2087-93.
7. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International, Diabetes Federation Diabetes Atlas. 2019;157:107843.
8. James PT. Obesity: the worldwide epidemic. *Clinics in dermatology*. 2004;22(4):276-80.
9. Berthoud HR, Morrison C. The brain, appetite, and obesity. *Annu Rev Psychol*. 2008;59:55-92.
10. Licinio J, Caglayan S, Ozata M, et al. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin deficient adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(13):4531-6.
11. Bouret SG, Simerly RB. Minireview: leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinology*. 2004;145(6):2621-6.
12. Roa J. Role of GnRH neurons and their neuronal afferents as key integrators between food intake regulatory signals and the control of reproduction. *International Journal of Endocrinology*. 2013.
13. Bellinger LL, Bernardis LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. *Physiology & Behavior*. 2002;76(3):431-42.
14. Karatsoreos IN, Thaler JP, Borgland SL, et al. Food for thought: hormonal, experiential, and neural influences on feeding and obesity. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(45):17610-6.
15. Duerrschmid C, He Y, Wang C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature Medicine*. 2017;23(12):1444.
16. Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, et al. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone. *Cell*. 2016;165(3):566-79.
17. Grimm ER, Steinle NI. Genetics of eating behavior: established and emerging concepts. *Nutrition Reviews*. 2011;69(1):52-60.

18. Lenard NR, Berthoud HR. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity*. 2008;16(3):11-22.
19. Ayar A. Diyetteki Dengeler; Beslenmenin Düzenlenmesi. Çağlayan Yegen B (editor). Guyton AC, 13.Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri. 2017:887-890.
20. Boron WF, Boulpaep EL. Medical physiology E book: Elsevier Health Sciences; 2016.
21. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology, 11th. WB Saunders Company, Philadelphia. 2006.
22. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2008;18(2):158-68.
23. Halis K. Sağlık Bilimleri İçin Temel Fizyoloji, İstanbul Medikal, Yayıncılık, 57.
24. Guyton AC. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, Çağlayan Yeğen B (editör). Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2017: 925-937.
25. Mayer J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *Obesity Research*. 1996;4(5):493-6.
26. Woods SC, Dalessio DA. Central control of body weight and appetite. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008:37-50.
27. Streefland C, Jansen K. Intramedullary projections of the rostral nucleus of the solitary tract in the rat: gustatory influences on autonomic output. *Chemical Senses*. 1999;24(6):655-64.
28. Arora S. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity. *Neuropeptides*. 2006;40(6):375-401.
29. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, et al. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404:661-71.
30. Kageyama H, Takenoya F, Hirako S, et al. Neuronal circuits involving neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus-mediated feeding regulation. *Neuropeptides*. 2012;46(6):285-9.
31. Waterson MJ, Horvath TL. Neuronal regulation of energy homeostasis: beyond the hypothalamus and feeding. *Cell Metabolism*. 2015;22(6):962-70.
32. Bell DR. Klinik Tıbbın Temelleri. Agar E (çeviren). Medical Physiology Pf, Clinical Medicine, 1.Baskı, İstanbul, Medikal, Yayıncılık .
33. Hetherington A, Ranson S. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *The Anatomical Record*. 1940;78(2):149-72.
34. Anand BK, Brobeck JR. Localization of a “feeding center” in the hypothalamus of the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1951;77(2):323-5.
35. Wynne K, Stanley S, McGowan B, et al. Appetite control. *Journal of Endocrinology*. 2005;184(2):291-318.
36. Betley JN, Xu S, Cao ZFH, et al. Neurons for hunger and thirst transmit a negative-valence teaching signal. *Nature*. 2015;521:180-5.
37. Elmquist JK, Elias CF, Saper CB. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*. 1999;22(2):221-32.

38. Durak M, Akbıyık F, Demirpençe E. Obezite patogenezi. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2007;38(4):167-72.
39. Wang J, Ling S, Usami T, et al. Effects of ghrelin, corticotrophin-releasing hormone, and melanotan-II on food intake in rats with paraventricular nucleus lesions. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2007;115(10):669-73.
40. Blevins JE, Eakin TJ, Murphy JA, et al. Oxytocin innervation of caudal brainstem nuclei activated by cholecystokinin. *Brain research*. 2003;993(1-2):30-41.
41. Lambert P, Phillips P, Wilding J, et al. C-fos expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus following intracerebroventricular infusions of neuropeptide Y. *Brain Research*. 1995;670(1):59-65.
42. Van Dijk G, Thiele TE, Donahey J, et al. Central infusions of leptin and GLP-1 amide differentially stimulate c-FLI in the rat brain. *American Journal of Physiology-Regulatory*. 1996;271(4):1096-100.
43. Lawrence CB, Snape AC, Baudoin FM, et al. Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology*. 2002;143(1):155-62.
44. Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, et al. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature*. 1996;380(6571):243-7.
45. MacNeil DJ, Howard AD, Guan X, et al. The role of melanocortins in body weight regulation: opportunities for the treatment of obesity. *European Journal of Pharmacology*. 2002;450(1):93-109.
46. Bray G, Inoue S, Nishizawa Y. Hypothalamic obesity. *Diabetologia*. 1981;20(1):366-77.
47. Matsuda M, Liu Y, Mahankali S, et al. Altered hypothalamic function in response to glucose ingestion in obese humans. *Diabetes*. 1999;48(9):1801-6.
48. Simpson KA, Martin NM, Bloom S. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabologia*. 2009;53(2):120-8.
49. Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, et al. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology*. 1997;138(2):839-42.
50. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, et al. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *The Journal of Clinical Investigation*. 1997;100(2):270-8.
51. Draper S, Kirigiti M, Glavas M, et al. Differential gene expression between neuropeptide Y expressing neurons of the dorsomedial nucleus of the hypothalamus and the arcuate nucleus: microarray analysis study. *Brain Research*. 2010;1350:139-50.
52. Bernardis LL, Bellinger LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. *Brain Research Reviews*. 1987;12(3):321-81.
53. Kalra SP, Dube MG, Pu S, et al. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine Reviews*. 1999;20(1):68-100.
54. Li C, Chen P, Smith MS. The acute suckling stimulus induces expression of neuropeptide Y in cells in the dorsomedial hypothalamus and increases NPY expression in the arcuate nucleus. *Endocrinology*. 1998;139(4):1645-52.

55. Guan XM, Yu H, Trumbauer M, et al. Induction of neuropeptide Y expression in dorsomedial hypothalamus of diet-induced obese mice. *Neuroreport*. 1998;9(15):3415-9.
56. Elias CF, Lee CE, Kelly JF, et al. Characterization of CART neurons in the rat and human hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology*. 2001;432(1):1-19.
57. Jacques D, Abdel-Samad D. Neuropeptide Y and NPY receptors in the cardiovascular system: implication in the regulation of intracellular calcium. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2007;85(1):43-53.
58. Giesbrecht CJ, Mackay JP, Silveira HB, et al. Countervailing modulation of Ih by neuropeptide Y and corticotrophin-releasing factor in basolateral amygdala as a possible mechanism for their effects on stress-related behaviors. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(50):16970-82.
59. Goto M, Arima H, Watanabe M, et al. Ghrelin increases neuropeptide Y and agouti-related peptide gene expression in the arcuate nucleus in rat hypothalamic organotypic cultures. *Endocrinology*. 2006;147(11):5102-9.
60. Jorgensen E, Knigge U, Watanabe T, et al. Histaminergic neurons are involved in the orexigenic effect of orexin-A. *Neuroendocrinology*. 2005;82(2):70-7.
61. Kubota N, Yano W, Kubota T, et al. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metabolism*. 2007;6(1):55-68.
62. Mizuno TM, Mobbs CV. Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting. *Endocrinology*. 1999;140(2):814-7.
63. Davidowa H, Ziska T, Plagemann A. Arcuate neurons of overweight rats differ in their responses to amylin from controls. *Neuroreport*. 2004;15(18):2801-5.
64. Lecklin A, Lundell I, Paananen L, et al. Receptor subtypes Y1 and Y5 mediate neuropeptide Y induced feeding in the guinea-pig. *British Journal of Pharmacology*. 2002;135(8):2029-37.
65. Mullins D, Kirby D, Hwa J, et al. Identification of potent and selective neuropeptide Y Y1 receptor agonists with orexigenic activity in vivo. *Molecular Pharmacology*. 2001;60(3):534-40.
66. Wieland H, Engel W, Eberlein W, et al. Subtype selectivity of the novel nonpeptide neuropeptide Y Y1 receptor antagonist and its effect on feeding in rodents. *British Journal of Pharmacology*. 1998;125(3):549-55.
67. Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, et al. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides*. 1986;7(6):1189-92.
68. Williams G, Bing C, Cai XJ, et al. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiology and Behavior*. 2001:683-701.
69. Hagan MM, Rushing PA, Pritchard LM, et al. Long term orexigenic effects of AgRP involve mechanisms other than melanocortin receptor blockade. *American Journal of Physiology* 2000;279(1):R47-R52.
70. Könnner AC, Janoschek R, Plum L, et al. Insulin action in AgRP-expressing neurons is required for suppression of hepatic glucose production. *Cell Metabolism*. 2007;5(6):438-49.

71. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, et al. Plasma levels of agouti-related protein are increased in obese men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;86(5):1921-4.
72. Argyropoulos G, Rankinen T, Neufeld DR, et al. A polymorphism in the human agouti-related protein is associated with late-onset obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87(9):4198-202.
73. Gamber KM, Huo L, Ha S, et al. Over expression of leptin receptors in hypothalamic POMC neurons increases susceptibility to diet-induced obesity. *Plos One*. 2012;7(1):e30485.
74. Ghamari LM, Srisai D, Cone RD. Multinodal regulation of the arcuate/paraventricular nucleus circuit by leptin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(1):355-60.
75. Farooqi IS, Yeo GS, O'Rahilly S. Binge eating as a phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *The New England Journal of Medicine*. 2003;349(6):606-9
76. Dominguez G. The CART gene: structure and regulation. *Peptides*. 2006;27(8):1913-8.
77. Murphy KG. Dissecting the role of cocaine-and amphetamine-regulated transcript in the control of appetite. *Briefings in Functional Genomics*. 2005;4(2):95-111.
78. Vettor R, Fabris R, Pagano C, et al. Neuroendocrine regulation of eating behavior. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2002;25(10):836-54.
79. Nakhate KT, Kokare D, Singru PS, et al. Central regulation of feeding behavior during social isolation of rat: evidence for the role of endogenous CART system. *International Journal of Obesity*. 2011;35(6):773-84.
80. De Lecea L, Kilduff T, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(1):322-7.
81. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*. 1998;92(4):573-85.
82. Sahu A. Interactions of neuropeptide Y, hypocretin-I (orexin A) and melanin-concentrating hormone on feeding in rats. *Brain Research*. 2002;944(1-2):232-8.
83. Rodgers RJ, Ishii Y, Halford JC, et al. Orexins and appetite regulation. *Neuropeptides*. 2002;36(5):303-25.
84. Kuo D-Y. Co-administration of dopamine D1 and D2 agonists additively decreases daily food intake, body weight and hypothalamic neuropeptide Y level in rats. *Journal of Biomedical Science*. 2002;9(2):126-32.
85. Wang GJ, Volkow ND, Logan J, et al. Brain dopamine and obesity. *The Lancet*. 2001;357(9253):354-7.
86. Mantzoros CS, Frederich RC, Flier JS, et al. Activation of β_3 adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice. *Diabetes*. 1996;45(7):909-14.
87. Leibowitz SF, Weiss GF, Suh JS. Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1990;37(4):735-42.
88. Sağlam E, Yariş E, Bilge S. Serotonin and gastrointestinal system. 2003.

89. Cui H, Sohn JW, Gautron L, et al. Neuroanatomy of melanocortin-4 receptor pathway in the lateral hypothalamic area. *Journal of Comparative Neurology*. 2012;520(18):4168-83.
90. Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, et al. Ghrelin: structure and function *Physiol Rev*. 2005;85:495-522.
91. De La Cour CD, Lindqvist A, Egecioglu E, et al. Ghrelin treatment reverses the reduction in weight gain and body fat in gastrectomised mice. *Gut*. 2005;54(7):907-13.
92. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87(6):2988-91.
93. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, et al. Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance hypothalamic perspective. *Endocrinology*. 2001;142(10):4163-9.
94. Morton G, Schwartz M. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *International Journal of Obesity*. 2001;25(5):S56-S62.
95. Olszewski PK, Schiöth HB, Levine AS. Ghrelin in the CNS: from hunger to a rewarding and memorable meal? *Brain Research Reviews*. 2008;58(1):160-70.
96. Date Y, Shimbara T, Koda S, et al. Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. *Cell Metabolism*. 2006;4(4):323-31.
97. Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, et al. Preclinical study: ghrelin administration into tegmental areas stimulates locomotor activity and increases extracellular concentration of dopamine in the nucleus accumbens. *Addiction Biology*. 2007;12(1):6-16.
98. Cummings DE. Ghrelin and the short-and long-term regulation of appetite and body weight. *Physiology and Behavior*. 2006;89(1):71-84.
99. Whatmore A, Hall C, Jones J, et al. Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clinical Endocrinology*. 2003;59(5):649-54.
100. Pulkkinen L, Ukkola O, Kolehmainen M, et al. Ghrelin in diabetes and metabolic syndrome. *International Journal of Peptides*. 2010;2010.
101. Kola B, Hubina E, Tucci SA, et al. Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(26):25196-201.
102. Kola B, Farkas I, Christ CM, et al. The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *Plos One*. 2008;3(3):e1797.
103. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
104. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 1995;269(5223):546-9.
105. Margetic S, Gazzola C, Pegg G, et al. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International Journal of Obesity*. 2002;26(11):1407-33.

106. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395(6704):763-70.
107. Schwartz MW. Regulation of appetite and body weight. *Hospital Practice*. 1997;32(7):109-19.
108. Elias CF, Saper CB, Maratos-Flier E, et al. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *Journal of Comparative Neurology*. 1998;402(4):442-59.
109. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2006;6(10):772-83.
110. Amitani M, Asakawa A, Amitani H, et al. The role of leptin in the control of insulin-glucose axis. *Frontiers in Neuroscience*. 2013;7:51.
111. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(5):292-5.
112. Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999;84(10):3686-95.
113. Rehman K, Akash MSH, Alina Z. Leptin: a new therapeutic target for treatment of diabetes mellitus. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(7):5016-27.
114. Sinha G. Leptin therapy gains FDA approval. *Nature Publishing Group*; 2014.
115. Sakai LY, Keene DR, Renard M, et al. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. *Gene*. 2016;591(1):279-91.
116. Lönnqvist L, Reinhardt D, Sakai L, et al. Evidence for furin-type activity-mediated C-terminal processing of profibrillin-1 and interference in the processing by certain mutations. *Human Molecular Genetics*. 1998;7(13):2039-44.
117. Li E, Shan H, Chen L, et al. OLFR734 mediates glucose metabolism as a receptor of asprosin. *Cell Metabolism*. 2019;30(2):319-28. e8.
118. Chen Y, Lin YC, Kuo TW, et al. Sensory detection of food rapidly modulates arcuate feeding circuits. *Cell*. 2015;160(5):829-41.
119. Ugur K, Aydin S. Saliva and blood asprosin hormone concentration associated with obesity. *International Journal of Endocrinology*. 2019;2019.
120. Wang M, Yin C, Wang L, et al. Serum asprosin concentrations are increased and associated with insulin resistance in children with obesity. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2019;75(4):205-12.
121. Lee T, Yun S, Jeong JH, Jung TW. Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2019;486:96-104.

122. Jung TW, Kim HC, Kim HU, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKC δ -activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(11):20888-99.
123. Sünnetci Silistre E, Hatipoglu H. Increased serum circulating asprosin levels in children with obesity. *Pediatrics International*. 2020;62(4):467-76.
124. Wang CY, Lin TA, Liu KH, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults. *International Journal of Obesity*. 2019;43(5):1019-25.
125. Zhang Z, Tan Y, Zhu L, et al. Asprosin improves the survival of mesenchymal stromal cells in myocardial infarction by inhibiting apoptosis via the activated ERK1/2-SOD2 pathway. *Life Sciences*. 2019;231:116554.
126. Wen MS, Wang CY, Yeh JK, et al. The role of Asprosin in patients with dilated cardiomyopathy. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2020;20(1):1-8.
127. Escobar HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*. 2018;14(5):270-84.
128. Alan M, Gurlek B, Yılmaz A, ve ark. Asprosin: a novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*. 2019;35(3):220-3.
129. Li X, Liao M, Shen R, et al. Plasma asprosin levels are associated with glucose metabolism, lipid, and sex hormone profiles in females with metabolic related diseases. *Mediators of Inflammation*. 2018.
130. Wang Y, Qu H, Xiong X, et al. Plasma asprosin concentrations are increased in individuals with glucose dysregulation and correlated with insulin resistance and first phase insulin secretion. *Mediators of inflammation*. 2018.
131. Zhang L, Chen C, Zhou N, et al. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride. *Clinica Chimica Acta*. 2019;489:183-8.
132. Edrees H, Morgan E. Asprosin: a risk factor for obesity and metabolic disturbance. *International Journal of Current Research*. 2018;10(9):73319-23.
133. Ozcan S, Ulker N, Bulmus O, et al. The modulatory effects of irisin on asprosin, leptin, glucose levels and lipid profile in healthy and obese male and female rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2020:1-8.
134. Hekim MG, Kelestemur MM, Bulmus FG, et al. Asprosin, a novel glucogenic adipokine: a potential therapeutic implication in diabetes mellitus. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2021:1-7.
135. Ke X, Duan L, Gong F, Zhang Y, et al. Serum Levels of Asprosin, a Novel Adipokine, Are Significantly Lowered in Patients with Acromegaly. *International Journal of Endocrinology*. 2020.
136. Manoogian EN, Panda S. Circadian rhythms, time-restricted feeding, and healthy aging. *Ageing Research Reviews*. 2017;39:59-67.

137. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Essentials of exercise physiology: Lippincott Williams and Wilkins; 2006.
138. Björntorp P, Holm G, Rosmond R. Hypothalamic arousal, insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. Diabetic Medicine. 1999;16(5):373-83.
139. Brown CD, Higgins M, Donato KA, et al. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. Obesity Research. 2000;8(9):605-19.
140. Despres JP. Obesity and lipid metabolism: relevance of body fat distribution. Current Opinion in Lipidology. 1991;2(1):5-15.

