



**AGOMELATİN'İN İŞTAH METABOLİZMASI ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Engin KORKMAZ**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Suat TEKİN**

**Doktora Tezi – 2024**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AGOMELATİN'İN İŞTAH METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Engin KORKMAZ**

**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Suat TEKİN**

**Tez Jüri Üyeleri  
Prof. Dr. Suat TEKİN  
Prof. Dr. Süleyman SANDAL  
Prof. Dr. Evren KÖSE  
Prof. Dr. Mete ÖZCAN  
Dr. Öğr. Üyesi Furkan YÜKSEL**

Bu araştırma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından  
222S915 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA  
2024**

# KABUL ONAY SAYFASI



**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne**

**ETİK BEYANI**

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Suat TEKİN danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Agomelatin’in İştah Metabolizması Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 03/07/2024

Engin KORKMAZ  
İmza

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İştahın Homeostatik Düzenlenmesinde Merkezi Sinir Sisteminin Rolü .....	3
2.2. Hipotalamus.....	4
2.2.1. Beslenmenin Hipotalamik Kontrolü.....	4
2.3. İştahın Düzenlenmesinde Nöropeptiderjik Sistemin Rolü .....	9
2.3.1. Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript.....	9
2.3.2. Proopiomelanokortin .....	9
2.3.3. Nöropeptit Y.....	11
2.3.4. Agouti-İlişkili Peptit.....	11
2.4. İştahın Düzenlenmesinde Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Rolü .....	12
2.4.1. Serotonin.....	12
2.4.2. Norepinefrin .....	12
2.4.3. Dopamin .....	13
2.5. İştahın Homeostatik Düzenlenmesinde Periferal Sistemin Rolü.....	13
2.5.1. Adipoz Dokudan Salınan Hormonlar .....	13
2.5.2. Pankreastan Salınan Hormonlar .....	15
2.5.3. Gastrointestinal Sistemden Salınan Hormonlar.....	16
2.6. Sirkadiyen Ritim.....	17
2.7. Melatonin.....	19
2.7.1. Melatonin Sentezi .....	19
2.7.2. Melatoninin Etki Mekanizması .....	22
2.7.3. Melatoninin Fizyolojik Etkileri .....	23
2.8. Agomelatin .....	25

2.8.1. Agomelatinin Keşfi .....	25
2.8.2. Agomelatinin Farmakolojik Özellikleri .....	26
2.8.3. Agomelatinin Güvenlik ve Toleransı .....	26
2.8.4. Agomelatinin Etki Mekanizması .....	27
2.8.5. Agomelatinin Sirkadiyen Ritme Etkisi.....	28
2.8.6. Agomelatinin Antidepresan Etkileri.....	29
2.8.7. Agomelatinin Metabolizma Üzerine Etkileri .....	29
3. MATERYAL ve METOT .....	30
3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez.....	30
3.2. Gruptaki Hayvan Sayısının Belirlenmesi .....	30
3.3. Deney Hayvanlarının Barınma Koşulları .....	30
3.4. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar .....	30
3.5. ELISA Analizleri.....	32
3.5.1. Plazma Leptin ve Ghrelin Seviyesinin Belirlenmesi.....	32
3.6. Real Time PCR Analizleri.....	34
3.6.1. Total RNA İzolasyonu ve Miktar Tayini.....	35
3.6.2. cDNA Sentez Protokolü ve Real Time PCR analizi .....	35
3.7. Protein Seviyesinin Belirlenmesi .....	36
3.7.1. Western Blot Analizleri .....	37
3.8. İstatistiksel Analizler .....	39
4. BULGULAR .....	40
4.1. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Yem Tüketimine Etkisi .....	40
4.2. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Vücut Ağırlığına Etkisi .....	41
4.3. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Plazma Leptin Seviyesine Etkisi .....	42
4.4. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Plazma Ghrelin Seviyesine Etkisi .....	43
4.5. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Hipotalamustaki mRNA Seviyelerine Etkisi .....	44
4.5.1. NPY mRNA Seviyesine Etkisi.....	44
4.5.2. POMC mRNA Seviyesine Etkisi.....	45
4.5.3. AgRP mRNA Seviyesine Etkisi .....	46
4.5.4. CART mRNA Seviyesine Etkisi .....	47

4.6. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Hipotalamustaki Protein Seviyelerine Etkisi .....	48
4.6.1. NPY Protein Seviyesine Etkisi.....	48
4.6.2. AgRP Protein Seviyesine Etkisi .....	49
4.6.3. CART Protein Seviyesine Etkisi .....	50
4.6.4. POMC Protein Seviyesine Etkisi.....	51
5. TARTIŞMA.....	52
5.1. Agomelatin Vücut Ağırlığını ve Yem Tüketimini Azalttı .....	52
5.2. Agomelatinin Plazma Leptin ve Ghrelin Seviyesine Etkisi .....	54
5.2.1. Agomelatin Plazma Leptin Seviyesini Arttırdı .....	54
5.2.2. Agomelatin Plazma Ghrelin Seviyesini Azalttı.....	56
5.3. Agomelatinin Hipotalamustaki POMC/CART ve NPY/AgRP Gen Ekspresyon ve Protein Seviyesine Etkisi.....	57
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR.....	62
EKLER .....	94
EK.1. ÖZGEÇMİŞ .....	94
EK.2. ETİK KURUL KARARI.....	95

## TEŐEKKÜR

Doktora tez çalıŐmama yürütücüsü olduğum 222S915 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK),

Fizyoloji Anabilim Dalında gerçekleŐtirdiĐim doktora eğitimim boyunca gösterdiği destek ve yardımlarının yanı sıra bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli danıŐman hocam Prof. Dr. Suat TEKİN'e ve anabilim dalımızın tüm öğretim üyelerine,

Tez alıŐması kapsamında western blot ve RT-PCR analizlerinin yürütülmesine katkı sağlayan Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Yavuz ERDEN'e, istatistiksel analizlerin gerçekleŐtirilmesine katkı sağlayan İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğretim üyesi Doç. Dr. Çiğdem TEKİN'e,

EĞitimim boyunca benden manevi desteğini ve sabrını esirgemeyen ailem ile desteğini her zaman hissettiğim ve her daim yanımda olan yol arkadaŐım Hivda Ezgi TURSUN'a

Sevgi ve saygılarımı sunar, teŐekkür ederim.

**Engin KORKMAZ**

## ÖZET

### Agomelatin'in İştah Metabolizması Üzerine Etkilerinin Araştırılması

**Amaç:** Hipotalamik çekirdekler anoreksijenik (iştahı azaltıcı) ve oreksijenik (iştahı arttırıcı) nöropeptitler sentezler. Leptin ve ghrelin gibi periferal hormonlar bu nöropeptitlerin seviyesini etkiler. Melatonerjik reseptörler (MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub>) ise iştah metabolizmasını düzenleyen faktörlerin salgılandığı yerlerde lokalizedir. Agomelatin güçlü MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> agonisti olan bir antidepresan ilaçtır. Bu çalışmanın amacı, agomelatinin iştah metabolizması üzerindeki etkilerini incelemektir.

**Materyal ve Metod:** *Sprague Dawley* ırkı 40 adet erkek sıçan dört gruba ayrıldı: Kontrol, Çözücü, Ago-20 ve Ago-40. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. Deney süresince; çözücü grubuna hidroksietil selüloz, Ago-20 ve Ago-40 gruplarına agomelatinin iki farklı dozu (20-40 mg/kg) oral gavaj yöntemiyle verildi. Sıçanların vücut ağırlıkları ve yem tüketim ölçümü günlük yapıldı. Uygulama sonunda sıçanlar ötenazi edilerek kan ve hipotalamik doku örnekleri toplandı. Plazmadaki leptin ve ghrelin seviyeleri ELISA'yla; hipotalamik AgRP, POMC, CART ve NPY gen ekspresyon seviyeleri RT-PCR yöntemiyle, protein seviyeleri ise western blot yöntemiyle belirlendi.

**Bulgular:** Agomelatin uygulaması sıçanlarda vücut ağırlığı, yem tüketimi, plazma ghrelin seviyesini azaltırken ( $p<0.05$ ), plazma leptin seviyesini arttırdı ( $p<0.05$ ). Agomelatin uygulanan gruplarda POMC, AgRP ve NPY gen ekspresyonları arttı. Ancak CART gen ekspresyonu azaldı ( $p<0.05$ ). Ayrıca bu gruplarda POMC ve CART protein düzeylerinin arttığı, AgRP ve NPY protein düzeylerinin azaldığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Bulgular agomelatinin iştahın merkezi ve perifer düzenlenmesinde görevli faktörleri etkileyerek yem tüketimini ve vücut ağırlığını azalttığını ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Agomelatin, İştah, Vücut ağırlığı, Yem tüketimi

## ABSTRACT

### Investigation of the Effects of Agomelatine on Appetite Metabolism

**Aim:** The hypothalamic nuclei synthesize anorexigenic (appetite-reducing) and orexigenic (appetite-increasing) neuropeptides. The levels of these neuropeptides are influenced by peripheral hormones such as leptin and ghrelin. Melatonergic receptors (MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub>) are localized at sites where factors regulating appetite metabolism are secreted. Agomelatine is a potent agonist of the MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> receptors and is used as an antidepressant medication. This study aimed to investigate the effects of agomelatine on appetite metabolism.

**Material and Method:** Forty male *Sprague Dawley* rats were assigned four groups: Control, Vehicle, Ago-20 and Ago-40. The control group did not receive any treatment. During the experiment, the vehicle group was administered hydroxyethyl cellulose, while the Ago-20 and Ago-40 groups were given two different doses of agomelatine (20-40 mg/kg) by the oral gavage. Body weights and feed intake were recorded daily. After the treatment period, rats were euthanized and samples of blood and hypothalamic tissues were obtained. Plasma leptin and ghrelin levels were quantified by ELISA; hypothalamic AgRP, POMC, CART and NPY gene expression levels were determined by RT-PCR and protein levels were determined by western blot methods.

**Results:** The administration of agomelatine resulted in a decrease in body weight, feed intake and plasma ghrelin levels ( $p < 0.05$ ), whereas it led to an increase in plasma leptin levels ( $p < 0.05$ ). The groups treated with agomelatine showed an increase in the expressions of POMC, AgRP and NPY genes. However, the expression of the CART gene displayed a significant drop ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the groups showed an increase in POMC and CART protein levels, accompanied by a decrease in AgRP and NPY protein levels ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The findings indicate that agomelatine reduces feed intake and body weight by influencing appetite regulation at both the central and peripheral levels.

**Keywords:** Agomelatine, Appetite, Body weight, Feed consumption

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AANAT</b>	: Arilalkilamin N-Asetil Transferaz
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik Hormon
<b>AgRP</b>	: Agouti-İlişkili Peptit
<b>ARN</b>	: Arkuat Çekirdek
<b>BDNF</b>	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumin
<b>cAMP</b>	: Siklik Adenozin Monofosfat
<b>CART</b>	: Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript
<b>CCK</b>	: Kolesistokinin
<b>cDNA</b>	: Tamamlayıcı DNA
<b>CLIP</b>	: Kortikotropin Benzeri Ara Peptit
<b>CRH</b>	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
<b>DMN</b>	: Dorsomedial Çekirdek
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ELISA</b>	: Enzim Bağlı İmmünsorbent Testi
<b>g</b>	: Gram
<b>GABA</b>	: Gama-Aminobütirik Asit
<b>GLP-1</b>	: Glukagon Benzeri Peptit-1
<b>HCl</b>	: Hidroklorik Asit
<b>HRP</b>	: Horseradish Peroksidaz
<b>IP3</b>	: İnositol Trifosfat
<b>İcv</b>	: İntraserebroventriküler
<b>KBB</b>	: Kan Beyin Bariyeri
<b>Ki</b>	: İnhibisyon Sabiti
<b>LHA</b>	: Lateral Hipotalamik Alan
<b>LPH</b>	: Lipotrofin
<b>MCH</b>	: Melanin Yoğunlaştırıcı Hormon
<b>MCR</b>	: Melanokortin Reseptörü

<b>MDB</b>	: Major Depresif Bozukluk
<b>ME</b>	: Median Eminens
<b>m-RNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi
<b>MT1</b>	: Melatonin Reseptör Tip 1
<b>MT2</b>	: Melatonin Reseptör Tip 2
<b>NPY</b>	: Nöropeptit Y
<b>NTS</b>	: Nukleus Traktus Solitaryus
<b>PC</b>	: Prohormon Dönüştürücü
<b>POMC</b>	: Proopiomelanokortin
<b>PVDF</b>	: Polivinilidin Florür
<b>PVN</b>	: Paraventriküler Çekirdek
<b>RHT</b>	: Retinohipotalamik Yol
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RNaz</b>	: Ribonükleaz
<b>RT-PCR</b>	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>SCG</b>	: Üst Servikal Ganglion
<b>SCN</b>	: Suprakiazmatik Çekirdek
<b>SDS</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat
<b>TBS-T</b>	: Tris Tamponlu Salin-Tween20
<b>Tmax</b>	: Zamana Bağlı Maksimum Konsantrasyon
<b>TRH</b>	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
<b>VMN</b>	: Ventromedial Çekirdek
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	: Alfa-Melanosit Uyarıcı Hormon
~	: Yaklaşık
$\infty$	: Sonsuz
<b><math>\mu</math>g</b>	: Mikrogram
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>5-HT</b>	: Serotonin
<b>5-HTP</b>	: 5-Hidroksitriptofan

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2. 1. İştahın düzenlenmesinde geribildirim mekanizmaları .....	3
Şekil 2. 2. Beslenmenin regülasyonunda görevli hipotalamus çekirdekleri arasındaki projeksiyonlar .....	5
Şekil 2. 3. Beslenme davranışının hipotalamik kontrolü.....	6
Şekil 2. 4. Hipotalamik beslenme ağı .....	8
Şekil 2. 5. POMC'den dokuya özgü üretilen ürünler .....	10
Şekil 2. 6. Melatonerjik reseptörlerin potansiyel kullanım alanları .....	18
Şekil 2. 7. Melatoninin kimyasal yapısı .....	19
Şekil 2. 8. Melatonin sekresyon mekanizması .....	20
Şekil 2. 9. Melatonin sentez basamakları .....	21
Şekil 2. 10. Melatoninin plazma seviyesi .....	21
Şekil 2. 11. Melatonin plazma seviyesinin yaşa bağlı değişimi .....	22
Şekil 2. 12. Melatonin ve agomelatinin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 2. 13. MT <sub>2</sub> /5-HT <sub>2C</sub> reseptör heterodimerleşmesi.....	28
Şekil 3. 1. Deney akış diyagramı .....	32
Şekil 3. 2. Leptin ve ghrelin için standart solüsyonun dilüe edilmesi .....	32
Şekil 3. 3. Kit plaka düzeni.....	33
Şekil 3. 4. ELISA analiz basamakları .....	34
Şekil 3. 5. Western blot analiz basamakları.....	38
Şekil 4. 1. Deney süresince sıçanların günlük ortalama yem tüketimleri.....	40
Şekil 4. 2. Deney süresince sıçanların günlük ortalama vücut ağırlıkları .....	41
Şekil 4. 3. Agomelatin uygulamasının plazma leptin seviyesine etkisi.....	42
Şekil 4. 4. Agomelatin uygulamasının plazma ghrelin seviyesine etkisi.. ..	43
Şekil 4. 5. Agomelatin uygulamasının NPY/β-Aktin mRNA oranına etkisi.....	44
Şekil 4. 6. Agomelatin uygulamasının POMC/β-Aktin mRNA oranına etkisi. ....	45
Şekil 4. 7. Agomelatin uygulamasının AgRP/β-Aktin mRNA oranına etkisi .....	46
Şekil 4. 8. Agomelatin uygulamasının CART/β-Aktin mRNA oranına etkisi .....	47

<b>Şekil 4. 9.</b> Agomelatin uygulamasının NPY/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve NPY bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B)	48
<b>Şekil 4. 10.</b> Agomelatin uygulamasının AgRP/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve AgRP bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B)	49
<b>Şekil 4. 11.</b> Agomelatin uygulamasının CART/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve CART bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B)	50
<b>Şekil 4. 12.</b> Agomelatin uygulamasının POMC/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve POMC bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B)	51
<b>Şekil 6. 1.</b> Agomelatinin iştah düzenlemesindeki olası etki mekanizması	61

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 2. 1.</b> Hipotalamusta iştah merkezlerini etkileyen faktörler .....	8
<b>Tablo 3. 1.</b> Çalışmada kullanılan primer dizilimler .....	35
<b>Tablo 3. 2.</b> Western blot analizinde kullanılan antikolar .....	39



# 1. GİRİŞ

Bilinçli yemek yeme isteği olarak tanımlanan iştah, enerji homeostazının sağlanmasında ve vücut ağırlığının korunmasında kritik bir role sahiptir. İştahın düzenlenmesini bilişsel ve homeostatik sinyalleri bütünleştiren karmaşık bir fizyolojik sistem sağlar. Homeostatik düzenlemede; gastrointestinal sistem ve yağ doku gibi perifer organlardan gelen sinyaller beyin düzeyinde entegre edilir (1). Hipotalamus çekirdekleri, çok sayıda iştah azaltıcı (anoreksijenik) ve iştah arttırıcı (oreksijenik) nöropeptit sentezleyerek gıda alımının düzenlenmesinde merkezi rol oynar (2).

Gıda alımının ve enerji dengesinin düzenlendiği bu alanların aşırı veya yetersiz uyarılması; anoreksiya nervoza, bulimia nervoza ve obezite gibi yeme bozukluklarına neden olabilir (3). Bu bozukluklardan en yaygın olan obezite; dünyada yüz milyonlarca insanı etkileyen tip 2 diyabet, miyokardiyal iskemi, birçok kanser türü ve inme gibi nörolojik hastalıkların oluşmasına zemin hazırlar (4).

Son yıllardaki çalışmalar depresyon ile obezite arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Obezite ve depresyon, klinik olarak birlikte ortaya çıkma eğilimindedir (5). Amerika Birleşik Devletlerinden (ABD) bildirilen epidemiyolojik veriler, depresif olan yetişkinlerin yaklaşık %43'ünün obez olduğunu göstermektedir (6). Depresyon ve obezitenin benzer fizyopatolojik mekanizmaları paylaştığı bilinmektedir (7, 8). Çok sayıda meta-analiz, depresyon ve obeziteyi birlikte görülen hastalıklar olarak doğrulamıştır (9, 10). Yapılan incelemeler depresyon tedavisinde kullanılan birçok antidepresan ilacın da kilo alımı ve obeziteye neden olduğunu ileri sürmüştür (11-13). ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezinin verilerine göre 1988'den bu yana antidepresan kullanımını yaklaşık %400 artmıştır (14). Klinik ve epidemiyolojik incelemeler artan antidepresan kullanımının obeziteye katkıda bulunan bir faktör olduğu hipotezini ortaya koymaktadır (15).

Depresif hastaların fizyolojik durumları da göz önüne alınarak antidepresan seçiminin yapılması önem arz etmektedir. Bu kapsamda özellikle yeni nesil antidepresan ilaçların iştah metabolizması üzerine etkisini belirlemek önemli bir strateji olabilir. Bu sebeple gıda alımının enerji gereksinimlerine göre ayarlanmasını sağlayan mekanizmaları anlayabilmek önemlidir.

Hipotalamus, beslenmenin ve gıda alımının düzenlenmesinde görevli merkezi bir bölgedir. Gıda alımının kontrolünde lateral hipotalamik alan (LHA) açlık merkezi, ventromedial çekirdek (VMN) ise tokluk merkezi olarak görev yapar (16, 17). Hipotalamusun paraventriküler (PVN), dorsomedial (DMN) ve arkuat çekirdeğinin (ARN) de iştahın merkezi düzenlenmesinde önemli yeri vardır. ARN'deki proopiyo melanokortin (POMC), kokain ve amfetamin ile düzenlenen transkript (CART), nöropeptit Y (NPY) ve agouti-ilişkili peptit (AgRP) nöron grupları enerji harcanması ve iştahın düzenlenmesinde önemli rol oynar (18). POMC ve CART nöronlarının ateşlenmesinin artması gıda alımını azaltırken, NPY ve AgRP nöronlarının aktivitesinin artması gıda alımını artırır (19). Ayrıca hipotalamus, iştahın düzenlenmesinde perifer organlardan gelen sinyalleri merkezi nöronal girdilerle entegre eder (20). Bu süreçte yağ dokudan salınan leptin POMC/CART nöronlarının aktivasyonunu artırarak iştahı baskılar. Mideden salınan ghrelin ise NPY/AgRP nöronlarının ateşlenme hızını artırarak iştahı ve gıda alımını artırır (21, 22).

İştah metabolizmasının düzenlendiği alanlarda melatonerjik reseptörlerin (MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub>) yoğun şekilde lokalize olduğu bildirilmektedir (23, 24). Eksojen melatonin uygulamasının ise bu reseptörler aracılığıyla NPY/AgRP ile POMC nöronlarını etkileyerek gıda alımını ve vücut ağırlığını azalttığı belirtilmektedir (25).

Agomelatin, MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörlerine agonist ve serotonerjik 5-HT<sub>2C</sub> reseptöründe nötral antagonist aktiviteye sahip ilk antidepresan olarak 2009 yılında Avrupa İlaç Kurumu tarafından majör depresif bozuklukların (MDB) tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır (26). Agomelatin, melatonin reseptörlerine yüksek afinite gösterir ve suprakiazmatik çekirdekteki (SCN) MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörlerinin aktivasyonu ile sirkadiyen ritmi düzenler (27). Agomelatinin melatonin benzeri etkiler gösterebileceği prelinik çalışmalarla ortaya konmuştur (28-30).

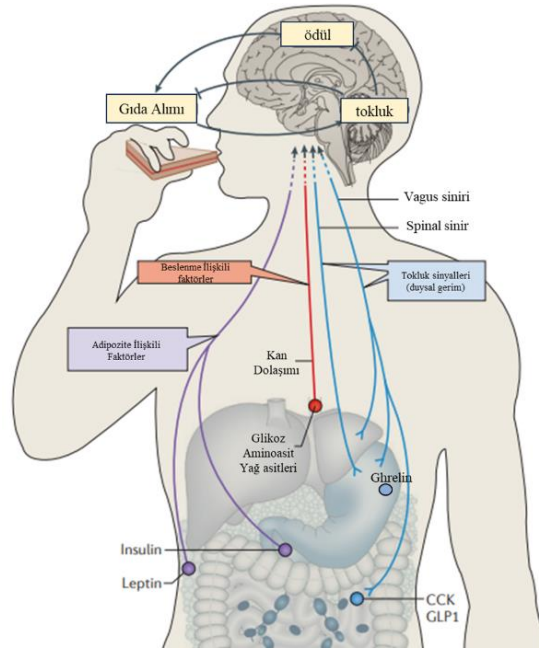
Bu bilgilerden yola çıkıldığında, agomelatinin iştah üzerindeki etkileri; sıçanların günlük yem tüketimi ve vücut ağırlığı gibi nicel gözlemlerin yanı sıra iştah metabolizması üzerinde etkili endokrinolojik faktörler (NPY, POMC, CART, AgRP) ile bunları etkileyen periferal faktörlerin (leptin ve ghrelin) seviyeleri ölçülerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Mevcut çalışma, depresyon tedavisi sırasında agomelatinin de dahil olduğu antidepresan ilaçların tercihinde kişinin fizyolojik durumunun da göz önüne alınarak değerlendirilmesine katkı sağlayabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İştahın Homeostatik Düzenlenmesinde Merkezi Sinir Sisteminin Rolü

İştah, bilinçli bir biçimde yeme isteği olarak tanımlanır ve enerji homeostazı ile vücut ağırlığının korunmasında önemli role sahiptir (31). İştahın düzenlenmesinde bilişsel ve homeostatik sinyalleri entegre eden karmaşık bir fizyolojik kontrol mekanizması vardır. Homeostatik süreçte merkezi sinir sistemi (MSS), organizmanın enerji durumunun algılanmasında ve kontrol edilmesinde ana unsurdur. Özellikle hipotalamus, iştah metabolizmasının merkezi düzenlenmesindeki rolü en iyi bilinen beyin bölgelerinden biridir (32). Hipotalamus; beyin sapı, gastrointestinal sistem ve adipoz dokudan gelen afferent beslenme sinyallerini alır (33, 34). Hipotalamik çekirdeklerdeki oreksijenik ve anoreksijenik devreler ise gıda alımının ve enerji harcamasının düzenlenmesindeki efferent yanıtları oluşturarak beslenme davranışını ortaya çıkarır (Şekil 2.1.) (18, 35). Gıda alımının çok seviyeli düzenleme mekanizmasında meydana gelen değişiklikler, obezite ve anoreksiya nervoza gibi yeme bozukluklarına yol açabilir (36, 37).



CCK: Kolesistokinin, GLP1: Glukagon Benzeri Peptit-1

Şekil 2. 1. İştahın düzenlenmesinde geribildirim mekanizmaları (38)

## 2.2. Hipotalamus

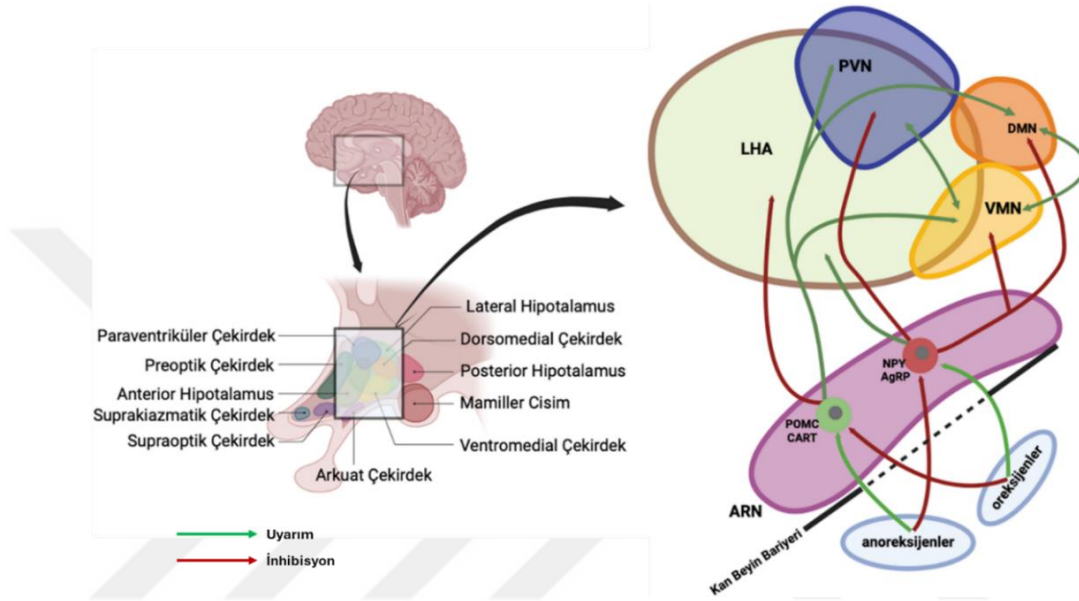
Hipotalamus; diensefalon bölgesinde, talamusun altında, üçüncü ventrikül ile sınırlı bir bölgede yer alır (39). Hipotalamus; ARN, PVN, LHA, VMN, DMN, SCN, posterior hipotalamus, mamiller cisim, supraoptik çekirdek, anterior hipotalamik bölge ve preoptik çekirdek olarak isimlendirilen birbirine bağlı nöron kümelerinden oluşur (Şekil 2.2.) (40). Bu alanlar, birçok kritik görevi düzenleyen ve kontrol eden önemli beyin bölgeleridir. Hipotalamusun başlıca görevleri aşağıda özetlenmiştir:

- 1. Açlık ve Tokluk Kontrolü:** Hipotalamus çekirdekleri aracılığıyla, enerji dengesini koruyabilmek için gıda alımını düzenler.
- 2. Susuzluk ve Sıvı Denge Kontrolü:** Hipotalamus, susama merkezi aracılığıyla sıvı alımını kontrol eder.
- 3. Vücut Sıcaklığının Regülasyonu:** Hipotalamus, vücut sıcaklığını ve termoregülasyonu düzenler.
- 4. Uyku ve Uyanıklık Döngüsü:** SCN aracılığıyla, biyolojik saati düzenler ve bu sayede uyku-uyanıklık döngüsünü kontrol eder.
- 5. Hormonal Kontrol:** Hipotalamus, ön hipofiz bezini uyaran hormonları üretir/salgılar. Bu hormonlar; büyüme, üreme, stres tepkileri gibi birçok fizyolojik süreci düzenler.
- 6. Otonom Sinir Sistemi Düzenlemeleri:** Hipotalamus, otonom sinir sistemi aracılığıyla kalp atış hızı, solunum ve sindirim gibi hayati işlevleri düzenler.
- 7. Duygusal ve Davranışsal İşlevler:** Limbik sistemle sıkı bir bağlantı içinde olan hipotalamus, duygusal tepkileri ve motivasyonu düzenler. Ödül sistemini kontrol ederek öfke, korku ve zevk gibi duygulara aracılık eder.
- 8. Vazopressin ve Oksitosin Salgılanması:** Hipotalamus, vazopressin ve oksitosin gibi hormonları üretir/salgılar (41).

### 2.2.1. Beslenmenin Hipotalamik Kontrolü

Hipotalamus, beslenmenin merkezi düzenlenmesindeki rolü en iyi bilinen beyin bölgelerinden biridir. Besin alımının kontrolünde temel olarak LHA'nın açlık merkezi ve VMN'nin ise tokluk merkezi olarak görev aldığı bilinir (16, 17). PVN ve DMN de iştahın merkezi düzenlenmesinde önemli rolleri olan bölgelerdir. ARN ise anatomik konumu

sebebiyle beslenmenin ve metabolizmanın düzenlenmesinde kritik rol oynar (42). Beslenmeyi düzenleyen bu çekirdekler birbirlerine yoğun bir şekilde projekte olurlar. Beslenmenin regülasyonunda görevli hipotalamus çekirdekleri arasındaki projeksiyonlar Şekil 2.2. ve Şekil 2.4.'de gösterilmiştir.



**AgRP:** Agouti-ilişkili peptit, **ARN:** Arkuat Çekirdek, **CART:** Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript, **DMN:** Dorsomedial Çekirdek, **LHA:** Lateral Hipotalamik Alan, **NPY:** Nöropeptit Y, **POMC:** Proopiomelanokortin, **PVN:** Paraventricüler Çekirdek, **VMN:** Ventromedial Çekirdek

**Şekil 2. 2.** Beslenmenin regülasyonunda görevli hipotalamus çekirdekleri arasındaki projeksiyonlar (biorender.com üzerinden oluşturulmuştur)

## Beslenmenin Kontrolünde Rol Alan Hipotalamik Çekirdekler

### Arkuat Çekirdek

ARN, mediobazal hipotalamusta bulunur. Pencere kapillerlerden zengin olan median eminens (ME) ile komşudur. Beslenmenin düzenlenmesinde periferik sinyallerin giriş kapısı olan ME'de kan beyin bariyeri (KBB) bulunmadığı için (43), ARN organizmanın genel enerji durumunun algılanmasında ayrıcalıklı bir konuma sahiptir (44). ARN, enerji gereksinimini yansıtan sinyallere uygun olacak şekilde davranışsal ve metabolik tepkileri ayarlayan nöron popülasyonları içerir (45). ARN'deki oreksijenik AgRP/NPY ve anoreksijenik POMC/CART eksprese eden nöronal popülasyonlar enerji harcaması ile iştahın düzenlenmesini koordineli olarak sağlarlar (46). POMC ve CART nöron aktivitesinin artışı besin alımını ve iştahı azaltırken, NPY ve AgRP nöronlarındaki impuls artışı ise besin



## **Lateral Hipotalamik Alan**

Kemirgenlerde yapılan öncül çalışmalar; bu alanın elektriksel uyarımının hiperfajiye neden olduğunu, lezyonunun ise gıda alımını şiddetli bir şekilde baskıladığını göstermiştir (54). LHA'nın oreksijenik etkilerine çoğunlukla melanin yoğunlaştırıcı hormon (MCH) ve oreksinin aracılık ettiği düşünülmektedir. Marsh ve ark. merkezi uygulanan MCH'nin gıda alımını arttırdığını bildirmiştir (55). Oreksin A ve B üreten nöronlar ise hipotalamusta ARN'nin de dahil olduğu birçok yere projekte olur (56). Elektrofizyolojik çalışmalarda oreksinin ARN'deki NPY nöronlarını aktive edip POMC nöronlarının aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (57, 58). Ayrıca LHA'daki gama-aminobütirik asit (GABA) nöronlarının PVN'yi hiperpolarize ederek besin alımını indüklediği bildirilmiştir (59).

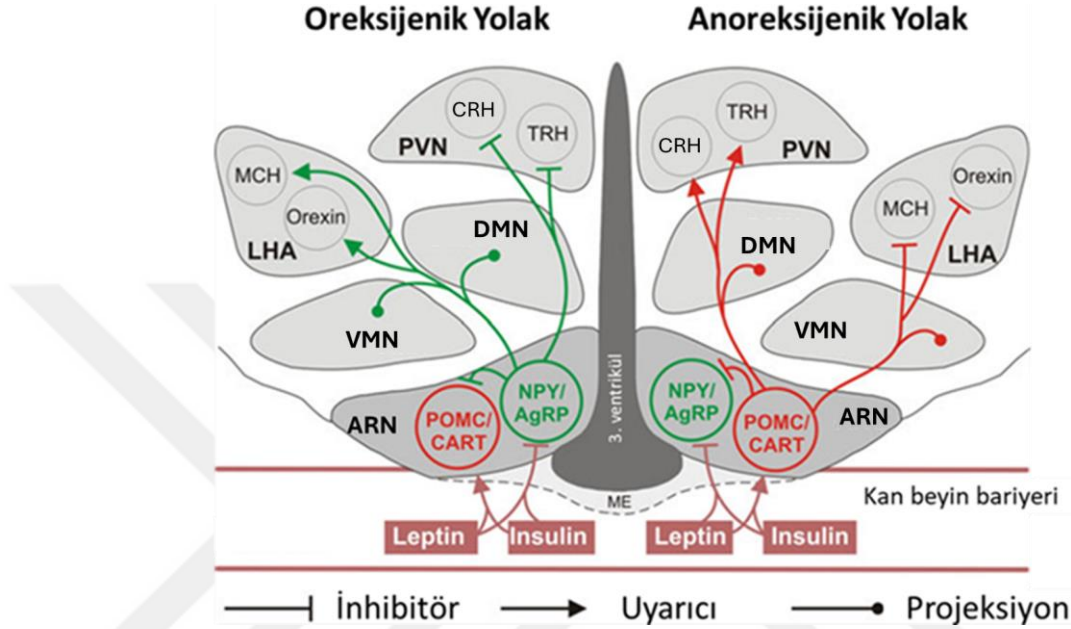
## **Dorsomedial Çekirdek**

DMN iştah ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Kemirgenlerde yapılan öncül çalışmalarda DMN'nin spesifik olmayan lezyonu hiperfaji ve obeziteye neden olmuştur (60). DMN, ARN'deki NPY ve alfa-melanosit uyarıcı hormon ( $\alpha$ -MSH) içeren akson terminallerinden yoğun girdi alır (61, 62). DMN'deki GABAerjik nöron popülasyonları da iştahın düzenlenmesinde önemlidir. Rau ve ark. POMC nöronlarındaki inhibitör girdinin çoğundan bu bölgedeki GABAerjik nöronların sorumlu olduğunu ileri sürmüştür (63). Otgon-Uul ve ark. ise GABAerjik nöronların optogenetik aktivasyonunun gıda alımını arttırdığını bildirmiştir (64). Yakın zamandaki çalışmalarda DMN'deki anoreksijenik nöron popülasyonlarının da önemi ortaya konmuştur (65-67). Bu bölgede leptine duyarlı GABAerjik nöronların alt popülasyonu bulunur (68). Leptin bu nöronların önemli bölümünü hiperpolarize ederek oreksijenik etkileri önler (64). Faber ve ark. leptine duyarlı nöronların susturulmasının gıda alımını arttırdığını rapor etmiştir (66).

## **Ventromedial Çekirdek**

VMN işlevinin aydınlatılmasına yönelik ilk çalışmalarda bu alanın spesifik olmayan harabiyetinin hiperfajiye neden olduğu gösterilmiş ve böylece bölgenin tokluk merkezi olarak işlev gösterdiği belgelenmiştir (69, 70). Daha sonraki çalışmalarda bu etkiye ARN'deki POMC nöronlarının neden olabileceği rapor edilmiştir (71). Sternson ve ark. VMN'nin belirli bölgelerinden çıkan uyarımın ARN'deki POMC nöronlarını aktive ettiğini

göstermiştir (72). Bununla beraber NPY nöronal aktivitesinin ise VMN nöronlarını hiperpolarize ettiği belirtilmiştir (73, 74). Hipotalamik çekirdekler arasındaki karmaşık beslenme ağı Şekil 2.4.'te sunulmuştur (75).



**AgRP:** Agouti-İlişkili Peptit, **ARN:** Arkuat Çekirdek, **CART:** Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript, **CRH:** Kortikotropin Salgılatıcı Hormon, **DMN:** Dorsomedial Çekirdek  
**LHA:** Lateral Hipotalamik Alan, **MCH:** Melanin Yoğunlaştırıcı Hormon, **NPY:** Nöropeptit Y  
**POMC:** Proopiomelanokortin, **PVN:** Paraventriküler Çekirdek, **TRH:** Tirotropin Salgılatıcı Hormon  
**VMN:** Ventromedial Çekirdek

Şekil 2. 4. Hipotalamik beslenme ağı (75)

Hipotalamusun beslenmeyi düzenleyen çekirdeklerinde, iştahı etkileyen hormonlar ve nörotransmitterler için reseptörler bulunur. Hipotalamustaki iştah merkezlerini etkileyen faktörler Tablo 2.1.'de sunulmuştur (76, 77).

**Tablo 2. 1.** Hipotalamusta iştah merkezlerini etkileyen faktörler

Oreksijenik Faktörler	Anoreksijenik Faktörler
NPY	$\alpha$ -MSH
AgRP	CART
Ghrelin	İnsülin
GABA	Leptin
Oreksin A	Serotonin
Melanin-yoğunlaştırıcı hormon	Kolesistokinin

**$\alpha$ -MSH:** Alfa-Melanosit Uyarıcı Hormon, **AgRP:** Agouti-İlişkili Peptit, **CART:** Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript, **GABA:** Gama-Aminobütirik Asit, **NPY:** Nöropeptit Y

## 2.3. İştahın Düzenlenmesinde Nöropeptiderjik Sistemin Rolü

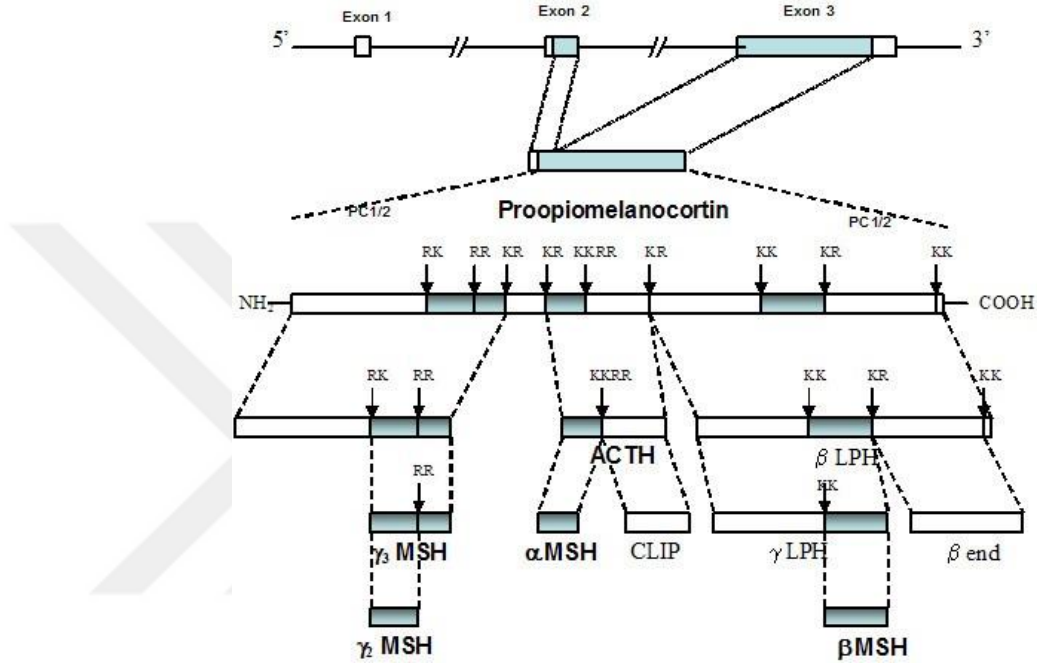
### 2.3.1. Kokain ve Amfetamin ile Düzenlenen Transkript

102 aminoasitli CART peptidi, sıçanlara akut kokain ve amfetamin uygulanmasından sonra striatumda karakterize edilmemiş bir m-RNA'nın upregüle edilmesiyle keşfedilmiştir (78). İnsan ve kemirgenlerde aminoasit dizilimi yüksek düzeyde korunmuş olan CART; gıda alımı, enerji metabolizması, endokrin fonksiyonlar ve bağımlılık gibi biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol alır (79). Gen ekspresyonu; merkezi, periferik ve enterik sinir sistemi, yağ doku, pankreas adacıkları ve adrenal medullada yer alır (80). Hipotalamusta ise enerji ve iştahın metabolizmasının düzenlendiği ARN, LHA, PVN ve DMN'de yüksek düzeydedir (81). Kemirgenlerde CART, anoreksijenik  $\alpha$ -MSH sentezleyen hücre topluluğunda ifade edilir. İnsanlarda ise kemirgenlerden farklı olarak, NPY/AgRP nöron topluluğunda da eksprese edilir (82). Sıçanlarda CART'ın intraserebroventriküler (icv) enjeksiyonu, yem tüketimini baskılamıştır. CART'ı nötralize edici antikörlerin uygulanması ise yem tüketimini arttırmıştır (83). Ayrıca farelerde CART geninin devre dışı bırakılması da gıda alımını artırarak obeziteye neden olmuştur (84). Literatürde CART'ın anorektik etkisi yaygın olarak kabul edilse de sınırlı sayıda zıt sonuç da mevcuttur. Abbott ve ark. CART'ın hipotalamik çekirdeklere doğrudan uygulanmasının oreksijenik etkiye sebep olduğunu bildirmiştir (85). Hou ve ark. ise, diyabetik sıçanların hipotalamik çekirdeklerine CART uygulamasının, NPY ve AgRP transkripsiyonunu artırarak yem tüketiminin artmasına neden olduğunu raporlamıştır (86). Henüz spesifik bir reseptörü veya ligandı tespit edilemeyen CART'ın (87, 88), bu etkisine hipotalamustaki CART'a ait farklı nöron alt tiplerinin sebep olabileceği öne sürülmüştür (85).

### 2.3.2. Proopiomelanokortin

241 amino asit kalıntısına sahip pro-hormon POMC, önemli fizyolojik etkilere sahip aktif peptit ve hormonların öncüsüdür (Şekil 2.5.). Memelilerde POMC, 3 ekzondan oluşur. Prohormon dönüştürücüler 1 ve 2 (PC1/2), ana POMC peptidini daha küçük peptitlere ayırır. Son ürünler, dokuya özgü bir şekilde üretilir. Nihai ürünler arasında melanokortinler (MSH'ler ve ACTH),  $\beta$ -endorfin ve kortikotropin benzeri ara peptit (CLIP) bulunur.  $\beta$  ve  $\gamma$  lipotropinler ( $\beta$ -LPH,  $\gamma$ -LPH) gibi biyolojik işlevi belirsiz kalan ara peptitler de vardır (89). POMC geni testis, duodenum, ovaryum, tiroit bezi, böbrek, kalp, akciğer gibi birçok organda

eksprese edilir. Ancak bu dokularda POMC protein seviyesi tespit edilememiştir (90). POMC geninin silinmesi bu organlarda farklı bir fenotipe sebep olmamıştır (91). Bu nedenle, bu organlarda POMC'nin üretilebileceği fizyolojik bir işlev oluşturamayacağı düşünülmektedir (91).



**αMSH:** Alfa Melanosit Uyarıcı Hormon, **γMSH:** Gama Melanosit Uyarıcı Hormon, **β-end:** Beta Endorfin, **β-LPH:** Beta Lipotrofin, **γ-LPH:** Gama Lipotrofin, **ACTH:** Adrenokortikotropik Hormon  
**CLIP:** Kortikotropin Benzeri Ara Peptit, **PC1/2:** Prohormon Dönüştürücüler 1 ve 2

**Şekil 2. 5.** POMC'den dokuya özgü üretilen ürünler (89)

Hipotalamus, hipofiz bezi, beyin sapı, lenfoid sistem ve deri gibi bölgelerde POMC'den türetilen peptitler önemli fizyolojik etkiler oluşturur. POMC hipofizinin hem ön lobunda hem de insanlarda körelen ara lobunda eksprese edilir. Ön lobda, kortikotrop hücrelerde POMC üzerinden sentezlenen ACTH, adrenal steroidlerin üretiminde önemli role sahiptir. Ara lobda ise melanotroflar, çoğunlukla derideki pigmentasyondan sorumlu α-MSH'yi üretir (92, 93). POMC beyinde esas olarak hipotalamusun ARN'sindeki anoreksijenik nöronlarda eksprese edilir. Gıda alımıyla birlikte POMC sentezleyen nöronlar, PVN'de MCR<sub>3</sub> ve MCR<sub>4</sub> aktivasyonunu sağlayan α-MSH'yi salgılar (53). α-MSH ise PVN'deki reseptörlerine bağlandığında tokluk hissini oluşturarak gıda alımını azaltır. Ayrıca kahverengi yağ dokuya sempatik çıkışı artırarak enerji harcanmasını artırır (94). Kemirgenlerde MCR<sub>4</sub> geninin devre dışı bırakılması obezite ve hiperfajiye neden olmuştur

(95). Kemirgenlerdeki bulgularla uyumlu olarak insanlarda da MCR<sub>4</sub>'teki genetik bozuklukların obezite gelişimine neden olduğu bildirilmiştir (96, 97).

### **2.3.3. Nöropeptit Y**

NPY, beyinden izole edilen 36 amino asitli bir peptittir. NPY'nin fizyolojik ve davranışsal etkileri, temel olarak iştah, kaygı, öğrenme, hafıza ve stresi düzenleyen bölgelerde bulunan Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub> ve Y<sub>5</sub> reseptörleri aracılığıyla sağlanır (98). Beyindeki ana kaynağı ARN'de AgRP ile birlikte salındığı nöron popülasyonlarıdır. Ayrıca DMN'de gebelik ve yavru bakımı gibi enerji ihtiyacının arttığı durumlarda gen ekspresyon seviyesi artar. NPY eksprese eden nöronlar hipotalamus dışında beyin sapı ve hipokampal bölgelerde yüksek düzeyde ifade edilir (99). Keşfedilmesinden hemen sonra yapılan çalışmalarda icv enjeksiyonu besin alımını güçlü bir şekilde stimüle etmiştir (100, 101). NPY, ARN'de POMC nöronları tarafından eksprese edilen Y<sub>1</sub> ve Y<sub>2</sub> reseptörlerini aktive eder ve membran hiperpolarizasyonuna yol açarak  $\alpha$ -MSH salınımını baskılar (102, 103). Ayrıca MCR<sub>4</sub> ifade eden PVN nöronlarının ateşleme frekansını inhibe ederek gıda alımının artmasına yol açar (104). Sıçanlarda merkezi uygulanan Y<sub>1</sub> reseptör agonistlerinin önemli oreksijenik etkiler meydana getirdiği (105) ve reseptör antagonisti ilaçların uygulanmasının da yem tüketimini önemli derecede düşürdüğü gözlemlenmiştir (106).

### **2.3.4. Agouti-İlişkili Peptit**

AgRP üreten nöronlarının beslenme üzerine etkisi ilk kez 27 yıl önce belirlenmiştir (107). Yapılan çalışmalar açlık sinyallerinin beslemeyi başlatmak için AgRP nöronlarını aktive ettiğini göstermektedir. Buna karşın gıda alımı, AgRP nöronlarının aktivasyonunun azalmasını sağlayan toklukla ilişkili faktörlerin salgılanmasına yol açar (48, 108). AgRP ifade eden nöronlar ARN'de yoğun olarak bulunur. Bu nöronlar AgRP, NPY ve GABA'yı birlikte eksprese eder (109, 110). Yapılan çalışmalar AgRP'nin MCR<sub>4</sub> reseptörünü antagonize ederek melanokortin yolağını doğrudan bloke ettiğini ortaya koymuştur (48).

Joppa ve ark. icv uygulanan AgRP'nin yem tüketimini arttırdığını bildirmiştir (111). Semjonous ve ark. ise merkezi olarak uygulanan AgRP'nin, NPY'ye kıyasla uzun süreli açlığa neden olduğunu göstermiştir (112). Livneh ve ark. da tokluk fazında AgRP nöronlarının kemogenetik olarak aktive edilmesinin açlık hissine neden olduğunu bildirmiştir. Yazarlar açlığın indüklenmesinin paraventriküler talamus ve bazolateral

amigdala yoluyla insular kortekse giden bir yol aracılığıyla sağlandığını ileri sürmüştür (113).

## **2.4. İştahın Düzenlenmesinde Monoaminerjik Nörotransmitterlerin Rolü**

### **2.4.1. Serotonin**

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), merkezi sinir sisteminde ve periferik organlarda çeşitli işlevlere sahip bir monoamindir. 5-HT, periferik olarak trombosit agregasyonu, intestinal motilite ve vasküler tonusla ilişkilendirilmiştir. Merkezi 5-HT ise, vücut ısısının düzenlenmesi, uyku-uyanıklık ritmi, kusma, cinsel davranış, ağrı, ruh hali ile iştah ve enerji metabolizmasıyla sıkı bir bağa sahiptir (114, 115).

5-HT; periferik olarak gastrointestinal sistemde enterokromafin hücrelerde sentezlenir. Merkezi olarak ise çoğunlukla dorsal rafe nöronlarında üretilir. Serotonin sentezleyen nöronlar hipotalamusun ARN'sindeki POMC ve AgRP nöronlarının da olduğu birçok yere projeksiyon yapar (116, 117). POMC nöronlarında lokalize 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerinin depolarizasyonu ise melanokortin sistemini aktive eder. Öte yandan AgRP nöronları 5-HT<sub>1B</sub> reseptörlerini eksprese eder ve aktivasyonları membran hiperpolarizasyonuna neden olarak oreksijenik etkileri sınırlar (116, 118).

Serotonerjik bileşiklerin akut uygulanması, ARN'de POMC gen ekspresyonunda artışa yol açar (119). Periferik 5-HT'nin ise KBB geçirgenliğinin zayıf olması nedeniyle doğrudan merkezi etkilere sebep olması beklenmez (120). Ancak merkezi etkilerini dolaylı olarak 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerine sahip vagal afferent liflerin aktivasyonu yoluyla sağlayabilir. Bu olasılığı destekleyen çalışmada, gastrik distansiyonla sentezi artan intestinal 5-HT salınımının, PVN'de nöronal aktivasyona neden olduğu gösterilmiştir. Ancak bu etki vagotomize hayvanlarda gözlenmemiştir (121).

### **2.4.2. Norepinefrin**

Norepinefrin dorsal vagal kompleks ve lokus seruleus gibi beyin sapı bölgelerinde sentezlenir. Bu alanlar kaudal olarak omuriliğe ve rostral olarak da hipotalamus, talamus ve kortekse uzanır. Kemirgenlerde norepinefrin enjeksiyonu, PVN'de anoreksiyaya yol açan alanları inhibe ederek hiperfajiye neden olur. Leptin geni olmayan obez (ob/ob) farelerin PVN ve LHA'sında yüksek noradrenalin seviyesinin olduğu bildirilmiştir. PVN ve diğer

hipotalamik alanlarda artan norepinefrin sinyalinin ise leptin eksikliğinin neden olduğu hiperfajiye katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (122, 123).

### **2.4.3. Dopamin**

Dopamin, beyinde ödül ve zevk duygularını düzenleyen bir nörotransmitterdir. Yapılan çalışmalar, dopaminin gıda alımı ve enerji dengesi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bu süreçte ARN'deki dopamin reseptörlerinin POMC nöronlarının aktivitesinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (124). Gaziano ve ark. beslenmeden yoksun bırakılmış farelerde POMC nöronlarındaki D<sub>2</sub> reseptörünün kemogenetik aktivasyonunun beslenmeyi akut olarak baskıladığını bildirmiştir (125).

## **2.5. İştahın Homeostatik Düzenlenmesinde Periferal Sistemin Rolü**

### **2.5.1. Adipöz Dokudan Salınan Hormonlar**

#### **Leptin**

Leptin, Lep<sup>ob</sup> geni tarafından kodlanan peptit yapıda bir hormondur. Çoğunlukla beyaz yağ dokuda sentezlenir ve dolaşıma salınır. Leptinin; glikoz ve lipid homeostazı, üreme, bağışıklık, inflamasyon, kemik fizyolojisi ile iştah ve enerji metabolizmasında önemli düzenleyici rolü vardır (126, 127).

Leptin, iştahın baskılanmasının ve enerji harcamasının arttırılmasında temel rol oynayan üzerinde en çok çalışılmış hormonlardan birisidir. Yapılan çalışmalarda leptin üretemeyen (ob/ob) farelerde ve insanlarda belirgin hiperfaji ve obezite gelişmiştir (128). Merkezi ve periferal uygulanan leptin ise bu metabolik bozuklukları tersine çevirmiştir (129, 130). Çeşitli metabolik ve hormonal faktörlerden etkilenen leptin salgısının açlık dönemlerinde azaldığı, toklukla beraber artmaya başladığı bildirilmiştir (131). Leptin, hipotalamusta ARN, PVN, LHA, DMN ve VMN'deki reseptörlerine bağlanır (46, 132, 133). Bu reseptör aracılığıyla vücudun enerji depoları hakkında bilgi alan hipotalamik nöronlar tokluk/açlık hissini düzenlemek için nöropeptitler salgılar (134, 135). Bu etkiyi ise başlıca ARN'deki POMC/CART nöronlarını uyararak ve AgRP/NPY nöronlarını inhibe ederek sağlar (48, 136).

Leptin hücresele düzeydeki etkisini bir dizi çoklu sinyal kaskadını aktive ederek sağlar. Leptinin etkilerine aracılık ettiği bilinen sinyal yolları arasında JAK-STAT3, PI3K-Akt-FoxO1, SHP2-ERK ve mTOR-S6K bulunur (132). STAT3 ve PI3K yolları leptinin gıda alımı ve sempatik sinir sistemi aktivitesi üzerinde rol oynar. Bu yollar leptin tarafından aktive edilmediğinde obezite fenotipi oluşur (137).

Çoğu obez birey yağ kütlesiyle orantılı olarak yüksek plazma leptin düzeyine sahiptir (138). Bu bireylerin bazılarındaki yüksek leptin düzeyi, beslenmenin baskılanmasını ve vücut ağırlığının azaltılmasını sağlayamaz (139). Leptin duyarlılığındaki bu azalma leptin direnci kavramı ile ifade edilir. Leptin direnci başlıca KBB boyunca leptin taşınmasındaki aksaklıktan veya leptin sinyallemesindeki bozukluktan kaynaklanır (140). Bundan dolayı leptin anorektik etkisini gösteremez. Günümüzde obezite, beslenme ve iştah metabolizmasına odaklanan çalışmalar leptin ve leptin direnci üzerine yoğunlaşmıştır (127).

### **Adiponektin**

Adiponektin, insülin duyarlılığını artırmada önemli işlevi olan adiposit türevi bir hormondur. Plazma konsantrasyonu vücut kitle indeksi ile negatif ilişkilidir (141). Adiponektin reseptörlerinin varlığı, enerji ve iştah metabolizmasının düzenlendiği ARN ve LHA da dahil olmak üzere beynin farklı bölgelerinde belirlenmiştir (142, 143). Ancak iştah metabolizması üzerindeki etkilerine dair elde edilen bulgular çelişkilidir (144).

### **Resistin**

Adipositler tarafından salgılanan resistinin hipotalamusun ARN'sinde mRNA ve protein düzeyi yüksek bulunmuştur (145). Daha az oranda ise VMN ve PVN'de tespit edilmiştir (145). Vazquez ve ark. kemirgenlere merkezi resistin uygulanmasının ARN'de CART gen ekspresyonunu arttırdığını, NPY ve AgRP gen ekspresyonunu ise azalttığını bildirmiştir (146). Tovar ve ark. da merkezi uygulanan resistinin kısa süreli toklukla (uygulamadan sonraki 90 dakika) ilişkili olduğunu raporlamıştır (147).

### **Vaspin**

Adipokin ve serin proteaz inhibitörü olan vaspin ilk kez insülin direnci olan obez sıçanların yağ dokusunda tanımlanmıştır (148, 149). Farelerde merkezi olarak uygulanması gıda alımını kısa süreli azaltmıştır (150).

## **Apelin**

Apelin, başlıca adipoz dokuda salgılanan bir hormondur. Apelin-36, apelin-17 ve apelin-13 gibi çeşitli aktif formları mevcuttur. Obez bireylerde serum apelin düzeyinin yüksek olduğu belirtilmektedir (151). Saral ve ark. sıçanlarda periferik apelin-13 uygulamasının gıda alımını arttırdığını bildirmiştir. Çalışmada gözlemlenen oreksijenik etkiye ise ghrelinin aracılık ettiği ileri sürülmüştür (152).

## **Asprosin**

Duerrschmid ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, beyaz yağ dokudan salınan asprosinin iştahın düzenlenmesinde potansiyel bir rol oynayabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada asprosinin AgRP nöronlarını aktive ettiği ve POMC nöronlarını inhibe ettiği bildirilmektedir (153).

## **2.5.2. Pankreastan Salınan Hormonlar**

### **İnsülin**

1922'de pankreastan izole edilen insülin, geleneksel olarak glikoz metabolizması ile ilişkilendirilmiştir (53). İnsülinin glikoz homeostazı dışında iştah metabolizmasının kontrolünde de rolü vardır. İnsülin reseptörleri, iştahın homeostatik düzenlenmesinde önemli yeri olan ARN ve VMN gibi bölgelerde yoğun bir şekilde lokalizedir (154, 155). İnsülin reseptörlerinin özellikle ARN'de POMC nöronlarına ait reseptörlerle ko-lokalize olduğu belirtilmektedir (156). İnsülin reseptörlerinin antisens oligonükleotit kullanarak azaltılması sonucu ARN'de NPY ve AgRP gen ekspresyonu artmıştır (157). Farelere merkezi insülin uygulaması ise POMC gen ekspresyonunu artırarak yem tüketimini azaltmıştır (158). Periferik insülin yetmezliği oluşturulan sıçanlarda ise hipotalamik NPY gen ekspresyonu artmıştır (159). Bu verilerle uyumlu olarak insanlarda intranasal insülin uygulaması besin alımını düşürmüştür (160).

### **Glukagon**

Pankreasın alfa hücrelerinden salınan glukagon, enerji dengesi üzerinde çok yönlü etki gösteren bir hormondur. Glukagon, iştahı baskılayarak ve lipid metabolizmasını modüle ederek vücut ağırlığını ve yağlanmayı azaltma potansiyeline sahiptir. Ayrıca enerji

harcanmasını arttırarak ve termogenezi tetikleyerek kilo kaybını teşvik edebileceği belirtilmiştir (161).

### **2.5.3. Gastrointestinal Sistemden Salınan Hormonlar**

Besinler, gastrointestinal lümene girdikten sonra çeşitli peptitlerin salınımını uyararak kaudal beyin sapındaki nukleus traktus solitaryusa (NTS) giden vagal yolları aktive eder. NTS periferik tokluk sinyallerini bütünleştirir ve bu sinyalleri beslenme merkezlerine iletir (162). Ayrıca bu peptitlerden bazıları KBB'yi geçerek iştahı regüle eden hipotalamik merkezlerdeki reseptörlerine bağlanır (19).

#### **Ghrelin**

28 amino asitlik dizilime sahip ghrelin mide oksintik hücreleri tarafından sentezlenen/salgılanan bir hormondur (163, 164). Ağırlıklı olarak mide tarafından üretilmesine rağmen hipofiz, hipotalamus, duodenum, jejunum, ileum, kolon, akciğer, kalp, pankreas, böbrek ve testis gibi birçok doku tarafından üretilir (165). Bu hormonun plazma seviyesi yemek zamanlarıyla uyumlu sirkadiyen dalgalanmalar gösterir. Plazma ghrelin seviyesi açlık sırasında hızla yükselirken toklukla beraber hızla düşer (166).

Ghrelin besin alımının merkezi ayarlanmasını periferden düzenleyen ilk oreksijenik hormon olarak tanımlanmıştır (167). Etki mekanizmasını aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalarda periferal ve merkezi uygulanması ARN'deki NPY/AgRP üreten nöron gruplarının aktivasyonunu arttırmış ve POMC nöronlarının aktivasyonunu baskılamıştır (168-171). Ghrelinin oreksijenik etkisi için bu nöronlar gereklidir çünkü ghrelin, NPY ve AgRP'den yoksun farelerde gıda alımını arttıramaz (108). Ghrelinin KBB'deki geçirgenliğinin zayıf olması, periferal etkisinin başlıca n. vagus aracılığıyla NTS üzerinden olabileceğini düşündürmüştür (172, 173). Vagotomi yapılan sıçanlarda ghrelinin etkisini göstermemesi bu hipotezi güçlendirmiştir (174).

Ghrelin uygulamasının enerji metabolizması üzerindeki etkileri de rapor edilmektedir. Merkezi ghrelin enjeksiyonu, kahverengi yağ dokudaki sempatik aktiviteyi baskılamıştır (175, 176). Ghrelin, iştah ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi dışında glikoz ve lipid metabolizması, üreme, hücrel proliferasyon ile gastrointestinal ve kardiyovasküler sistem fonksiyonlarının düzenlenmesinde de görev alır (177, 178). Ayrıca ghrelin büyüme hormonu

salgılatıcı hormon reseptörüne ligand olması sebebiyle güçlü bir büyüme hormonu salgılatıcısıdır (179).

### **Glukagon Benzeri Peptit-1**

Glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1), gastrointestinal sistem ve beyinde proglukagon geninden türetilir. Hormonun; glikoz homeostazı, gastrointestinal motilite, iştah ve sindirimin düzenlenmesinde önemli rolü vardır (180). GLP-1 reseptörlerinin ARN’de yoğun bir şekilde bulunduğu bildirilmiştir. GLP-1 eksprese eden nöronların kemogenetik uyarılmasının ARN’deki POMC nöronlarının ateşleme hızını arttırdığı belirtilmektedir (181).

### **Kolesistokinin**

Kolesistokinin (CCK) diyetle alınan protein ve lipid seviyeleriyle orantılı olarak başlıca ince bağırsaktaki I hücreleri tarafından salgılanır. Araştırmalar CCK'nın tokluk sinyali olarak hareket ettiğini ve pankreas salgısının uyarılması, safra kesesinin kasılması ile mide boşalmasının geciktirilmesi gibi biyolojik işlevleri yerine getirebildiğini göstermiştir (182, 183). CCK'nın anorektik etkilerine beyin sapına iletilen vagal afferent lifler üzerindeki CCK<sub>1</sub> reseptörleri aracılık etmektedir (18).

### **Peptit YY**

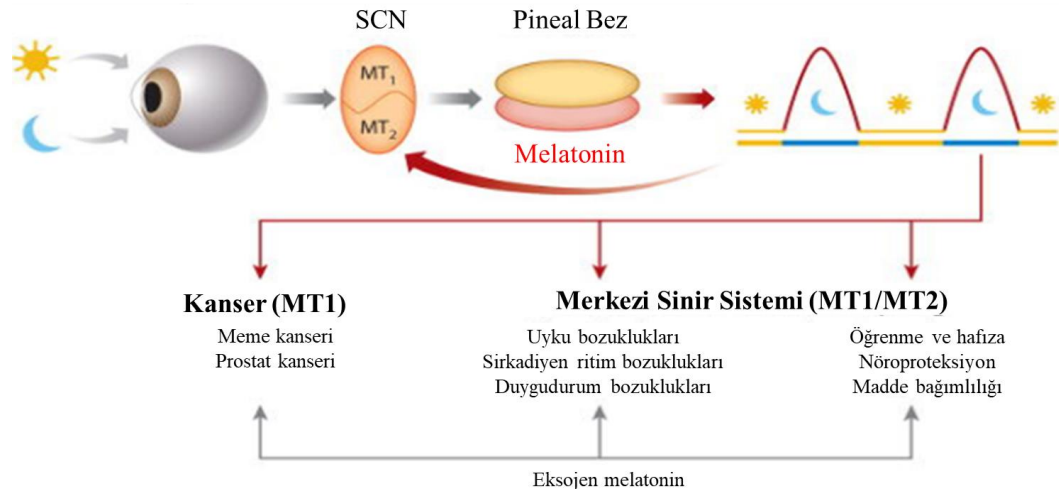
Gastrointestinal sistemden salınan Peptit YY'nin vücut kitle indeksi ile negatif ilişkili olduğu bildirilmektedir. Eksojen peptit YY'nin ise anorektik etkileri gösterilmiştir (184). Kemirgenlerdeki bu etkiye POMC nöronlarındaki aktivasyon artışının yol açtığı bildirilmiştir (185).

## **2.6. Sirkadiyen Ritim**

Sirkadiyen, Latince çevre anlamına gelen “circa” ve gün anlamına gelen “diēm” köklerinden türetilmiştir. Sirkadiyen ritim ile vücut ısısı, hormon üretimi, kalp atım hızı, kan basıncı ve beslenme gibi temel fizyolojik işlevler çevresel ihtiyaçlara uygun olarak yirmi dört saatlik döngülerle düzenlenir. Bu ritimler organizmanın aydınlık/karanlık döngüsü gibi günlük çevresel dalgalanmalara katılmasını ve uyum sağlamasını mümkün kılan endojen saatler tarafından üretilir. Hipotalamusun SCN'sinde bulunan merkezi saat ile melatonin

hormonu bu süreçte önemli rol oynar. SCN'deki merkezi saat esas olarak gözden aldığı ışık bilgisi ile günlük ritmi ayarlar (186-188). Melatonin ise MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri ile sirkadiyen ritmin fazını düzenler (76). Anatomik çalışmalar, SCN ile PVN ve ARN'nin de dahil olduğu çeşitli hipotalamik ve ekstra hipotalamik alanlar arasındaki bağlantıları tanımlamıştır (189, 190). SCN'deki nöronlar, hipotalamik bölgelerde iştahla ilişkili faktörlerin gen ekspresyonunu bu bağlantıları aracılığıyla düzenleyebilir (191). Örneğin, kemirgenlerde karanlık fazın başlangıcında artan gıda alımının NPY'den yoksun farelerde olmadığı gösterilmiştir. Bu durum, NPY'nin sirkadiyen ritminin gıda alımında diurnal ritimleri yönlendirdiğini düşündürmektedir (192).

Sirkadiyen ritmin modern yaşam tarzıyla çakıştığı durumlar (gece vardiyaları ve yapay ışık maruziyeti gibi), biyolojik saatin bozulmasına ve buna bağlı olarak sağlık sorunlarına neden olabilir (193). İnsanlarda yapılan genetik araştırmalar ise sirkadiyen bozulmanın aşırı gıda alımı ve artan vücut kütlesi ile ilişkisini ortaya koymuştur (194, 195). Sirkadiyen bozuklukların sebep olduğu uykusuzluk ve depresyon gibi patolojik durumlarda; MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörlerine etki eden melatonin analogları sıklıkla reçete edilmektedir. Ayrıca hafıza bozuklukları, nörodejenerasyon, madde bağımlılığı, kanser, anoreksiya ve obezite tedavisi için potansiyel hedefler olarak kabul edilen MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden tedavi arayışları devam etmektedir (Şekil 2.6.) (186, 196-198).

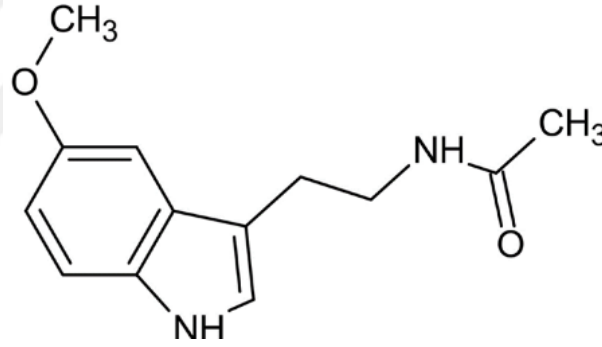


**MT<sub>1</sub>**: Melatonin Reseptör Tip1, **MT<sub>2</sub>**: Melatonin Reseptör Tip2, **SCN**: Suprakiazmatik Çekirdek

**Şekil 2. 6.** Melatonerjik reseptörlerin potansiyel kullanım alanları (196)

## 2.7. Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin, Şekil 2.7.), pineal bez tarafından kan dolaşımına salınan bir indolamin türüdür (199). Ekstrapineal olarak retina, kemik iliği, trombositler, deri, lenfosit, Harderian bezi, beyincik ve özellikle gastrointestinal sistemde üretildiği bildirilmiştir. Pineal bezde üretilen/salınan melatonin endokrin etkiler gösterirken, diğer organlardan üretilen melatonin parakrin etkiler gösterir. Bu nedenle, melatoninin plazma düzeyini belirleyen ana kaynak pineal bezdir (200). Endokrin melatonin; uyku/uyanıklık döngüsü, pubertal gelişim, lokomotor aktivite, kan basıncının düzenlenmesi gibi birçok işlevin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca çok güçlü bir antioksidan olan melatoninin antidepresan, anti epileptik, onkostatik, immünomodülatör, antiosteoporotik ve nöromodülatör özellikleri rapor edilmiştir (201-207).

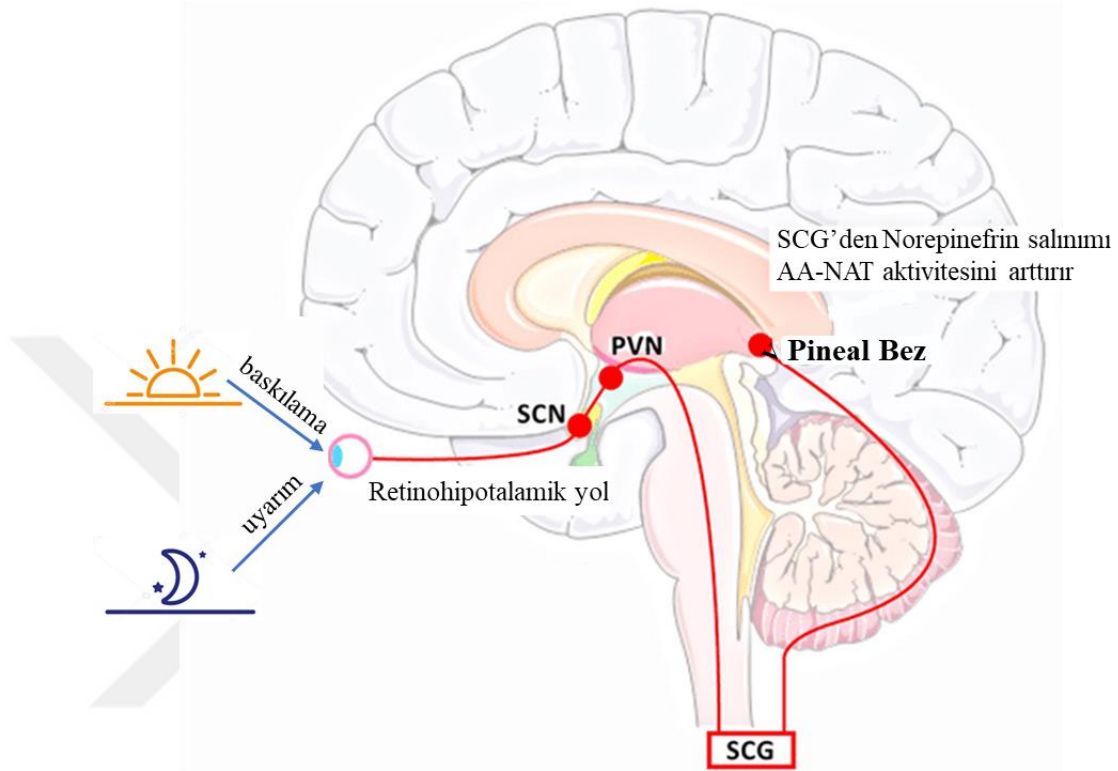


Şekil 2. 7. Melatoninin kimyasal yapısı (208)

### 2.7.1. Melatonin Sentezi

Melatonin sentez ve salınımını düzenleyen en önemli faktör ışıktır. Işığa duyarlı retinal ganglionik hücreler, retinohipotalamik yol (RHT) aracılığıyla ışık bilgisini SCN'ye gönderir. Ardından SCN, GABA aracılığıyla PVN'yi inhibe eder. Bu inhibisyon sonucunda pineal beze yönlendirilen sinyaller kesilir ve melatonin sentezi baskılanır. Karanlık ortamda ise retinal ganglionik hücreler uyarım almadığından SCN, PVN'yi glutamat aracılığıyla uyarır. Bu uyarım, spinal kordun üst torasik segmentindeki intermediolateral çekirdek üzerinden, üst servikal ganglionlardaki (SCG) nöronlara ulaşır. Ardından postgangliyonik sempatik lifler, pinealositlerdeki  $\alpha_1$  ve  $\beta_1$  adrenerjik reseptörleri aktive eder. Sonuç olarak cAMP seviyesi ve protein kinaz A'nın aktivasyonu artar. Böylece melatonin üretimi için

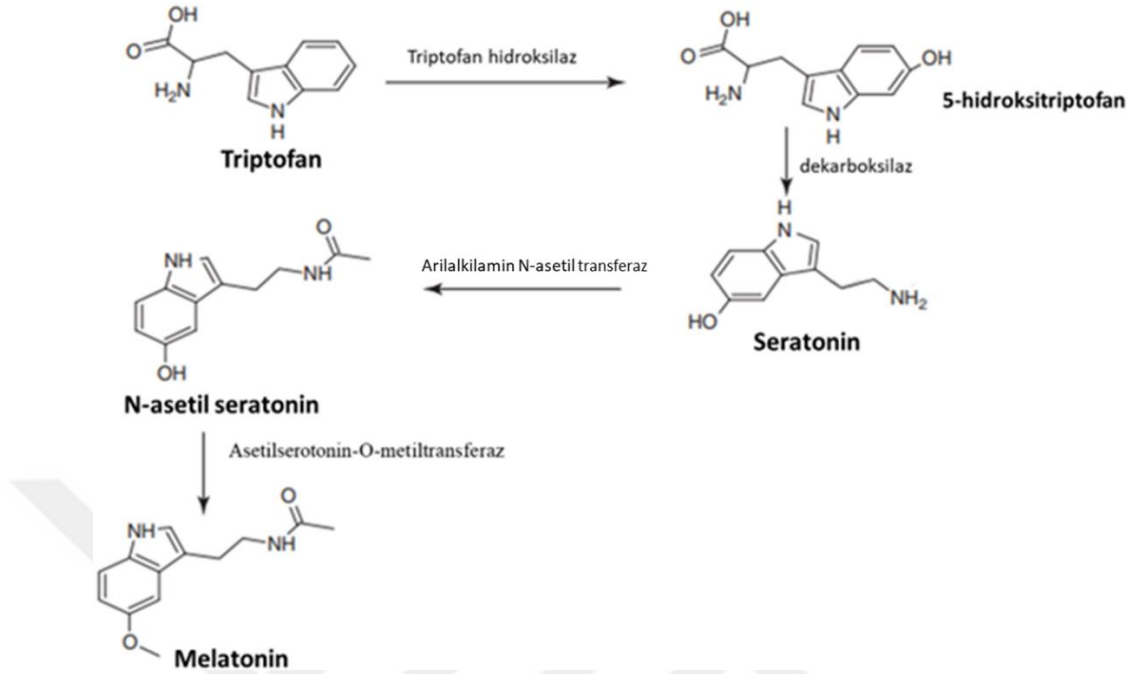
kritik olan arilalkilamin N-asetil transferaz (AA-NAT) enzim aktivitesi artar (Şekil 2.8.) (76, 209).



SCN: Suprakiazmatik Çekirdek, PVN: Paraventriküler Çekirdek, SCG: Üst Servikal Ganglion  
AA-NAT: Arilalkilamin N-Asetil Transferaz

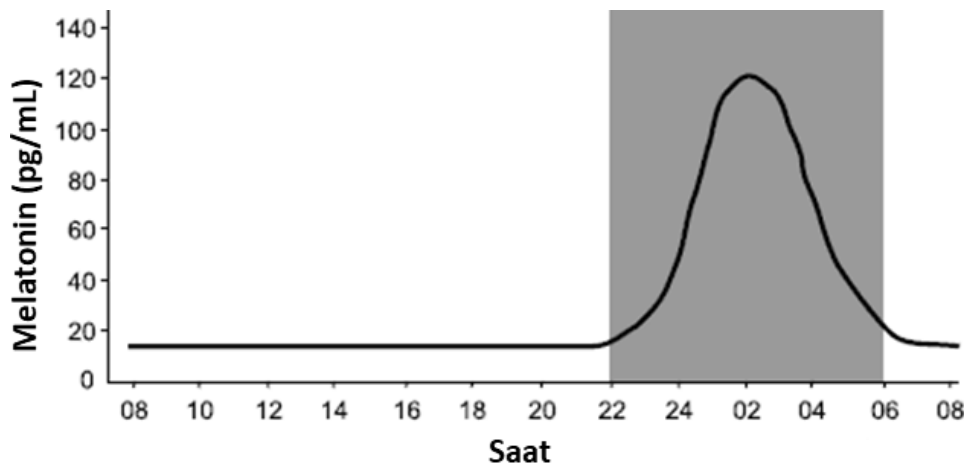
Şekil 2. 8. Melatonin sekresyon mekanizması (210)

Melatoninin biyosentezi, triptofanın pineal parankimal hücrelere alınmasıyla başlatılır. Triptofan, 5-hidroksilaz tarafından 5-hidroksitriptofana (5-HTP) çevrilir. 5-HTP ise 5-HTP dekarboksilaz tarafından 5-HT'ye dönüştürülür. 5-HT ilk olarak AA-NAT tarafından N-asetilserotonin oluşturmak üzere asetillenir. Ardından N-asetilserotonin melatoninini oluşturmak için asetilserotonin-O-metiltransferaz tarafından metillenir (Şekil 2.9.). Melatonin sentezlendikten sonra depolanmadan hedef dokulara ulaşmak üzere hızla dolaşıma ve beyin omurilik sıvısına salınır (200).



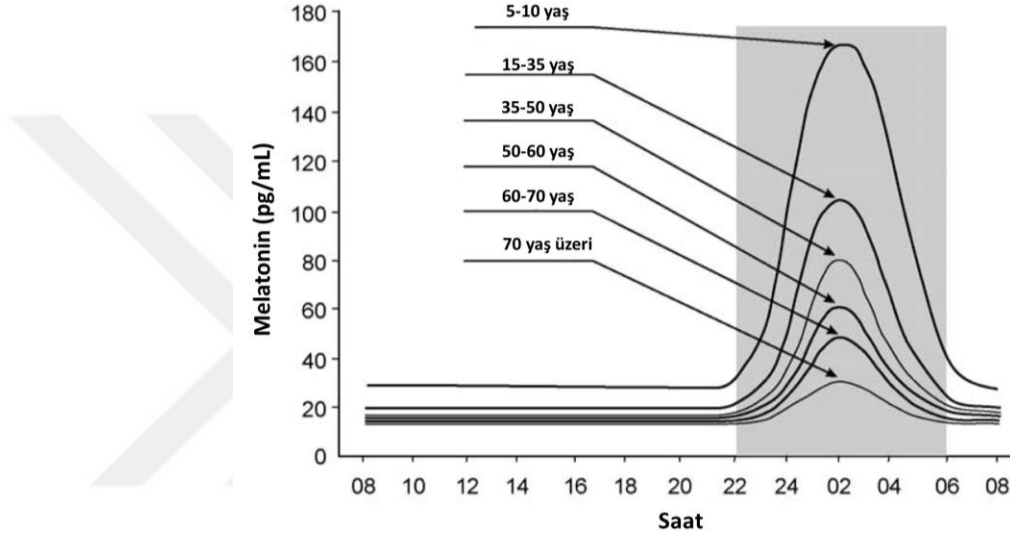
Şekil 2. 9. Melatonin sentez basamakları (208)

Melatonin MSS'ye ve tüm periferik organlara ulaşarak etkisini gösterir. Büyük oranda albümine bağlı olarak taşınır. İnsanlardaki plazma yarı ömrü yaklaşık 40 dakikadır. Melatonin karaciğerde sitokrom p450 izoformları tarafından 6-hidroksimelatonine dönüştürülür. Daha sonra idrarla atılması için 6-sülfatoksimelatonine konjuge edilir (211). Melatonin sentez/salgısı güneş battıktan hemen sonra artar ve gece yarısı (saat 2 ile 4 arası) pik yapar. Melatoninin yaklaşık %80'i geceleri sentezlenir ve plazma konsantrasyonu 80-120 pg/ml arasında değişir. Gündüz saatlerinde plazma seviyesi düşüktür (Şekil 2.10.) (200, 212).



Şekil 2. 10. Melatoninin plazma seviyesi (200)

İnsanlarda melatonin salgısındaki ritim, yaşamın 6-8. haftasında ortaya çıkar. 5-10 yaşları arasında en yüksek seviyeye ulaşır. Ergenlik döneminden itibaren plazma melatonin seviyesinde azalma gözlemlenir. Bu seviyeler 35-50 yaşlarına kadar genellikle istikrarlı bir seyir izler ancak yaşlanmayla beraber kademeli bir azalma meydana gelir. İleri yaştaki birçok kişide melatonin salgılanmasındaki gece-gündüz farklılıkları ortadan kaybolmuştur (Şekil 2.11.) (212).



Şekil 2. 11. Melatonin plazma seviyesinin yaşa bağlı değişimi (212)

### 2.7.2. Melatoninin Etki Mekanizması

Melatonin lipofilik yapısı sayesinde hücrelere kolaylıkla nüfuz edebilmektedir. Etkisini temel olarak reseptör bağımlı ve reseptör bağımsız olarak gerçekleştirir (76). Reseptör bağımlı etkilerine G protein kapılı  $MT_1$  ve  $MT_2$  aracılık eder (213, 214). Melatonin aktivasyonu bu reseptörlerde adenilat siklaz, fosfolipaz C, fosfolipaz  $A_2$ , kalsiyum ve potasyum kanallarını etkiler. Ancak  $MT_1$  ve  $MT_2$  aktivasyonu genellikle adenilat siklaz/cAMP aktivitesinin inhibisyonuna neden olan fosfolipaz C/ $IP_3$  etkisini arttırmaktadır (76, 215).

$MT_1$  ve  $MT_2$  reseptörleri hücrelerde ayrı ayrı veya birlikte eksprese edilebilir. Reseptörleri genelde dimerleşerek homodimer veya heterodimer oluşturur. Böylece melatonin bağlanma yerleri fonksiyonel şekilde tutulur (76).  $MT_1$  ve  $MT_2$  reseptörleri MSS'de yaygın olarak eksprese edilmektedir.  $MT_1$  reseptörü SCN, hipofiz ve hipotalamusta yoğunlaşmıştır. Bu sebeple  $MT_1$ 'in daha çok sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde rol aldığı

düşünülmektedir.  $MT_2$ 'nin lokalizasyonu ise  $MT_1$  ile karşılaştırıldığında sınırlıdır ve özellikle retinada yüksek ekspresyona ulaşır. Bu da  $MT_2$ 'nin daha çok aydınlık karanlık geçişinde rol oynadığını düşündürmektedir (215). Melatonerjik reseptörler aynı zamanda hemen hemen tüm periferel organlarda ifade edilir (216).

Melatoninin reseptörden bağımsız etkileri daha çok antioksidan doğasından kaynaklanır (76). Bu etkisi, serbest radikalleri doğrudan temizlenmesi veya endojen antioksidan kapasiteyi artırma yeteneğiyle açıklanmıştır. Melatoninin oksidoredüktaz özellikleri iyi bilinen kinon redüktaza ( $MT_3$ ) bağlandığı da gösterilmiştir (217). Melatoninin hücre çekirdeğinde retinoik asitle ilişkili orfan reseptör/retinoid Z reseptör grubuna bağlanma bölgeleri de vardır. Ancak bunların melatonin reseptörü olup olmadığı tartışmalıdır (218-220).

### **2.7.3. Melatoninin Fizyolojik Etkileri**

#### **Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi**

Melatoninin kan basıncı ve kalp hızının düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir. İncelemeler, melatonin sinyallemedeki bozulmanın kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığa sebep olabileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca melatoninin iskemi reperfüzyon sonucu oluşan kardiyak hasarı önlemedeki rolü gösterilmiştir (221). Kardiyovasküler hastalıklarda eksojen melatonin uygulamasının, koruyucu bir rol oynayabileceğini gösteren bir dizi araştırma da veriler arasındadır (222, 223).

#### **Gastrointestinal Sistem Sistem Üzerine Etkisi**

Gastrointestinal sistemdeki enterokromafin hücrelerde, pineal bezden 400 kat fazla melatonin üretilir ancak etkisi parakrindir (224). Hayvan çalışmalarında melatoninin düşük dozlarda bağırsak motilitesini artırdığı, ancak yüksek dozlarda bu etkinin gözlenmediği rapor edilmiştir (225).

#### **Reproduktif Sistem Üzerine Etkisi**

Melatoninin ergenlik öncesi yaşam boyunca en yüksek seviyelerde seyrederek (Şekil 2.11.). Bu durum yüksek seviyelerdeki melatoninin GnRH ekspresyonunu azaltarak üreme fonksiyonlarını ve cinsel olgunlaşmayı inhibe ettiğini düşündürmüştür (226). Ayrıca Yılmaz

ve ark. melatoninin hipotalamo-hipofizer-gonadal aksa etki ederek testosteron salgılanmasını engellediğini bildirmiştir (227).

### **İştah Metabolizması Üzerine Etkisi**

Sirkadiyen ritmin başlıca düzenleyicisi olan melatonin, memeli ve memeli olmayan türlerde iştahın ve yeme davranışının düzenlenmesinde önemli rol oynar (198, 228-230). Melatonin sentezindeki yetersizlik, metabolik süreçlerdeki sirkadiyen senkronizasyonun bozulmasına neden olarak obeziteye neden olabilir (194, 195, 198). Çok sayıda prelinik ve klinik çalışmanın incelendiği bir derlemede melatoninin kilo azaltıcı etkisi homojen şekilde gösterilmiştir (198).

### **Kronobiyolojik Sistem Üzerine Etkisi**

Kronobiyotik ajanlar, organizmanın biyolojik saatini düzenleyen maddelerdir. Bu maddeler, sirkadiyen ritimleri etkileyerek uyku-uyanıklık döngüsü, vücut sıcaklığı ve hormonal salınım gibi biyolojik işlevleri düzenler. *In vivo* olarak en iyi bilinen kronobiyotik ajan SCN'nin efferent çıktısı melatonindir. Melatonin sirkadiyen ritimleri stabilize eden ve güçlendiren bir zeitgeberdir (zaman verici). Melatoninin bu özelliği, hayvan çalışmalarında ve insanlarda sirkadiyen ritimleri manipüle etmek için bir araç olarak kullanılır (217, 231, 232).

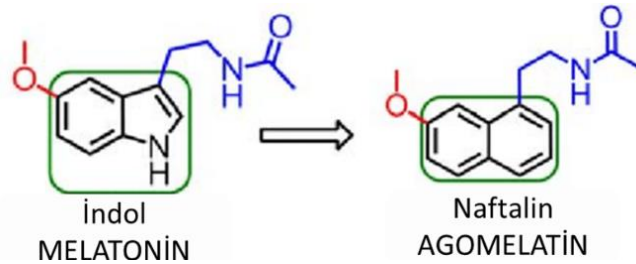
İnsanlarda suprafizyolojik dozlarda uygulanan melatonin, sirkadiyen saatin fazını değiştirir ve uykuyu teşvik eder. Bu etkilere SCN'deki melatonerjik reseptörler aracılık eder. MT<sub>1</sub> aktivasyonunun SCN aktivitesini inhibe ettiği, MT<sub>2</sub> reseptörünün ise sirkadiyen saatin döngüsünün değiştirilmesinde rol aldığı gösterilmiştir (233).

Melatonerjik reseptörler, birçok hastalığın patofizyolojik mekanizmalarında terapötik bir hedeftir. Ancak melatoninin plazmadaki yarı ömrünün kısa olması bazı alanlarda terapötik kullanımına set çeker. Bu sebeple MT<sub>1</sub> ve/veya MT<sub>2</sub> reseptörleri aracılığıyla etki gösteren ilaçlar geliştirilmiştir. Bunlar arasında birçok ülkede kullanımı onaylanan ramelteon, tasimelteon ve MDB tedavisinde kullanılan agomelatin yer alır (196, 234).

## 2.8. Agomelatin

### 2.8.1. Agomelatinin Keşfi

MDB; sürekli düşük ruh hali, çoğu aktiviteden zevk alamama, konsantrasyon bozukluğu, iştah ve uyku düzeninde bozulma, bilişsel bozukluklar, değersizlik hissi ve intihar düşüncelerini içeren psikolojik, davranışsal ve fizyolojik semptomlarla karakterize bir psikiyatrik bozukluktur (235). MDB'nin etiyojisi genetik, fizyolojik veya hormonal kökenli olabilir. Ayrıca psikolojik ve sosyal faktörler tarafından tetiklenebilir. Bunlara ek olarak sirkadiyen ritim bozukluğunun da MDB'nin başlangıcına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (236, 237). Depresif bozukluklarda çeşitli antidepresan ilaçlar etkili olsa da hastaların önemli bir kısmı farmakoterapiye yeterince yanıt verememektedir (238). Ayrıca, sıklıkla görülen uyku sorunları, cinsel işlev bozukluğu ve kilo alımındaki artış gibi yan etkiler hastaların tedaviye uyum sağlamasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, yeni tedavi seçenekleri geliştirmek ve yan etkileri minimize etmek bu alandaki araştırmaların odak noktası olmuştur (239). SCN'deki MT<sub>1</sub> reseptör aktivasyonunun sirkadiyen saati düzeltilmesindeki rolünün bilinmesi; serotonin, epinefrin veya dopaminin nöronal alımını değiştirmeyen yeni bir antidepresan sınıf arayışı, Avrupa'da Şubat 2009'da onaylanan agomelatinin geliştirilmesine yol açmıştır (240). Agomelatin (S20098, N-[2-(7-methoxynaphth-1-yl)ethyl]acetamide, Valdoxan®/Thymanax®) ilk kez 1992 yılında melatonindeki indol yapı iskeletinin naftalin halka sistemi ile biyoizosterik olarak değiştirilmesiyle literatüre girmiştir (Şekil 2.12.) (241, 242). Agomelatin, MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> reseptörlerine güçlü bir agonist ve serotonerjik 5-HT<sub>2C</sub> reseptörüne nötral antagonist aktiviteye sahip ilk antidepresandır. Agomelatinin MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörlerini aktive etmesi sirkadiyen ritmi resenkronize ederken, 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerine antagonistik etkisi prefrontal korteksteki dopamin ve noradrenalin seviyelerini yükseltir (240).



Şekil 2. 12. Melatonin ve agomelatinin kimyasal yapısı (243)

### 2.8.2. Agomelatinin Farmakolojik Özellikleri

Agomelatinin moleküler formülü  $C_{15}H_{17}NO_2$ 'dir ve moleküler ağırlığı 243,301 g/mol'dür. Oral olarak alınan agomelatin gastrointestinal kanalda hızla emilir. Emilimden sonra kapsamlı bir ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır ve bu nedenle göreceli olarak düşük biyoyararlanıma (~%5) sahiptir. Agomelatin sitokrom p450 enzim ailesinin üyeleri olan CYP1A2 ve CYP2C9 enzimleri tarafından metabolize edilir. Oluşan katabolitler (3-hidroksi-agomelatin, 3-hidroksi-7-metil-agomelatin, 7-desmetil-agomelatin ve dihidrodiol-agomelatin) büyük ölçüde idrarla atılır. Agomelatin organik solventlerde yüksek oranda çözünür ancak suda çözünürlüğü düşüktür (240, 244, 245).

Reseptör bağlanma çalışmaları, agomelatinin melatonerjik  $MT_1$  ve  $MT_2$  reseptörlerine (sırasıyla  $K_i$ : 0,1 nM; 0,12 nM) yüksek afiniteye sahip bir agonist olduğunu göstermiştir. Antagonist olduğu serotonerjik 5-HT<sub>2C</sub> reseptörüne afinitesi ( $K_i$  = 631 nM),  $MT_1$  ve  $MT_2$ 'ye göre yaklaşık 1000 kat daha düşüktür (240, 246). Agomelatin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerinde nötral antagonist olarak görev yapar ve bu reseptörün aktivitesini etkilemez. Bunun yerine, 5-HT<sub>2C</sub>'deki bozulan sinyalleri normalleştirir ve reseptör aktivitesini bazal seviyeye getirir (247). Agomelatin, 5-HT<sub>2B</sub> reseptörüyle de etkileşime girer. Ancak 5-HT<sub>2B</sub>'nin MSS'de zayıf bir şekilde temsil edilmesi bu etkileşimi önemsiz kılar (248). Agomelatin 5-HT<sub>1A</sub> reseptörüne de ilgi duyar. Ancak yapılan araştırmalarda 5-HT<sub>1A</sub> ile agomelatin arasındaki etkileşimin işlevsel bir etkiyi ortaya çıkarmadığı gösterilmiştir. Agomelatin; muskarinik, histaminerjik, adrenerjik veya dopaminerjik reseptörlere belirgin bir afiniteye sahip değildir (249, 250).

### 2.8.3. Agomelatinin Güvenlik ve Toleransı

Agomelatinin, güvenlik ve toleransının plaseboya yakın olduğu bildirilmiştir. Yapılan incelemeler agomelatin alan hastalarda yan etki görülme sıklığının %5.9; plasebo alanlarda ise %3.5 olduğunu göstermiştir. Agomelatin tedavisini yan etkilerinden dolayı bırakan hastaların oranı %8 iken, plasebo grubunda bu oran %6.55'tir. Bu bulgular, agomelatinin iyi tolere edilebilir olduğunu göstermektedir (236). Agomelatin, kısa süreli (8 haftaya kadar) kullanım sırasında iyi karakterize edilmiş bir yan etki profiline sahiptir. %1'den fazla görülen yan etkiler ürün bilgilerinde belirtilmiştir. Bu etkiler genellikle hafif ila orta şiddettedir ve sıklıkla devam eden kullanımda tolere edilir. Daha uzun süreli kullanımda tedavide ortaya

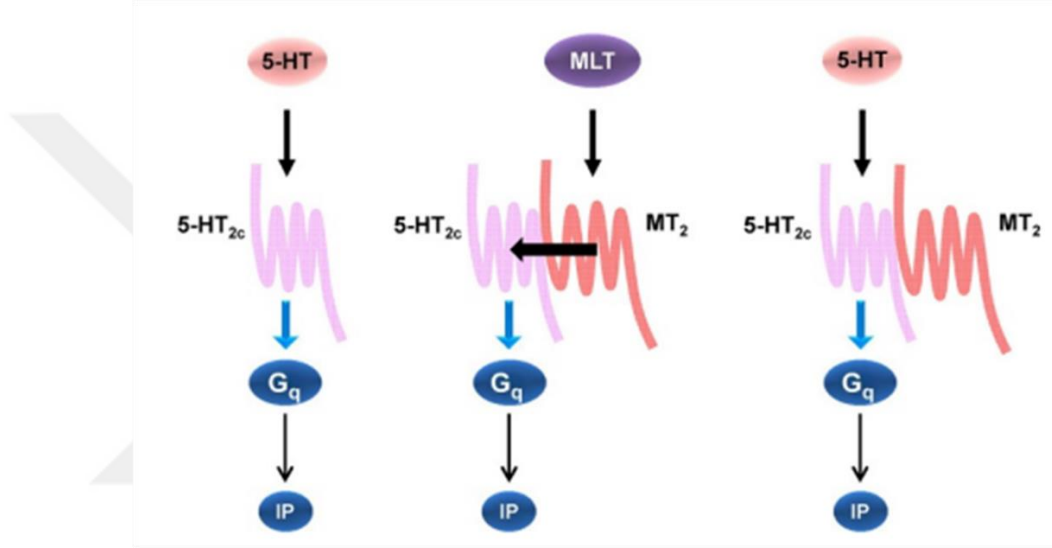
çıkan yan etkiler daha az karakterize edilmiştir (251). Agomelatinin en yaygın yan etkisinin hafif sedasyon ve baş ağrısı olduğu belirtilmiştir (252). Uzun süreli kullanımda en önemli yan etkisi ise hepatotoksisite oluşturma riskidir. Bu nedenle agomelatin kullanan hastalarda karaciğer fonksiyonlarının belirli periyotlarda izlenmesi önerilir (253). Cinsel işlev bozukluğu, birçok antidepresanın sık görülen bir yan etkisi olmasına rağmen agomelatinin bu duruma neden olma olasılığının plaseboya kıyasla düşük olduğu bildirilmiştir (254).

#### **2.8.4. Agomelatinin Etki Mekanizması**

Agomelatinin etki mekanizmasıyla ilgili yapılan araştırmalar, MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> ile 5-HT<sub>2C</sub> reseptörleri arasında reseptör bazlı bir sinerjiye işaret etmektedir. Chenu ve ark. agomelatinin prefrontal kortekste dopamin ve noradrenalin nöronlarının aktivasyonunu arttırdığını bildirmiştir. Fakat agomelatin ile melatonerjik reseptör antagonistinin kombine edilmesi bu etkiye engel oluşturmuştur. Ayrıca 5-HT<sub>2C</sub> antagonizması MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> agonizması ile birleştiğinde tek başına 5-HT<sub>2C</sub> antagonizmasına kıyasla dopamin ve norepinefrin aktivasyonunun daha fazla arttığı rapor edilmiştir (246, 255). Molteni ve ark. ise agomelatin uygulamasının depresif sıçanların prefrontal korteksinde azalan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) seviyesini arttırdığını bildirmiştir. Fakat agomelatin ile melatonerjik reseptör antagonistinin birlikte uygulanması agomelatinin BDNF düzeyi üzerindeki etkisini tamamen tersine çevirmiştir. Ayrıca sadece 5-HT<sub>2C</sub> antagonisti ve melatonin uygulanan gruplarda ise BDNF seviyesi değişmemiştir (256). Başka bir destekleyici çalışmada ise agomelatin uygulaması depresif sıçanlarda artan glutamat salınımını önlenmiştir. 5-HT<sub>2C</sub> reseptör antagonisti veya melatonin uygulanan gruplarda ise glutamat salınımında bir farklılık olmamıştır (257). MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonu ve 5-HT<sub>2C</sub> reseptör blokajı kombinasyonunu içeren sinerjistik bir mekanizma agomelatinin moleküler, hücresel ve davranışsal etkilerini kısmen açıklayabilse de iki reseptör arasındaki etkileşimin altında yatan kesin mekanizma şu an için bilinmemektedir (258).

Bununla birlikte 5-HT<sub>2C</sub> ile MT<sub>2</sub>'nin heterodimer reseptör oluşturabileceğine yönelik kanıtlar da mevcuttur. İmmünopresipitasyon ve biyoluminesans rezonans enerji transferi analizleri, hem transfekte edilmiş hücrelerde hem de insan korteksi ve hipokampusünde fonksiyonel 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerinin MT<sub>2</sub> reseptörleri ile heterodimerler oluşturduğunu göstermiştir (259). Aynı zamanda MT<sub>2</sub>/5-HT<sub>2C</sub> heterodimerinin, 5-HT aracılı Gq/fosfolipaz

C yanıtının amplifikasyonuna ve melatonin destekli transaktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (259). Yakın zamanda yapılan bir araştırmada, fare hipotalamusunda MT<sub>2</sub>/5-HT<sub>2C</sub> heterodimerlerinin varlığına dair kanıtlar sunulmuş ve agomelatinin bu heterodimere bağlandığı bildirilmiştir (260). Agomelatinin etki mekanizmasının altında yatan reseptör sinerjizması ve heterodimerlerin katkısı, halen çözülmesi gereken ilgi çekici bir soru olarak kalmaktadır (261, 262).



5-HT: Serotonin, MLT: Melatonin, IP: İnositol Fosfat, MT<sub>1</sub>: Melatonin Reseptör Tip1  
MT<sub>2</sub>: Melatonin Reseptör Tip2

Şekil 2. 13. MT<sub>2</sub>/5-HT<sub>2C</sub> reseptör heterodimerleşmesi (261)

### 2.8.5. Agomelatinin Sirkadiyen Ritme Etkisi

Agomelatin SCN'deki melatonerjik reseptörlere bağlanarak cAMP oluşumunu bastırır. Böylece SCN nöronlarının ateşleme hızını doza bağlı azaltır ve inhibe eder (252, 263). Bu etkiler agomelatinin güçlü bir zeitgeber olduğunu göstermektedir. Bu durumu destekler şekilde, agomelatin uygulaması sürekli karanlık ortamda bulunan sıçanlardaki faz kaymasını düzeltmiştir (264).

Agomelatin kısa süreli kullanımda (1 gün) dahi ertesi gün uyku düzenini ve sirkadiyen ritmin resenkronizasyonunu sağlar. Bu durum melatonerjik reseptörlerin geçici aktivasyonun sinyal yollarında bıraktığı kalıcı etkiler ile açıklanmaya çalışılmıştır (252, 265). Bununla beraber agomelatinin melatonin salgı ritminin genliğini arttırdığı da rapor edilmiştir (266).

### **2.8.6. Agomelatinin Antidepresan Etkileri**

Agomelatinin antidepresan etkisi, depresyonun temel klinik belirtilerini yansıtan zorlu yüzme testi (267), öğrenilmiş çaresizlik (268), kronik hafif stres (269) gibi kemirgen modellerinde gösterilmiştir. Birden fazla meta-analiz ise agomelatinin etkinlik açısından diğer antidepresan ajanlara eş değer veya üstün olduğunu raporlamıştır (270-272).

### **2.8.7. Agomelatinin Metabolizma Üzerine Etkileri**

Gece yeme sendromu olan bireylerde agomelatin tedavisinin kilo kaybını sağladığı bildirilmiştir (27, 273, 274). Yakın zamandaki çalışmalarda kemirgenlere agomelatin uygulaması vücut ağırlığını düşürmüştür (275-277). Diez-Echave ve ark. ise agomelatinin melatoninden daha güçlü bir şekilde yağ dokudaki leptin gen ekspresyonunu azalttığını bildirmiştir (275).

Literatürde melatoninin anti-obezojenik ve kilo kaybına yol açan etkileri rapor edilmiştir. Bu bulgular, güçlü bir melatonerjik agonist olan agomelatinin gıda alımı ve iştah metabolizması üzerindeki etkilerini araştırmayı ilgi çekici hale getirmiştir. Mevcut çalışmada sağlıklı sıçanlara oral olarak uygulanan agomelatinin;

- Yem tüketimini ve vücut ağırlığını ne düzeyde etkilediğinin belirlenmesi,
- İştah metabolizmasının merkezi düzenlenmesinde rol alan NPY/AgRP ile CART/POMC seviyelerini nasıl etkilediğinin tespit edilmesi,
- POMC/CART ve NPY/AgRP nöronlarının uyarılmasında rolleri olan ghrelin ve leptin hormonlarını ne düzeyde etkilediğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez

Çalışma için İnönü Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındı (10/03/2023 tarih ve 2023/3-1 sayılı karar). Laboratuvar hayvanların temini, bakımı ve takibi İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Deneysel analizler ise İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde tamamlandı.

#### 3.2. Gruptaki Hayvan Sayısının Belirlenmesi

Çalışmada grup sayısı ve örneklem büyüklüğü literatürde değerlendirilen parametrelere göre yapılan güç analiziyle belirlendi. Tip 1 hata ( $\alpha$ ) 0.05, testin gücü (1- $\beta$ ) 0.80 ve gruplar arası öngörülen en yüksek fark 0.6, standart sapma 0.2, grup sayısı 4 olduğunda; yem tüketimi ve vücut ağırlığı değişimi, ELISA, western blot ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) analizlerinde gruplar arasında (Kontrol, Çözücü, Ago-20 ve Ago-40) anlamlı bir fark bulunabilmesi için gerekli olan hayvan sayısı her gruptan en az 10 olmak üzere toplam 40 olarak belirlendi (278-280).

#### 3.3. Deney Hayvanlarının Barınma Koşulları

Çalışma süresince normal musluk suyu erişimi olan 3 aylık 40 adet *Sprague Dawley* ırkı erkek sıçan tekli kafeslerde barındırıldı ve *ad libitum* olarak beslendi. Deneyde kullanılan sıçanlar İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve  $\%50\pm 10$  bağıl nemde, 12 saatlik aydınlık ve karanlık döngüsü altında tutulmuştur.

#### 3.4. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar

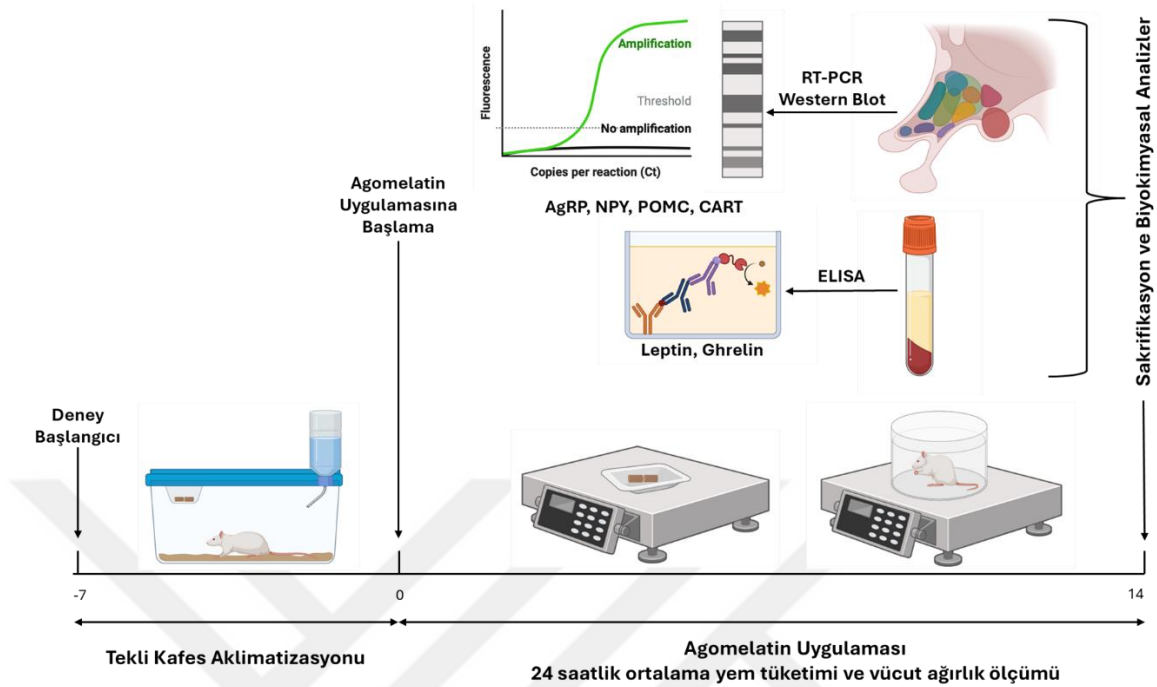
Deney süresince tüm hayvanlar tekli kafeslerde kaldılar. Sıçanlar deney öncesi tekli kafes stresine adaptasyon amacıyla yedi gün boyunca bireysel olarak barındırıldı (281). Daha

sonra hayvanlar vücut ağırlık ortalaması birbirine en yakın olacak şekilde kontrol, çözücü, Ago20 ve Ago40 gruplarına ayrıldı:

1. Kontrol: Bu gruptaki sıçanlara hiçbir işlem yapılmadı.
2. Çözücü: Sıçanlara on dört gün boyunca oral gavaj yöntemiyle agomelatin çözücüsü (hidroksietil selüloz) uygulandı (282).
3. Ago-20: Sıçanlara on dört gün boyunca oral gavaj yöntemiyle 20 mg/kg dozda agomelatin uygulandı.
4. Ago-40: Sıçanlara on dört gün boyunca oral gavaj yöntemiyle 40 mg/kg dozda agomelatin uygulandı.

Mevcut çalışmada kullanılan dozlar, agomelatinin obez sıçanlarda vücut ağırlığını ve yem tüketimini azaltma etkisinin rapor edildiği önceki çalışmaya dayanarak belirlendi (277). 25 mg agomelatin içeren reçete edilebilen tabletler (Valdoxan, Servier, İrlanda) havan ve tokmak kullanılarak homojen bir toz haline getirildi. Bu toz, agomelatin süspansiyonu elde etmek için hidroksietilselüloz (1 ml/tablet) ile karıştırıldı. Daha sonra sıçanlara uygulanan hacim, vücut ağırlığı başına 20 ve 40 mg/kg agomelatin dozunu elde etmek üzere hesaplandı.

Agomelatin oral uygulamadan sonra hızla emilir (tmax 0.5-4 saat) (283). Araştırmalar, agomelatinin melatonin salgı ritmi ve genliğini arttırdığını göstermektedir (266). Ayrıca agomelatinin maksimum etkinliğinin, melatonin salgılanmasındaki yükselmenin başlangıç zamanında olduğu öne sürülmüştür (252). Bu nedenle agomelatin on dört gün boyunca karanlık fazdan iki saat önce uygulandı (284, 285). Gruplardaki hayvanların deney süresince yirmi dört saatlik yem tüketimi ve ağırlık takibi yapıldı. Uygulama sonunda hayvanlar dekapitasyonla kurban edilerek kan ve hipotalamus dokusu toplandı. Alınan hipotalamus dokusu vertikal bilateral olarak iki parçaya ayrıldı. Sağ hipotalamus dokusu kuru buzda hemen dondurularak western blot analizleri yapılincaya kadar -80°C'de muhafaza edildi. Sol hipotalamus dokusu ise ependorf tüplere (700 µl RNA saklama solüsyonu içeren) alındı ve analizler için -80 °C'de saklandı. Deney akış diyagramı Şekil 3.1.'de sunulmuştur.

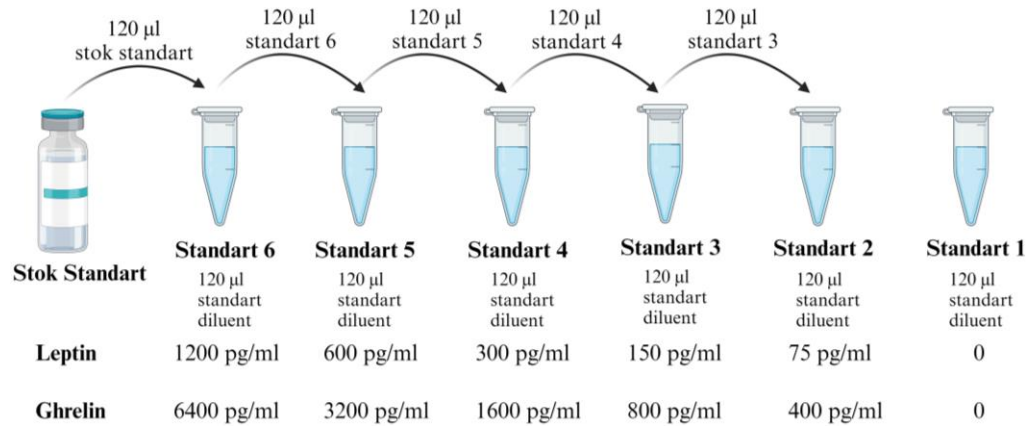


Şekil 3. 1. Deney akış diyagramı

### 3.5. ELISA Analizleri

#### 3.5.1. Plazma Leptin ve Ghrelin Seviyesinin Belirlenmesi

Plazma leptin ve ghrelin seviyeleri, ticari ELISA kitleri kullanılarak (Sunred Biotechnology Company, Çin, Katalog No:201-11-0456 ve 201-11-1650) protokole uygun olarak ölçüldü. Çalışma öncesi kit içeriğindeki standart stok solüsyon Şekil 3.2. de belirtildiği gibi 5 farklı konsantrasyon olacak şekilde seyreltildi.



Şekil 3. 2. Leptin ve ghrelin için standart solüsyonun dilüe edilmesi

Analizler için 96'lı kuyucuklu plakada numune düzeni (Şekil 3.3.) sağlandıktan sonra aşağıdaki ELISA analiz protokolü kit ile birlikte gelen yönergeler doğrultusunda uygulandı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S1	N1	N1	N9	N9	N17	N17	N25	N25	N33	N33
B	S2	S2	N2	N2	N10	N10	N18	N18	N26	N26	N34	N34
C	S3	S3	N3	N3	N11	N11	N19	N19	N27	N27	N35	N35
D	S4	S4	N4	N4	N12	N12	N20	N20	N28	N28	N36	N36
E	S5	S5	N5	N5	N13	N13	N21	N21	N29	N29	N37	N37
F	S6	S6	N6	N6	N14	N14	N22	N22	N30	N30	N38	N38
G	BL	BL	N7	N7	N15	N15	N23	N23	N31	N31	N39	N39
H	BL	BL	N8	N8	N16	N16	N24	N24	N32	N32	N40	N40

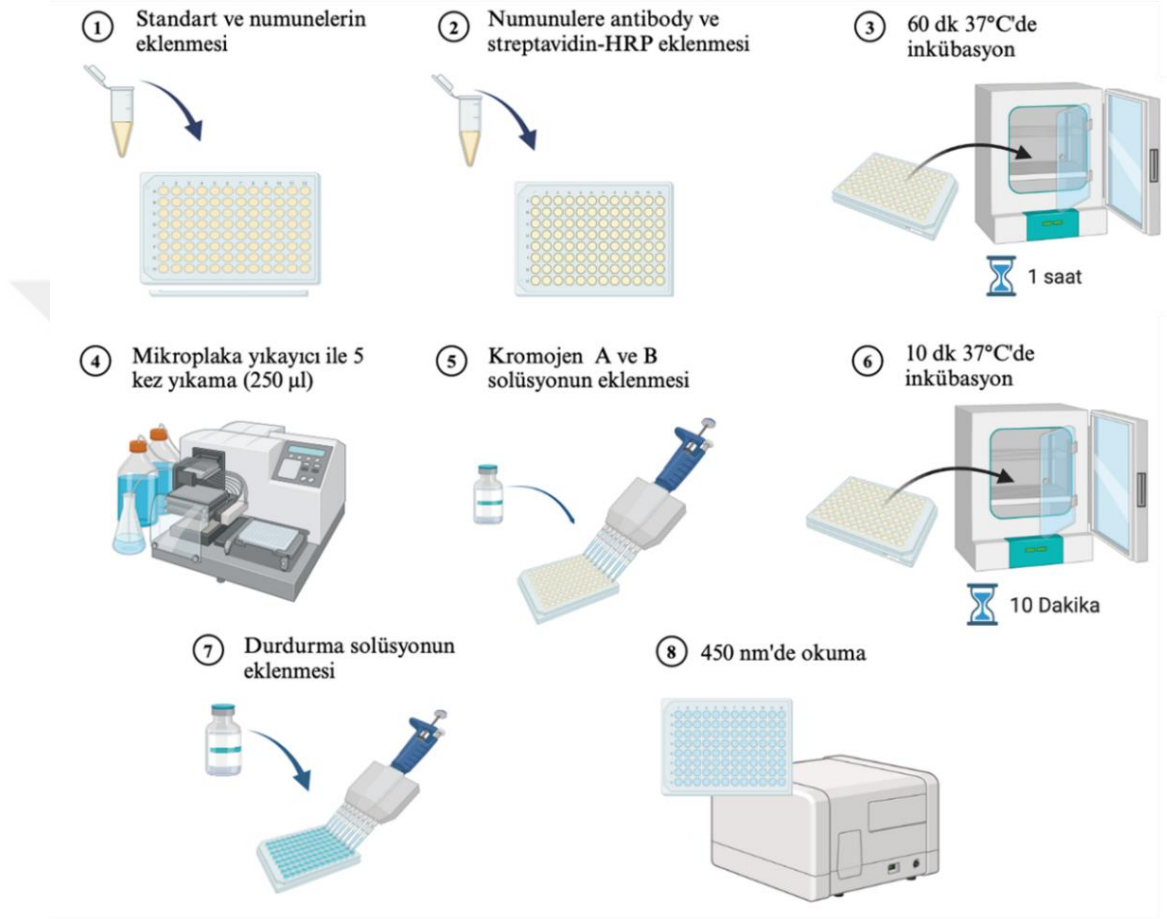
**S:** Standart, **BL:** Blank (Kör), **N:** Numune

**Şekil 3. 3.** Kit plaka düzeni

### **ELISA Analiz Protokolü**

1. Standart dilüsyon (50 µl) ve numuneler (40 µl) kuyuculara eklendi.
2. Numuneler eklendikten sonra üzerine 10 µl antikor eklendi. Daha sonra kör hariç tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin-HRP konjuge solüsyonu eklendi.
3. Plakaların üzeri yapışkan örtüyle kapatıldıktan sonra 37°C'de 60 dk boyunca inkübe edildi.
4. Her kuyucuk mikrolaka yıkayıcı tarafından 0.25 ml dilüe edilmiş yıkama tamponu ile beş kez yıkandı.
5. Kuyucuklara önce Kromojen A solüsyonu (50 µl) daha sonra da Kromojen B solüsyonu (50 µl) eklendi.
6. Plakanın üstü kapatılarak 37°C'de 10 dk boyunca inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi.

8. Daha sonra plaka BioTek Synergy-HTX ELISA otomatik plaka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okutuldu. Gen 5 yazılımı kullanılarak numune konsantrasyonları otomatik olarak hesaplandı (Şekil 3.4.)



Şekil 3. 4. ELISA analiz basamakları

### 3.6. Real Time PCR Analizleri

Agomelatin uygulamasından sonra iştah mekanizmasında rolü olan nöropeptitlerin gen ifadelerindeki değişimler RT-PCR analizleri ile tespit edildi. Analizlerde mRNA ifadeleri ilgili genler için özgü primerler kullanılarak belirlendi. Çalışmada kullanılan primer dizilimleri Tablo 3.1.'de sunulmuştur.

**Tablo 3. 1.** Çalışmada kullanılan primer dizilimler

Gen Adı	Oligonükleotid Dizisi	Gen Bank Numarası
AgRP	F- CTCTGAAGCTGAATGCCACC R- GCCCACACGTGACTACTTCC	NM_033650.1
NPY	F- TCGTGTGTTTGGGCATTCTG R-AATCAGTGTCTCAGGGCTGG	NM_012614.2
POMC	F- GAGGCGACGGAGGAGAAAAG R-CCCTGAGCGACTGTAGCAGAA	NM_139326.3
CART	F- CCGAGCCCTGGACATCTACT R- TTCAATCTGCAACACAGCGCC	NM_017110.1

### 3.6.1. Total RNA İzolasyonu ve Miktar Tayini

Hipotalamik dokudaki total RNA izolasyonu, EZ-10 Spin Column Total RNA Miniprep Kit (BioBasic, Kanada) kullanılarak gerçekleştirildi. Analizler kapsamında 25 mg doku tartıldı ve izolasyon kiti ile birlikte gelen 0.5 ml lizis solüsyonu tüplere eklendi. Daha sonra örnekler boncuklu homojenizatörde 2 dakika boyunca homojenize edildi. Doku örneklerinin işlenmesi sürecinde, öncelikle tüplere  $\frac{1}{2}$  hacim miktarında 0.25 ml etanol eklendi ve ependorf tüp elle alt-üst edilerek karıştırıldı. Karışım daha sonra 2 ml'lik bir spin kartuş içeren koleksiyon tüplerine transfer edildi ve tüpler oda sıcaklığında 30 saniye boyunca  $12000\times g$  hızında santrifüj edildi. Sonrasında kolonlara 0.5 ml RW Solüsyonu eklendi ve tekrar oda sıcaklığında 30 saniye boyunca  $12000\times g$  hızında santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında toplama tüpünün altında kalan sıvı boşaltıldı. Ardından kolonlara 0.5 ml Universal PRE Solution eklendi ve yine aynı hızda santrifüj edilerek alt kısımda kalan sıvı atıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı ve sonrasında kolonlar yeni bir ependorf tüpe yerleştirildi. Akabinde üzerlerine 50  $\mu$ l RNaz içermeyen su eklenerek 2 dakika bekletildi ve tüpler bu sürenin sonunda 30 saniye boyunca  $12000\times g$  hızında santrifüj edildi. Bu işlemle dokulardan toplam RNA izolasyonu tamamlandı. Örneklerin total RNA miktarları, nanodrop cihazıyla A260/A280nm ölçümleri yapılarak belirlendi. cDNA sentezi için RNA miktarının eşitlenmesi amacıyla en düşük RNA değeri standart olarak alındı. Her bir gruptaki örneklerden elde edilen RNA havuzları, cDNA sentezi için hazırlandı.

### 3.6.2. cDNA Sentez Protokolü ve Real Time PCR analizi

RNA örneklerinden cDNA sentezi, iScript cDNA Synthesis Kit (BioRad, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. cDNA sentezi için RNA havuzlarından 10  $\mu$ l kullanıldı. Sentez için tüplere 10  $\mu$ l RNA örneği, 1  $\mu$ l iScript Reverse Transcriptase, 4  $\mu$ l 5X iScript Reaction

mix ve 5 µl nükleaz içermeyen su eklendi. Daha sonra örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. Cihazın inkübasyon ayarları; 25 °C'de 5 dakika, 42 °C'de 30 dakika, 85 °C'de 5 dakika ve 4°C'de ∞ olacak şekilde ayarlandı. Elde edilen cDNA örnekleri -20 °C'de saklandı.

Daha sonra elde edilen cDNA'lar, spesifik dizilere sahip primerlerin varlığında RT-PCR ile amplifiye edildi. Analiz için 96 kuyucuklu plakalar (BioRad, ABD) kullanıldı. Plakaların analiz için hazırlanması sürecinde her bir kuyucuğa 2 µl cDNA örnekleri eklendi. Buz üzerinde her bir örnek için 2,5 µl nükleaz içermeyen su, 5 µl SYBR Green Master Mix ve 0,5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde bileşen miktarları hazırlandı ve vorteksledi. Daha sonra karışımdan 8 µl, plaka üzerindeki cDNA örneklerine eklendi ve plaka optik bir yapışkan film ile kapatıldı. Gen ifade düzeyleri, BioRad CFX Connect Sistemi kullanılarak ölçüldü. Çalışmada β-Actin, kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Sıcaklık koşulları, 50 °C'de 2 dk, 95 °C'de 10 dk X 45 siklüs, 95 °C'de 15 saniye ve 60 °C'de 1 dk olacak şekilde ayarlandı. RT-PCR analizlerinin sonucunda ilgili genlerin mRNA ekspresyonunda meydana gelen değişiklikler  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemi ile hesaplandı (286).

### 3.7. Protein Seviyesinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında agomelatin uygulanmasının ardından iştah metabolizmasında rol oynayan nöropeptitlerin protein seviyesi western blot analiziyle belirlendi. İştah metabolizmasının işleyişinde yer alan nöropeptitlerin seviyelerinin belirlenmesi agomelatinin etkisini gösterdiği mekanizmaları anlamamıza yardımcı oldu.

#### Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

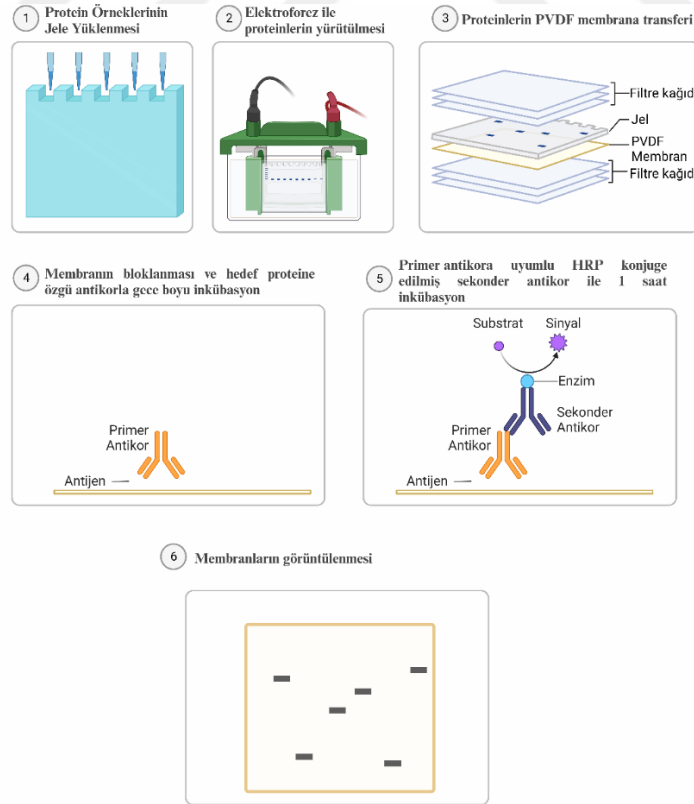
- **1.5 M Tris-HCl (pH: 8,8):** 80 ml distile suda 27,23 g Tris-base çözüldü. Akabinde pH'si 8,8'e ayarlanarak toplam hacim 150 ml'ye tamamlandı. Çözelti 4°C'de saklandı.
- **0.5 M Tris-HCl (pH: 6,8):** 60 ml distile suda 6,06 g Tris-base çözüldü. Daha sonra pH'si 6,8'e ayarlanarak toplam hacmi 100 ml'ye tamamlandı. Çözelti 4°C'de saklandı.
- **%30 Akrilamid/Bis-akrilamid solüsyonu:** 100 ml distile suda 29,2 g akrilamid ve 0,8 g bis-akrilamid tartıldı ve çözüldü. Çözelti 4°C'de saklandı.

- **SDS-Page Running Buffer (10X):** 30,3 g Tris-base (250 mM), 144,1 g Glisin (1.92 M), 10 g SDS (%1) 700 ml distile suda çözüldü. Akabinde solüsyonun pH'si 8,3'e ayarlandı ve hacim 1000 ml'ye tamamlandı.
- **Tris buffer saline (TBS, 10X):** 24,2 g Tris-base (20 mM), 87,6 g NaCl (150 mM) 700 ml distile suda çözüldü daha sonra pH'si 7,4-7,6'ya ayarlanarak 1000 ml'ye tamamlandı.
- **TBS-Tween20 (TBS-T, 1X):** Stok TBS (10X)'ten 100 ml alındı. Daha sonra 899 ml distile su ve 1 ml Tween-20 (%0,1) eklendi.
- **Transfer solüsyonu (Towbin Buffer, 1X):** 3,02 g Tris-base (25 mM), 14,4 g Glisin (190 mM), 1 g SDS (%1) 600 ml distile suda çözüldü. Daha sonra üzerine 200 ml Metanol (%20) eklendi ve solüsyon distile suyla 1000 ml hacme tamamlandı. Transfer solüsyonunun pH'si 8,1-8,5 arasında belirlendi. pH'yi ayarlamak için asit veya baz eklenmedi.
- **Lizis solüsyonu (RIPA buffer):** 0,605 g Tris-base (50 mM), 0,877 g NaCl (150 mM), 100 µl Triton X-100 (%0,1), 0,5 g Sodyum deoksikolat (%0.5) ve 0,1 g SDS (%0,1) 70 ml distile suda çözüldü. Akabinde çözeltinin pH'si 7,4-7,6'ya ayarlanarak 100 ml volüme tamamlandı. Lizis solüsyonuna kullanımdan önce taze hazırlanmış sodyum florür (5 mM), fenilmetilsülfonil florür (1 mM) ve sodyum ortovanadat (1 mM) eklendi. Proteaz inhibitörü olarak Roch cOmplete™ Proteaz inhibitör tablet kullanıldı.

### 3.7.1. Western Blot Analizleri

Alınan hipotalamus dokusu, RIPA tamponu ve proteaz inhibitörü eklenerek 8000 rpm de 5 dk (Qiagen TissueLyser LT, Almanya) homojenize edildi. Daha sonra homojenatlar üç kez 10 saniye süreyle sonike edildi (Q125, QSonica, USA). Tüpler daha sonra 4°C sıcaklıkta 14500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edildikten (SL8R, Thermo Scientific, ABD) sonra elde edilen süpernatantlar yeni tüplere aktarıldı. Örneklerin protein düzeyi BCA protein analiz kiti kullanılarak belirlendi. Her dokudan 20 µg toplam protein, SDS jele yüklenerek 100 V'de 10 dk, daha sonrasında 200V'da yaklaşık 75 dk elektroforez işlemine tabi tutuldu ve ayrıştırıldı. Yürütme işlemi bitiminden sonra kasetler SDS jel transfer solüsyonuna aktarıldı. Transfer solüsyonunda dengelenen transfer pedleri ve PVDF membran (30-60

saniye metanolde aktive edilip solüsyona aktarıldı) kullanılarak transfer yığına hazırlandı. Daha sonra Bio Rad Trans Blot Turbo aktarım sistemi aracılığıyla jeldeki proteinlerin transfer işlemi yapıldı. Transfer işleminden sonra membranlar TBS-T ile taze hazırlanan %5'lik yağsız süt tozuyla oda sıcaklığında 1 saat bloke edildi. Sonrasında membranlar POMC, CART, NPY ve AgRP primer antikorları ile 4°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Membranlar inkübasyondan sonra 5 dk arayla 3 defa TBS-T ile yıkandı. Sonrasında membranlar %5'lik yağsız süt tozu içerisinde hazırlanan primer antikorlara özgü HRP-konjugat sekonder antikorlar ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Son olarak 3 defa 5 dk TBS-T ile yıkanan membranlar kemilüminesan solüsyon (ECL solüsyonu, Clarity ECL Western Blotting Substrate, BioRad, ABD) ile inkübe edildi ve blotların görüntüleri Fusion Fx7 (Vilber, Almanya) görüntüleyici ile kaydedildi. Membrandaki blotların densimetrik ölçümleri Image J programı ile analiz edildi (287). Yükleme kontrolü olarak  $\beta$ -aktin kullanıldı. Çalışmanın basamakları Şekil 3.5'te özetlenmiş ve kullanılan antikorlar Tablo 3.2'de sunulmuştur.



**Şekil 3. 5.** Western blot analiz basamakları

**Tablo 3. 2.** Western blot analizinde kullanılan antikorlar

Ürün Kodu	Ürün adı	Firma
SC-28943	NPY	Santa Cruz Biotechnology
LS-C292684	AgRP	LSBio
SC-293241	CART	Santa Cruz Biotechnology
SC-20148	POMC	Santa Cruz Biotechnology
SC-517582	$\beta$ -aktin	Santa Cruz Biotechnology
SC-516102	Sekonder antikor (anti-mouse)	Santa Cruz Biotechnology
7074	Sekonder antikor (anti-Rabbit)	Cell Signaling

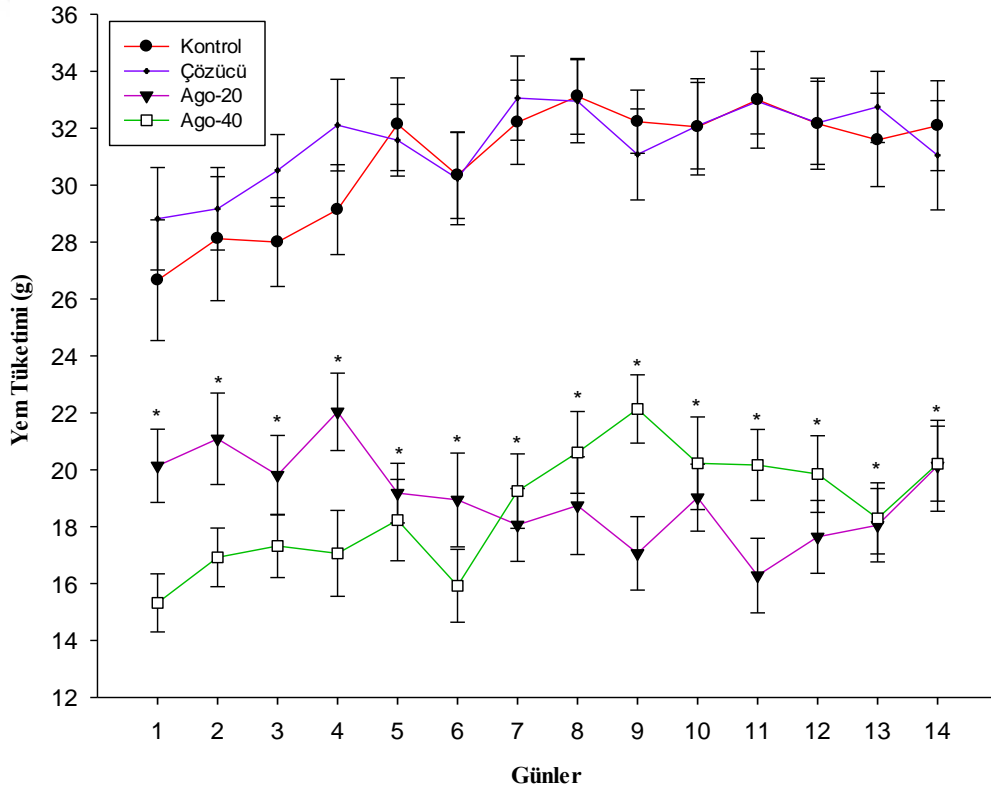
### 3.8. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 26.0 yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirildi. Nicel veriler ortalama  $\pm$  standart sapma cinsinden ifade edildi. Normal dağılıma uygunluk değerlendirmesinde Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Yem Tüketimine Etkisi

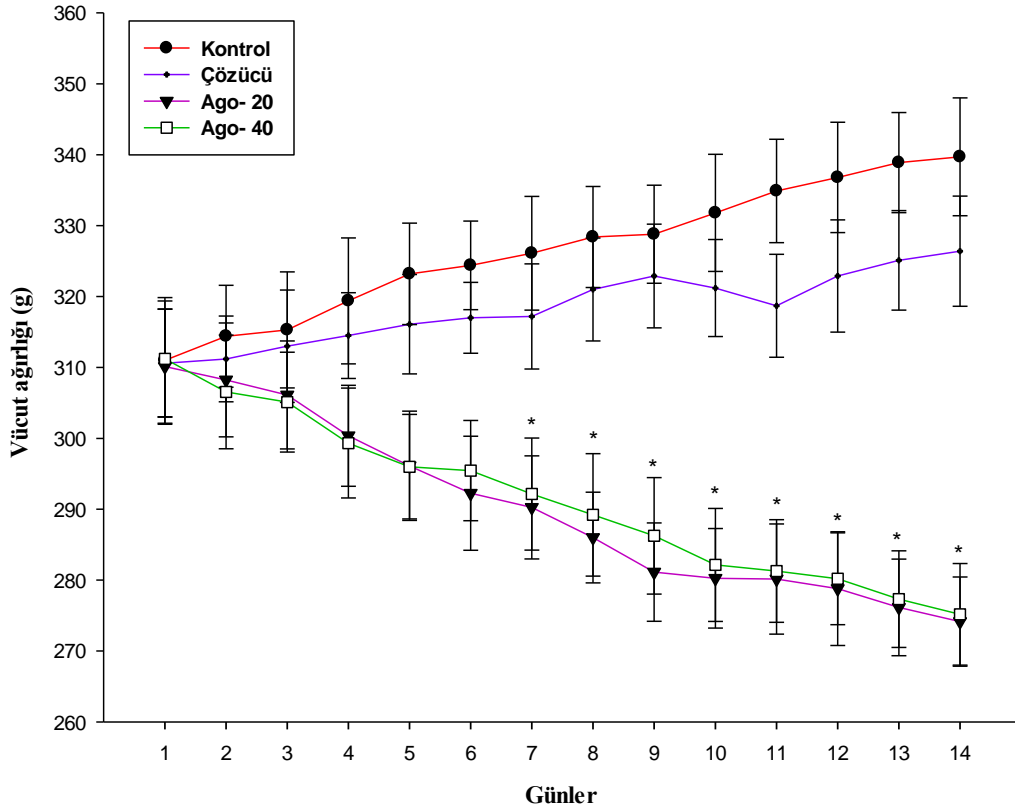
Deney süresince gruptaki sıçanların günlük ortalama yem tüketimleri Şekil 4.1.'de sunulmuştur. Agomelatin uygulamasının deney süresince yem tüketimini anlamlı bir şekilde azalttığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Agomelatin uygulanan gruplar arasında ise doz bağımlı bir etki olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4. 1.** Deney süresince sıçanların günlük ortalama yem tüketimleri. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. (\*Ago-20 ve Ago-40 gruplarının, Çözücü ve Kontrol gruplarına göre farklılık gösterdiğini simgelemektedir.  $*p<0.05$ ).

## 4.2. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Vücut Ağırlığına Etkisi

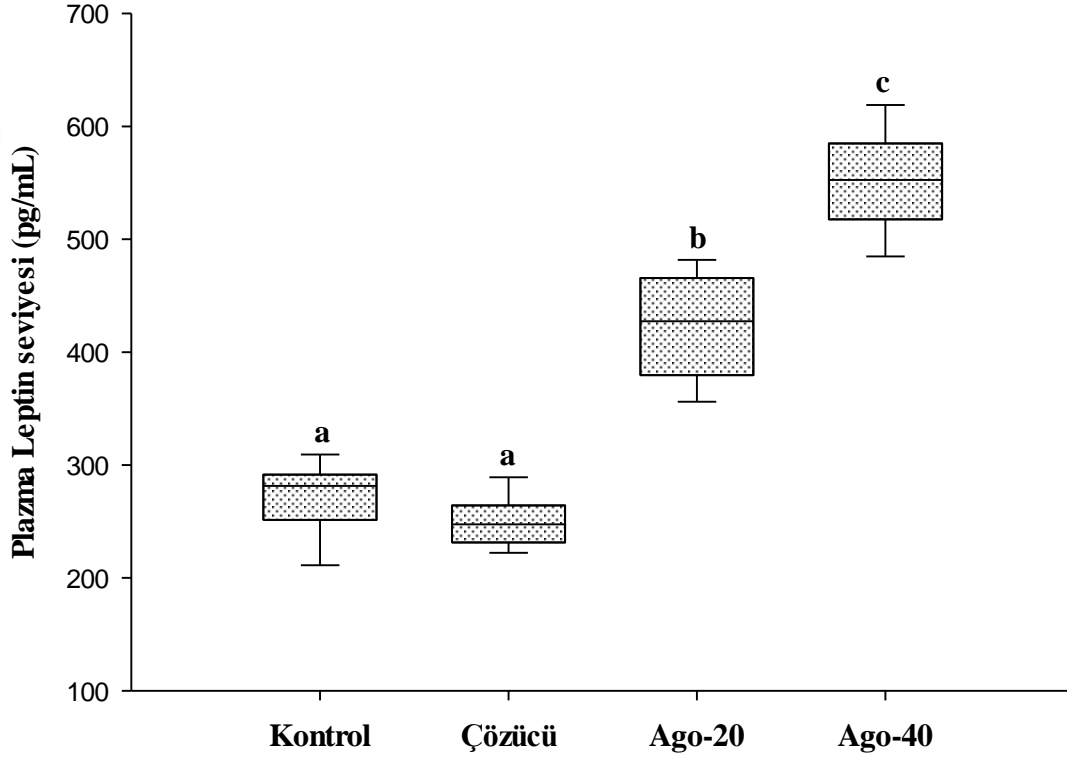
Deney süresince gruptaki sıçanların günlük ortalama vücut ağırlıkları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Yedinci günden itibaren Ago-20 ve Ago-40 gruplarında vücut ağırlığının kontrol ve çözücü grubuna kıyasla azaldığı belirlendi ( $p < 0.05$ ). Agomelatin uygulanan gruplar arasında ise doz bağımlı bir etki olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 4. 2.** Deney süresince sıçanların günlük ortalama vücut ağırlıkları. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (\*Ago-20 ve Ago-40 gruplarının, Çözücü ve Kontrol gruplarına göre farklılık gösterdiğini simgelemektedir.)

### 4.3. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Plazma Leptin Seviyesine Etkisi

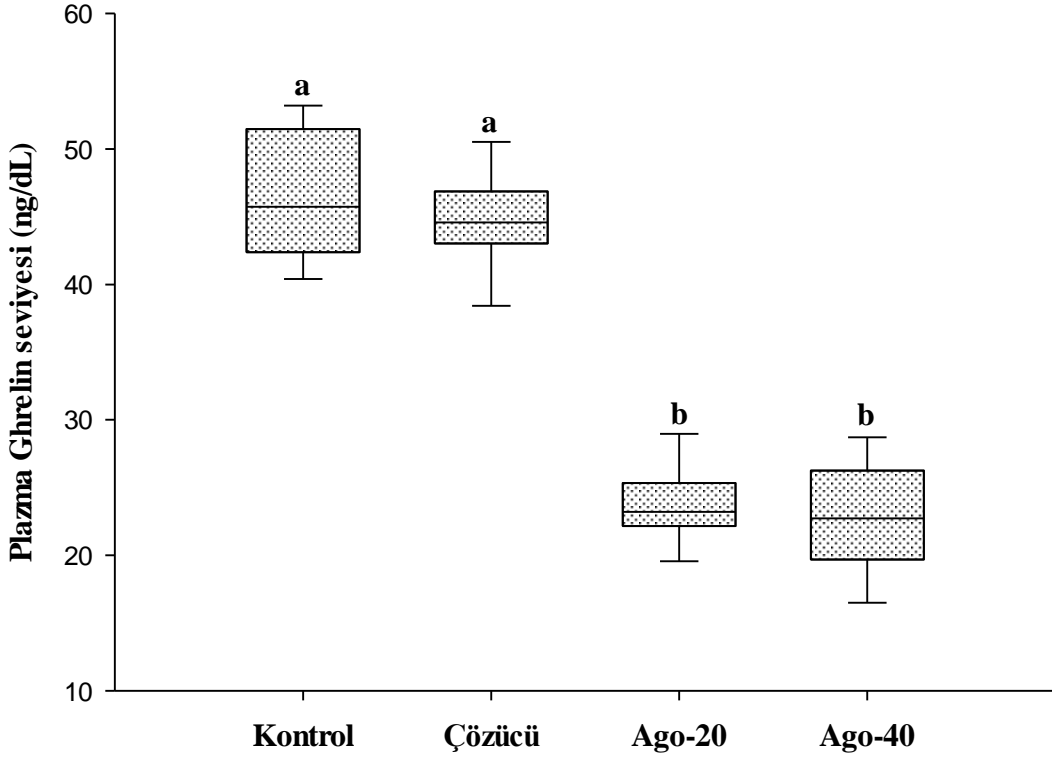
Agomelatin uygulamasının plazma leptin seviyesinde meydana getirdiği değişiklikler Şekil 4.3.'de gösterilmiştir. Agomelatin uygulanan gruplarda, kontrol ve çözücü gruplarına kıyasla plazma leptin seviyesinde doz bağımlı artış belirlendi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4. 3.** Agomelatin uygulamasının plazma leptin seviyesine etkisi. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,b,c p < 0.05$ ).

#### 4.4. Sıçanlara Agomelatin Uygulamasının Plazma Ghrelin Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının plazma ghrelin seviyesine etkisi Şekil 4.4.'de gösterilmiştir. Ago-20 ve Ago-40 gruplarında, kontrol ve çözücü gruplarına kıyasla plazma ghrelin seviyesinin azaldığı belirlendi ( $p < 0.05$ ).

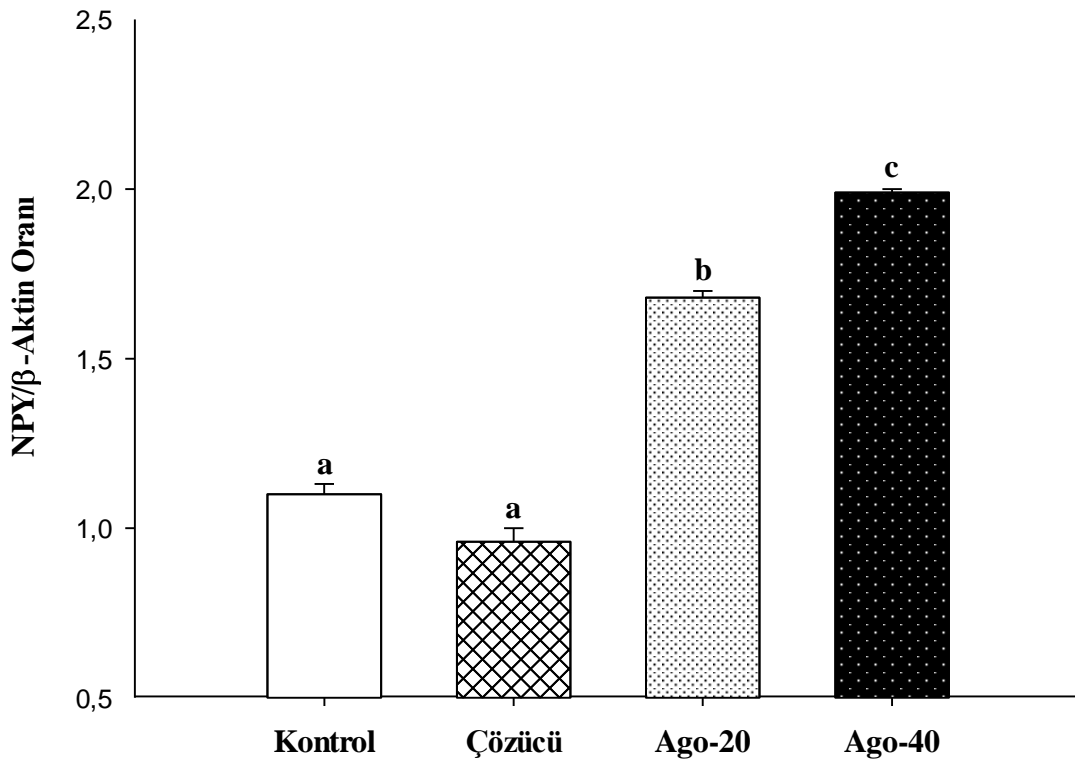


**Şekil 4. 4.** Agomelatin uygulamasının plazma ghrelin seviyesine etkisi. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,bp < 0.05$ ).

## 4.5. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Hipotalamustaki mRNA Seviyelerine Etkisi

### 4.5.1. NPY mRNA Seviyesine Etkisi

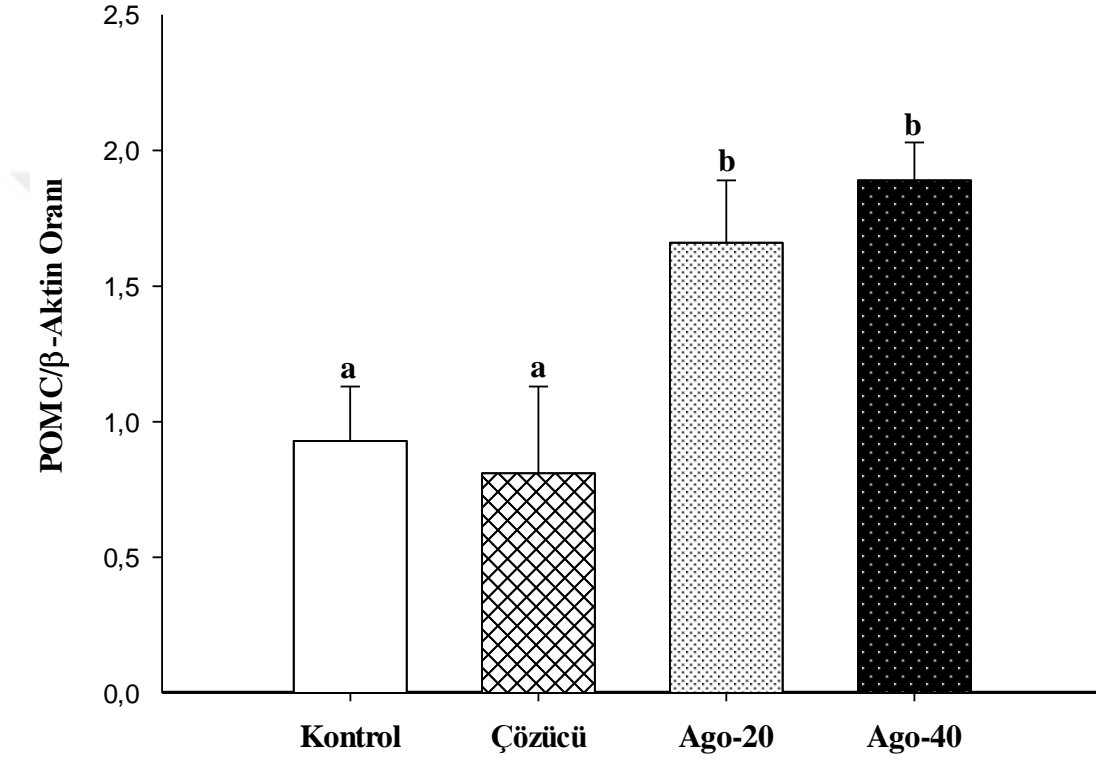
Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki NPY mRNA seviyesine etkisi Şekil 4.5.'de gösterilmiştir. Agomelatin uygulamasının çözücü ve kontrol gruplarına kıyasla NPY mRNA ifadesini doz bağımlı olarak arttırdığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4. 5.** Agomelatin uygulamasının NPY/β-Aktin mRNA oranına etkisi. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,b,c p < 0.05$ ).

#### 4.5.2. POMC mRNA Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki POMC mRNA seviyesine etkisi Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Agomelatin uygulanan gruplarda kontrol ve çözücü gruplarına kıyasla POMC mRNA ifadesinin arttığı belirlendi ( $p<0.05$ ).

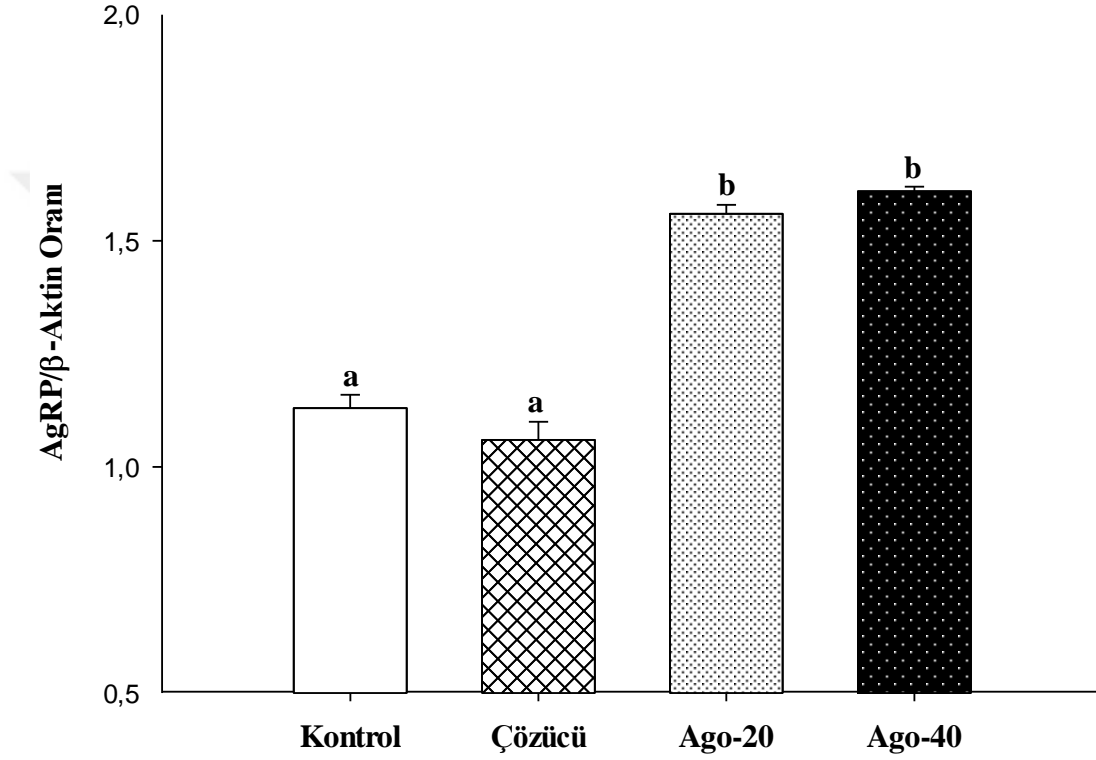


**Şekil 4. 6.** Agomelatin uygulamasının POMC/β-Aktin mRNA oranına etkisi.

Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,bp<0.05$ ).

### 4.5.3. AgRP mRNA Seviyesine Etkisi

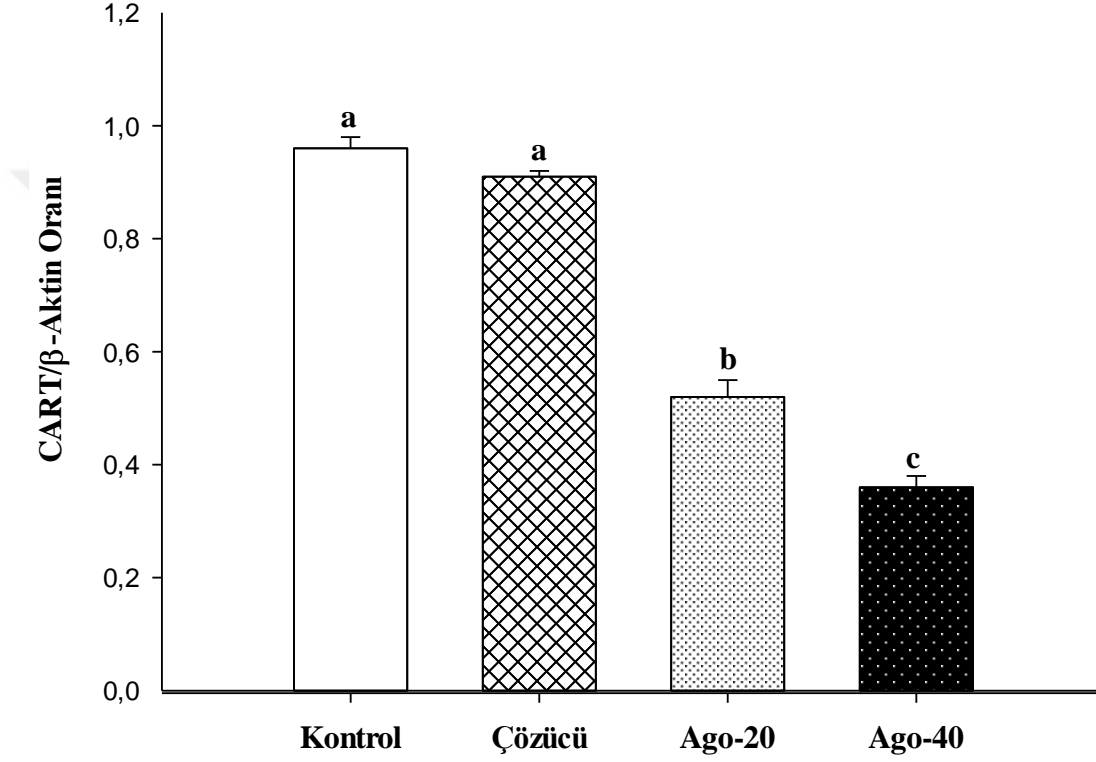
Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki AgRP mRNA seviyesine etkisi Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Agomelatin uygulamasının kontrol ve çözücü grubuna kıyasla AgRP mRNA ifadesini arttırdığı tespit edildi ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4. 7.** Agomelatin uygulamasının AgRP/β-Aktin mRNA oranına etkisi. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,bp<0.05$ ).

#### 4.5.4. CART mRNA Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki CART mRNA seviyesine etkisi Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. Agomelatin uygulamasının çözücü ve kontrol gruplarına kıyasla CART mRNA düzeyini doz bağımlı olarak azalttığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

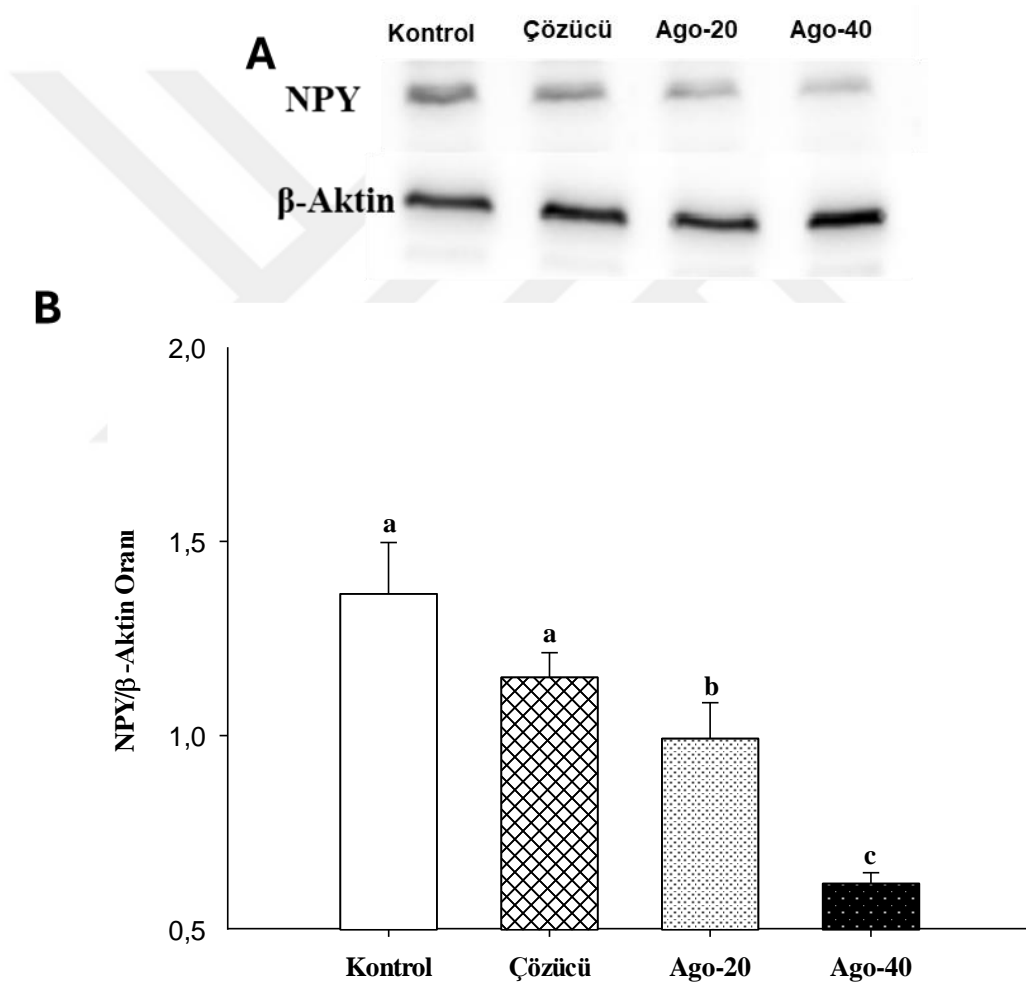


**Şekil 4. 8.** Agomelatin uygulamasının CART/β-Aktin mRNA oranına etkisi. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $a,b,c p < 0.05$ ).

## 4.6. Sıçanlara Agomelatin Uygulanmasının Hipotalamustaki Protein Seviyelerine Etkisi

### 4.6.1. NPY Protein Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki NPY protein seviyesine etkisi Şekil 4.9.'da sunulmuştur. Agomelatin uygulamasının NPY protein düzeyini doz bağımlı olarak azalttığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

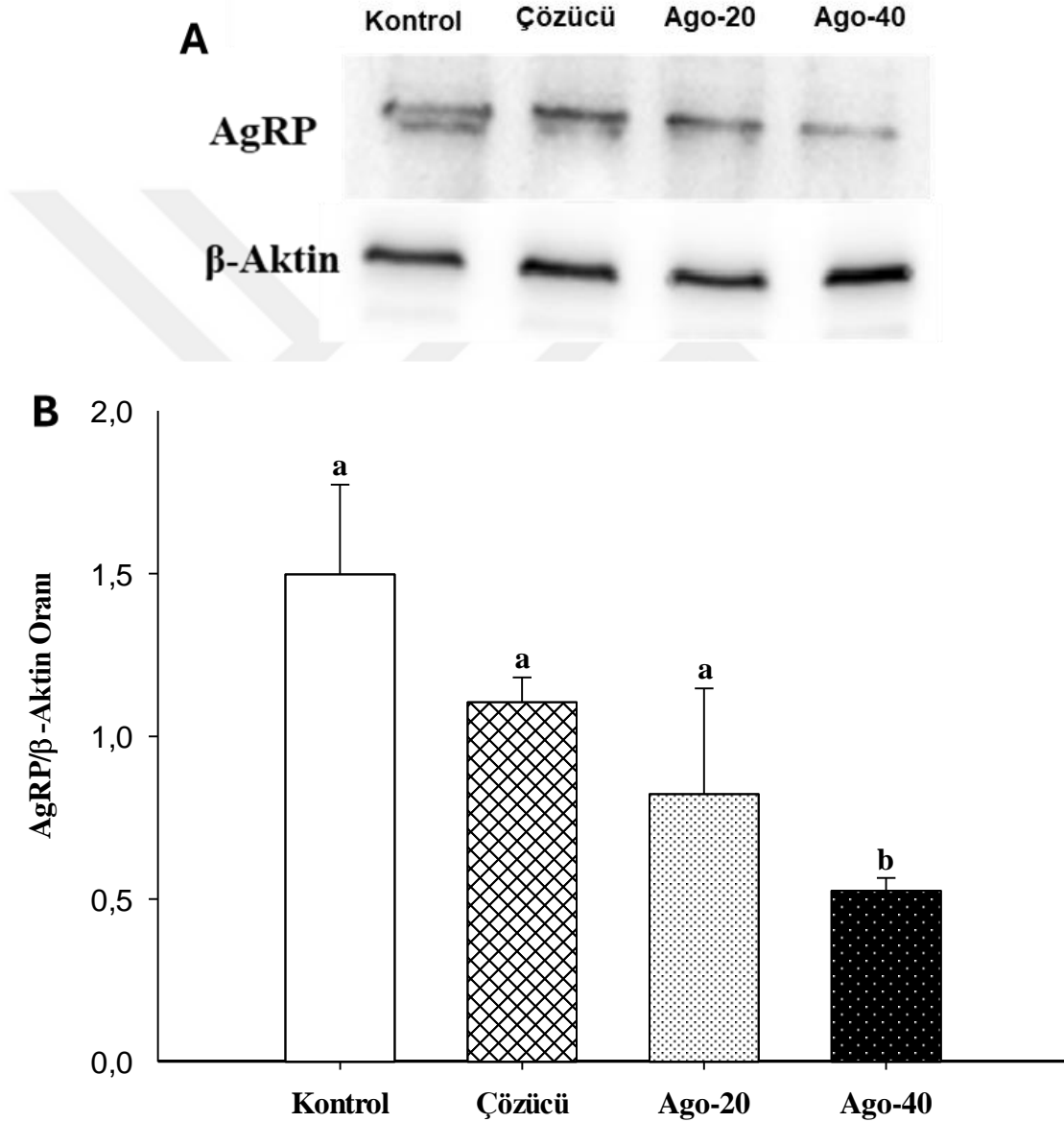


**Şekil 4. 9.** Agomelatin uygulamasının NPY/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve NPY bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B).

Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $^{a,b,c}p < 0.05$ ).

#### 4.6.2. AgRP Protein Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamik AgRP protein seviyesinde meydana getirdiği değişiklikler Şekil 4.10.'da sunulmuştur. Yüksek doz agomelatin uygulaması AgRP protein düzeyini diğer gruplara kıyasla azaltmıştır ( $p<0.05$ ).

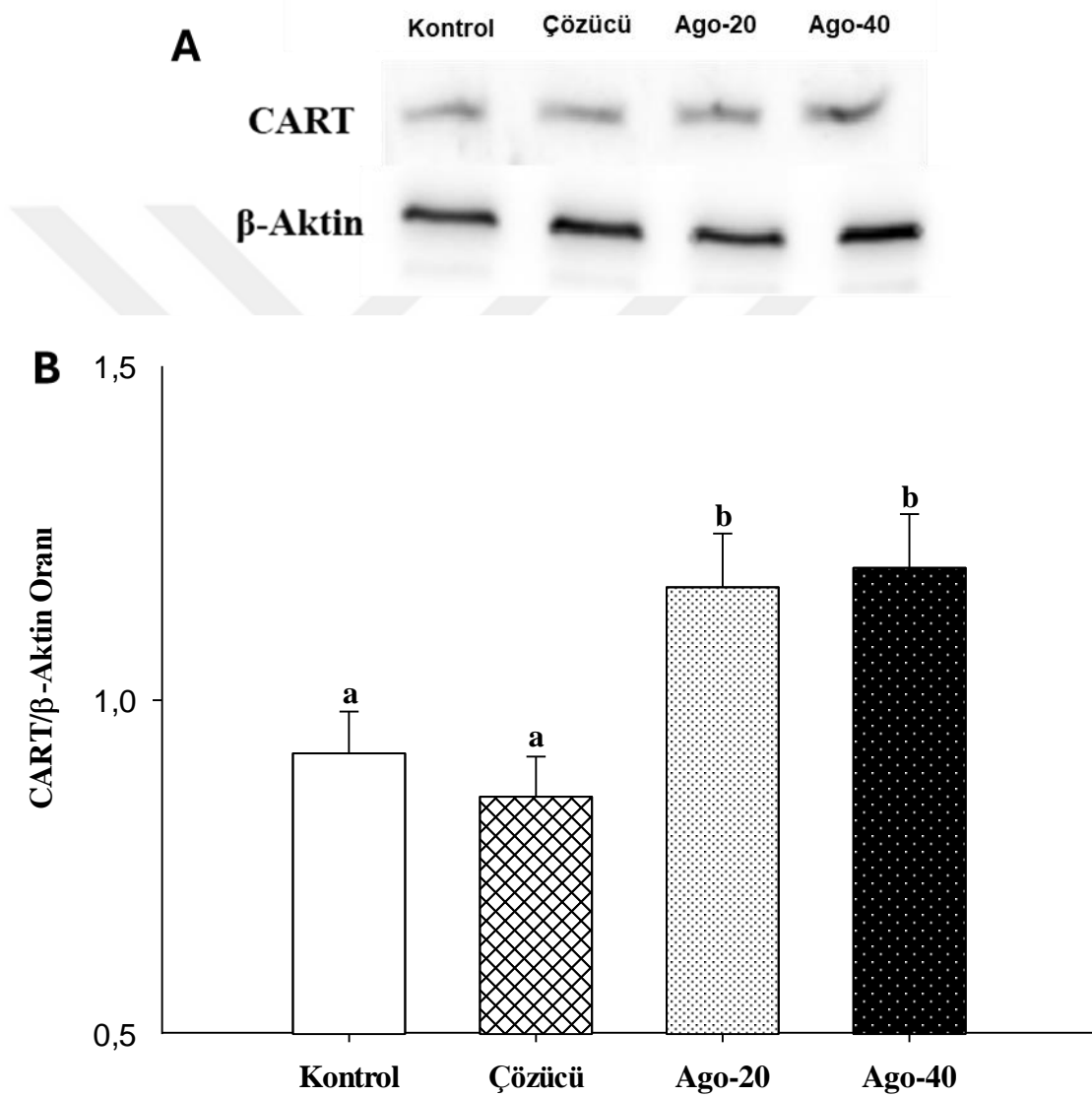


**Şekil 4. 10.** Agomelatin uygulamasının AgRP/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve AgRP bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B).

Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $^{a,b}p<0.05$ ).

#### 4.6.3. CART Protein Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamustaki CART protein seviyesinde meydana getirdiği değişiklikler Şekil 4.11.'de sunulmuştur. Her iki agomelatin konsantrasyonunun da CART protein düzeyini arttırdığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

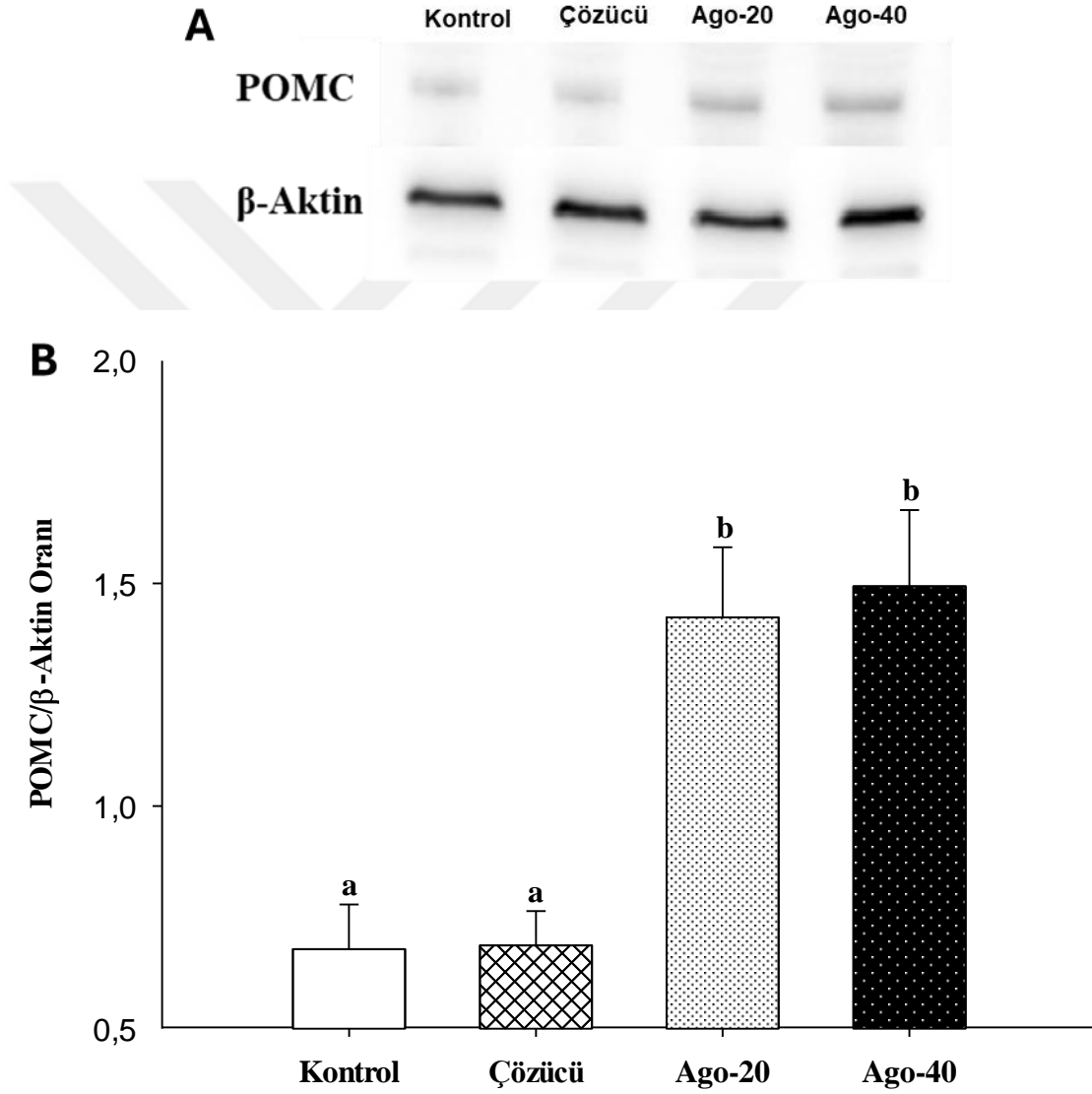


Şekil 4. 11. Agomelatin uygulamasının CART/β-Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve CART bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi

(B). Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b</sup> $p < 0.05$ ).

#### 4.6.4. POMC Protein Seviyesine Etkisi

Agomelatin uygulamasının hipotalamik POMC protein düzeyinde meydana getirdiği değişiklikler Şekil 4.12.'de verilmiştir. Agomelatin her iki dozda da POMC protein düzeyini arttırmıştır ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4. 12.** Agomelatin uygulamasının POMC/ $\beta$ -Aktin protein oranına etkisinin western blot jel görüntüsü (A) ve POMC bantlarının densimetrik analizinin gösterilmesi (B). Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir  $^{a,b}p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Agomelatin Vücut Ağırlığını ve Yem Tüketimini Azalttı

Sirkadiyen ritmin başlıca düzenleyicisi olan melatonin, memeli ve memeli olmayan türlerde iştahın ve yeme davranışının düzenlenmesinde önemli rol oynar (25, 288). Çok sayıda prelinik ve klinik çalışmanın bir arada değerlendirildiği inceleme, melatoninin kilo azaltıcı etkisinin olduğunu net bir şekilde göstermiştir (198). Agomelatin, melatonerjik reseptörlere melatonin kadar güçlü bir agonist ve serotonerjik 5-HT<sub>2C</sub> reseptörüne nötral antagonist aktiviteye sahip bir antidepresandır (247, 289).

Agomelatinin klinik etkisinin temelinde, reseptör ekspresyon düzeylerindeki zamansal değişikliklerin yattığı hipotezi mevcuttur. Bu hipoteze göre; agomelatin geceleri uyku düzenini MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden düzenlerken gündüz saatlerindeki zindeliği 5-HT<sub>2C</sub> reseptör antagonizmasıyla sağlar (236). Bu görüşü destekler şekilde bir çalışmada, agomelatin sirkadiyen bozulmayı MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> reseptörleri aracılığıyla düzeltmiştir. Ancak spesifik bir melatonerjik reseptör antagonistinin akşamları uygulanması, agomelatinin uyku düzenini iyileştirme özelliğine engel oluştururken antagonistin sabah uygulanması ise bu etkisine engel oluşturmamıştır (269).

Mevcut çalışmada agomelatinin obez sıçanlarda vücut ağırlığını ve yem tüketimini azaltıcı etkisinin rapor edildiği dozlarda (277) uygulanması, sağlıklı sıçanlarda vücut ağırlığını ve yem tüketimini azaltmıştır. Bu etki agomelatinin klinik etkisinin temelinde var olan reseptör ekspresyon düzeylerindeki zamansal değişikliklerden ve başlıca melatonerjik agonizma üzerinden sağlamış olabilir. Çünkü kemirgenlerde toplam yem tüketiminin %90'nından fazlasının gerçekleştiği karanlık fazda (290) melatonerjik reseptör ekspresyonu en yüksek düzeydeyken (291, 292) 5-HT<sub>2C</sub> reseptör ekspresyonu aydınlık fazda pik düzeye ulaşır (293).

Mevcut çalışmaya benzer şekilde agomelatinin kilo azaltıcı etkileri prelinik çalışmalarda doğrulanmıştır (275-277). Gece yeme sendromu olan hastalarda da agomelatin tedavisinin kilo kaybına yol açtığı ve semptomları iyileştirdiği gözlemlenmiştir (27, 273, 274). Literatürde agomelatinin gıda alımını nasıl etkilediğine dair fizyolojik mekanizmaların incelendiği bir çalışmaya ulaşılabildiği kadarıyla rastlanmamıştır. Ancak reseptör analogu

olan melatoninin metabolizma, vücut ağırlığı ve gıda alımıyla ilişkisini inceleyen çok sayıda araştırma bulunmaktadır.

Bu çalışmalarda; sağlıklı sıçanlara melatonin uygulanması (2 ay boyunca oral gavajla 10 mg/kg) kontrol grubuna kıyasla yem tüketimini ve vücut ağırlığını düşürmüştür (278). Benzer şekilde, metabolik sendromlu overektomize sıçanların içme sularına melatonin eklenmesi (7 hafta boyunca, 20 µg/ml), vücut ağırlığını ve yem tüketimini azaltmıştır (294). Farklı bir çalışmada ise pinealektomize sıçanlarda artan yem tüketiminin, subkutan melatonin uygulanmasıyla (12 gün boyunca 0.5 mg/kg) baskılandığı rapor edilmiştir (295). Karanlık fazda sıçanların sularına eklenen melatonin (13 hafta boyunca, 1 mg/kg) yem tüketimini ve vücut ağırlığını azaltmıştır. Yazarlar bu etkinin, başlıca MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri aracılığıyla SCN üzerinden sağlandığını öne sürmüştür (279). Farelerde MT<sub>1</sub> reseptörlerinin devre dışı bırakılmasıyla kilo alımının ve yem tüketiminin artması bu verileri destekler niteliktedir (296).

Orta yaşlı sıçanlarda oral melatonin takviyesinin neden olduğu melatonerjik agonizma kilo ve yağ dokusu kaybına yol açmıştır. Ancak bu takviyenin (içme sularına 8 hafta boyunca, 0.2 µg/mL) yem tüketimini değiştirmediği de rapor edilmiştir (297). Bu çalışmadaki melatonerjik agonizmanın bulgularımızdan farklı olarak yem tüketimini değiştirmemesinin nedeni uygulanan melatonin dozunun (0.2 µg/mL) fizyolojik sınırlarda olmasından kaynaklanabilir (298). Benzer şekilde Wolden-Hanson ve ark. melatonin uygulamasının (içme suyuna 12 hafta boyunca, 0,4µg/mL) gıda alımını etkilemeden vücut ağırlığını azalttığını bildirmiştir (299). Bu çalışmada hayvanların toz yemle beslendiklerini belirtmek önemlidir. Zira yem tüketiminin incelendiği deneylerde toz yemin ölçüm metodu açısından pelet yeme kıyasla dezavantajlarının olduğu bilinmektedir (300-302). Benzer şekilde Terron ve ark. sıçanlara melatonin uygulanmasının (15 hafta boyunca içme suyuna, 20 µg/ml) vücut ağırlığını azalttığını rapor etmiştir. Bu çalışmada, yem tüketimi değişmemesine rağmen melatonin uygulanan gruplarda yemden yararlanma miktarının daha az olduğu gözlemlenmiştir (303).

Öte yandan agomelatinin antagonizma sağladığı 5-HT<sub>2C</sub> reseptörü, iştah ve tokluğun düzenlenmesinde kritik rol oynar (304). Bu etkisini başlıca ARN'deki POMC nöronlarının aktivasyonu ile gerçekleştirir (116, 118). Bundan yola çıkarak geliştirilen 5-HT<sub>2C</sub> reseptör agonisti lorcaserin ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından obezite tedavisi için onaylanmıştır

(305, 306). Bu sebeple agomelatinin, en azından 5-HT<sub>2C</sub> reseptörünün en yüksek gen ekspresyon seviyesine ulaştığı aydınlık fazda gıda alımını arttırması beklenebilir. Ancak bu fazda kemirgenlerin tükettiği yem miktarı karanlık faza (aktif faz) göre oldukça düşük olduğu için yirmi dört saatlik yem tüketimine olan etkisi azdır (290). Ayrıca agomelatinin, 5-HT<sub>2C</sub> reseptörüne afinitesi melatonerjik reseptörlere kıyasla ~1000 kat daha düşüktür (265). Bununla beraber agomelatinin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerine ters agonizmden ziyade, nötral antagonizma göstererek reseptör aktivitesini engellememesi (247), mevcut araştırmada gözlenen anorektik etkinin başlıca melatonerjik reseptörler aracılığıyla sağlandığı hipotezimizi güçlendirmektedir. Bu da mevcut çalışmanın bulgularının, melatoninin vücut ağırlığını azalttığını gösteren diğer çalışmalarla uyumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak yem tüketimi açısından bakıldığında mevcut çalışma ile melatonin uygulanan prelinik çalışmaların sonuçlarının kısmen tutarsız olduğu görülür. Tutarsızlıkların ana nedeninin; uygulama yöntemi (oral, intraperitoneal, diyet katkısı), uygulama süresi, ölçüm yöntemi, seçilen konsantrasyon ve hayvan yaşının olabileceği düşünülmektedir.

## **5.2. Agomelatinin Plazma Leptin ve Ghrelin Seviyesine Etkisi**

Mevcut araştırmada agomelatin, sıçanlarda yem tüketimini ve vücut ağırlığını azaltmıştır. Elde edilen bu bulgular, agomelatinin etkisini özellikle ghrelin ve leptin gibi iştahı düzenleyen hormonlar aracılığıyla gerçekleştirebileceğini düşündürdü.

### **5.2.1. Agomelatin Plazma Leptin Seviyesini Arttırdı**

Ağırlıklı olarak yağ dokudan salgılanan leptin, hipotalamusa iletilen önemli bir anoreksijenik sinyaldir (48). Leptin hipotalamusta başlıca POMC/CART nöronlarını uyararak ve AgRP/NPY nöronlarını inhibe ederek iştahı baskılar (48, 136). Mevcut araştırmada agomelatinin plazma leptin seviyesini arttırdığı gözlenmiştir. Bu artış ile gıda alımının azalması uyumlu bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Literatürde fizyolojik koşullarda agomelatinin leptin seviyesi ile ilişkisinin incelendiği *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara ulaşılamadı. Ancak; leptin, gıda alımı kontrolü ve sirkadiyen ritim arasındaki ilişkiye dair mevcut veriler, leptin ile melatonin arasındaki olası bir etkileşime işaret etmektedir (307). Melatonin ve leptin aynı hücre içi sinyal yollarını aktive eder (308) ve melatonerjik reseptörlerin leptin salınımının düzenlendiği dokularda lokalize olduğu bilinir. Leptinin yağ dokudan sirkadiyen bir düzende salgılanmasında bu

reseptörlerin önemli rolü vardır (25). Ayrıca melatonin sinyallemede meydana gelen bozuklukların leptin direncine neden olabileceğini gösteren kanıtlar, melatonerjik aktivasyonun leptin sinyallemedeki önemini göstermektedir (296).

Bu verilere ek olarak çok sayıda çalışma melatonerjik agonizmanın leptin salgılanmasını çeşitli faktörler aracılığıyla değiştirebileceğini göstermektedir. Bir dizi rapor mevcut araştırmadaki verileri destekler şekilde, melatonerjik agonizmanın sağlıklı sıçanlarda plazma leptin düzeyini arttırdığını sunmuştur (309-311). Bu çalışmalara bakıldığında, Song ve ark. yetişkin erkek farelere melatonin takviyesinin (1 ay boyunca içme suyunda 10 µg/mL) plazma leptin seviyesini arttırdığını bildirmiştir (309). Baltacı ve Moğulkoç tarafından yürütülen bir diğer çalışmanın verileri, melatonin uygulanan (6 ay boyunca 3 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon) sıçanlarda plazma leptin seviyesinin arttığını göstermiştir (310). Mevcut bulguları destekleyen bir diğer çalışmanın sonucu ise sıçanlara melatonin uygulanmasının (9 hafta boyunca içme suyuna 25 µg/mL) karanlık fazda plazma leptin konsantrasyonunu arttırmasıdır (298).

Mevcut çalışmanın sonuçlarından farklı olarak melatonerjik agonizmanın plazma leptin seviyesini azalttığını gösteren verilerde vardır. Rasmussen ve ark. orta yaşlı sıçanlarda, genç sıçanlara kıyasla artan plazma leptin seviyesinin, melatonin uygulamasına (10 ve 48 hafta boyunca içme suyunda 4.0 veya 0.4 µg/mL) bağlı olarak gençlik seviyesine geri döndüğünü bildirmiştir. Diğer bir çalışmada ise melatonin uygulamasının (12 hafta boyunca içme suyunda 0.4 µg/mL), karın içi yağlanmayı ve plazma leptin seviyesini azalttığı rapor edilmiştir (299, 312). Benzer şekilde Canpolat ve ark. sağlıklı sıçanlara melatonin uygulanmasının (subkutan 0,5 mg/kg-7 gün) plazma leptin düzeyini azalttığını bildirmiştir (313). Bu çalışmaları destekler şekilde, karanlık fazda obez farelerin içme sularına eklenen melatonin takviyesinin (10 hafta boyunca 1 mg/kg), beyaz yağ dokuda leptin gen ekspresyonunda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (314).

Bu çelişkili verilerin nedeni farklı deney tasarımlarından özellikle de melatonin takviyesinin uygulanma şeklinden kaynaklanıyor olabilir. Bazı çalışmalarda melatonin sürekli olarak verilirken bazılarında ise aralıklı olarak uygulanmıştır. Sürekli melatonin uygulaması, G protein kapılı reseptörlerin karakteristik özelliği olan reseptör duyarsızlaşmasına neden olabilir ve bu da elde edilen verileri etkileyebilir (315). Ayrıca melatonerjik reseptör aktivasyonunun pre-adipositlerin çoğalma ve farklılaşma süreçlerini

baskılayabilme yeteneği de vücut ağırlığı ve yağ dokuda azalmaya yol ağmış olabilir. Bu da plazma leptin seviyesindeki azalmanın dolaylı yoldan sebebi olabilir (316, 317).

Hayvan çalışmalarındaki çelişkili sonuçlara rağmen melatonin; leptin salınımını çeşitli mekanizmalarla düzenleyebileceği önemli fizyolojik etkileşimler tanımlanmıştır. Alonso-Vale ve ark. bir dizi *in vitro* alışmada; melatoninin sürekli değil de aralıklı olarak eklenmesinin insülin aracılığıyla adipositlerdeki leptin ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir (318-321). Song ve ark. da yetişkin farelere melatonin takviyesinin plazma leptin seviyesini arttırdığını bildirmiştir. Ancak çalışmanın *in vitro* aşamasında insülin yokluğunda melatonin uygulanması adiposit hücrelerde leptin ekspresyonunda bir farklılık yaratmamıştır (309). Bu sebeple her ne kadar mevcut çalışmada insülin seviyesi llmemiş olsa da on dört gün boyunca karanlık fazdan önce 24 saatlik periyotlarla uygulanan agomelatinin insülin aracılığıyla plazma leptin seviyesini modüle edebileceği düşünülmektedir.

### **5.2.2. Agomelatin Plazma Ghrelin Seviyesini Azalttı**

Gastrointestinal sistem tarafından üretilen ghrelin, literatürde hipotalamustaki reseptörleri aracılığıyla “yeme dürtüsünü başlatma sinyali” olarak tanımlanmaktadır (322-324). Farelere eksojen ghrelin uygulanması sonrasında besin alımında ve yağ doku kitlesinde önemli artışlar meydana geldiği rapor edilmiştir (325).

Mevcut çalışmada agomelatin uygulanmasına bağlı olarak plazma ghrelin seviyesinde azalma meydana geldiği gözlemlendi. Literatürde agomelatin ile ghrelin arasındaki etkileşimi inceleyen çalışmalara rastlanmamıştır. Ancak ghrelin ile melatonin arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda önemli çalışma mevcuttur. Canpolat ve ark. eksojen melatoninin, sıçanların ARN’sindeki aktif ghrelin hücrelerinin üretimini etkileyebileceğini göstermiştir (295). Mustonen ve ark. da mevcut çalışmayla uyumlu olarak sıçanlara eksojen melatonin uygulamasının kontrol grubuna kıyasla plazma ghrelin seviyesini azalttığını bildirmiştir (326). Ayrıca sağlıklı bireylerde açlık sırasında artan plazma ghrelin seviyesinin, melatonin uygulaması ile baskılandığı veriler arasındadır (327). Öte yandan uyku kısıtlaması sebebiyle sirkadiyen rimi bozulan kişilerde ghrelin seviyesinde bir artış eğilimi olduğu bildirilmektedir (328).

Tüm bu bulgulara dayanılarak, agomelatinin melatonerjik agonizmasıyla ghrelin ve leptin düzeylerini etkilediği söylenebilir. Ancak agomelatinin serotonerjik antagonizması aracılığıyla doğrudan periferik hormonları etkilemesi beklenemez. Çünkü 5-HT<sub>2C</sub> reseptörleri çoğunlukla MSS'ye özgüdür ve periferik organlarda bulunmazlar (329). Diğer yandan, melatonerjik reseptörlerin iştah düzenlemesine katılan periferik organlarda bulunduğu ve agomelatinin de bu reseptörlere güçlü bir agonizma gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle mevcut sonuçların, melatoninle yapılan çalışmalarla uyumlu olması muhtemeldir.

### **5.3. Agomelatinin Hipotalamustaki POMC/CART ve NPY/AgRP Gen Ekspresyon ve Protein Seviyesine Etkisi**

Hipotalamusun belirli bölgeleri açlık veya tokluk hissini sağlayan ghrelin ve leptin gibi periferik hormonlardan sinyaller alır. Bu süreçte yağ doku orjinli leptin hipotalamusta POMC/CART nöronlarının aktivasyonunu arttırarak iştahı baskılamakta ghrelin ise NPY/AgRP aktivasyonu ile iştahı arttırmaktadır (330). İştah mekanizmasında görev alan bu sinyallerin, beslenme bozukluklarının gelişiminde görev alan endokrin faktörler olduğu bilinmekte ve literatürde obezite ile mücadele için bu peptitlere yoğunlaşıldığı dikkat çekmektedir.

Öte yandan iştahın düzenlenmesinde ayrıcalıklı bir konuma sahip ARN'de, MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> immün reaktivitesi orta düzeyde saptanmıştır (23, 24). Yapılan incelemelerde melatonerjik agonizmanın, ARN'deki anoreksijenik POMC ile oreksijenik NPY ve AgRP nöronlarını etkileyerek iştah metabolizmasını düzenleyebileceği önemli etkileşimler tanımlanmıştır (25).

Bu bilgiler ve mevcut çalışmadaki plazma leptin seviyesindeki artış ile ghrelin seviyesindeki azalma, MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> üzerinde güçlü bir agonist olan agomelatinin doğrudan veya dolaylı olarak iştahın merkezi düzenlenmesinde görev alan bölgeleri etkileyebileceğini düşündürdü. Bu kapsamda iştahın düzenlenmesinde önemli rolü olan NPY, AgRP, CART ve POMC nöropeptitlerinin hipotalamustaki gen ekspresyon ve protein seviyeleri RT-PCR ve western blot yöntemiyle analiz edildi.

Sonuçlara göre Ago-20 ve Ago-40 grubunda NPY ve AgRP protein seviyesinin azaldığı, POMC ve CART protein seviyesinin ise arttığı gözlemlendi. Bu durum agomelatin

uygulamasının gıda alımının azalmasına yol açan mekanizmalara dair ipuçları sağlamaktadır. Bununla birlikte POMC hariç olmak üzere gen ifadeleri ve protein seviyeleri arasında negatif korelasyon tespit edildi.

Bu çalışmada meydana gelen AgRP ve NPY gen ifadesindeki artış, agomelatin uygulamasına bağlı olarak azalan AgRP ve NPY protein seviyelerini telafi etmek için hücrelerin transkripsiyonu artırma ve translasyonu genişleterek protein yetersizliğini telafi etme çabasının bir sonucu olarak gözlemlenmiş olabilir. Çünkü bir hücrede ifade edilmesi gereken her protein miktarı, hücrenin durumuna göre kontrol edilir ve belirlenir. Bu tepki gen ekspresyonunu düzenleme mekanizmalarını devreye sokarak hücre içindeki protein seviyelerini koruma ve dengede tutma amacını taşıyabilir. CART geninde gözlemlenen düşük mRNA seviyesi ise muhtemelen güçlü CART protein sinyalinden kaynaklanabilir (331, 332). Bundan dolayı tek başına mRNA seviyesi ölçümü, bir proteinin miktarını güvenilir bir şekilde yansıtmayabilir. Yapılan bir çalışmada, melatonin uygulamasının ardından NPY gen ekspresyonunda artış olmasına rağmen yem tüketiminin azalması bu durumu destekler niteliktedir (279).

Literatürde sağlıklı sıçanlarda iştahın düzenlemesiyle ilişkili nöropeptitler (NPY, AgRP, CART ve POMC) ve agomelatin arasındaki ilişkiye dair bir araştırmaya ulaşılmadı. Ancak sağlıklı sıçanlarda  $MT_1$  ve  $MT_2$  sinyallemesinin, iştahın düzenlenmesindeki merkezi devreleri modüle ederek yem tüketimini ve vücut ağırlığını azalttığı bildirilmektedir (279). Bu verileri destekler şekilde  $MT_1$  ve  $MT_2$  sinyallemesi bozulan sıçanlarda ARN'de leptin direnci indüklenmiştir. Bu da leptin sinyalinin aşağı akışındaki AgRP ve NPY gen ekspresyonu arttırmıştır. Bu sebeple ARN'de leptin duyarlılığının korunması için  $MT_1$  sinyallemesinin gerekli olduğu ortaya konmuştur (296). Ayrıca dikkate değer bir şekilde; melatonin sinyallemesi bozulan sıçanlara eksojen melatonin uygulaması AgRP seviyesini azaltarak kilo kaybına neden olmuştur (279). Bu bulguları destekler şekilde, yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerde melatonin takviyesi artan NPY ekspresyonunu azaltmıştır (333). Fischer ve ark. da farelerde  $MT_1$  reseptörünün devre dışı bırakılmasının ARN'deki POMC gen ekspresyonunu azalttığını bildirmiştir (334). Memelilerle yapılan çalışmalarla uyumlu olacak şekilde *Danio rerio* türü balıklarda melatonin uygulamasının NPY mRNA ekspresyonunu belirgin olarak azalttığını gösteren bulgular raporlar arasındadır (229, 335).

Mevcut çalışmada agomelatin uygulamasının NPY/AgRP protein seviyesini düşürürken POMC/CART protein seviyesini arttırdığı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, melatonerjik reseptör agonizmasının iştahın merkezi düzenlenmesinde etkili olabileceğini gösteren yukarıdaki çalışmalarla uyumludur. Bu durum melatonerjik reseptör aktivasyonunun beslenme davranışının düzenlenmesindeki hayati rolünü düşündürmektedir.

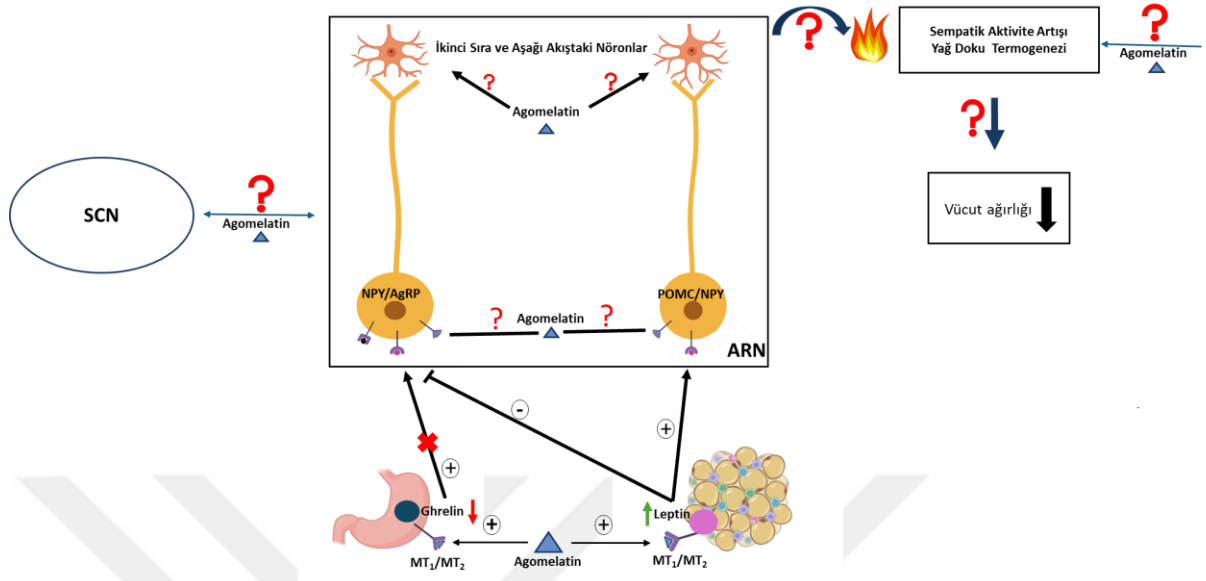
Nitekim sirkadiyen sistemin beslenme ritmini kontrol eden ana faktörlerden biri olduğu iyi bilinmektedir (336). Melatonerjik reseptörler sirkadiyen sistemin düzenlenmesinde görevli SCN'de yoğun olarak lokalizedir (24). Öte yandan SCN'deki nöral devreler ile ARN'deki NPY/AgRP ile POMC/CART nöronları arasında karşılıklı bağlantılar olduğu belirtilmektedir (337). Nöroanatomik izleme çalışmalarında bu bağlantının ortadan kaldırılması, ARN'nin aktivitesinin büyük oranda kaybolmasına yol açmıştır (338). Agomelatinin SCN'deki MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden sirkadiyen ritmi düzenlediği düşünüldüğünde (265), beslenme ritmini SCN üzerinden modüle etmesi olasıdır. Ancak mevcut analizler hipotalamusun tamamını kapsamaktadır. Bu sebeple agomelatinin gıda alımını ve vücut ağırlığını azaltmasına, SCN ile ARN arasındaki etkileşimin ne düzeyde katkı sağladığını belirtemiyoruz.

Melatonerjik reseptörler dışında agomelatinin de aktivite gösterdiği 5-HT<sub>2C</sub> reseptörleri POMC nöronlarında ifade edilir. Aktive olan nöronlar  $\alpha$ -MSH'yı serbest bırakarak melanokortin sistemi aktive eder (116, 118). Mevcut çalışmada, agomelatinin 5-HT<sub>2C</sub> reseptör antagonizmasıyla beslenmenin düzenlendiği hipotalamik devreler üzerinde etkili olabileceği hipotezi üzerinde durmamaktayız. Çünkü agomelatinin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerine nötral antagonist etki gösterir. Dolayısıyla mevcut çalışmadaki sağlıklı sağlam sıçanlarda 5-HT<sub>2C</sub> reseptör aracılı iletimin bazal düzeyin altına düşmesi beklenmez (248). Ayrıca HT<sub>2C</sub> reseptörlerinin antagonize edilmesi ancak histaminerjik ve/veya muskarinik reseptör antagonizmayla birleştiğinde, birçok antidepresan ilaçta olduğu gibi iştah ve kilo artışı riski doğurur. Ancak agomelatinde bu reseptörlere karşı belirgin bir afinite bulunmamaktadır (247). Mevcut çalışmada agomelatinin melatonerjik reseptör agonizması, iştahı düzenleyen merkezi nöronal devreleri doğrudan veya dolaylı şekilde (leptin ve ghrelin aracılığıyla) modüle ederek vücut ağırlığının ve yem tüketiminin azalmasına neden olmuş olabilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mevcut çalışma, MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri üzerinde güçlü bir agonist ve 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerine nötral antagonist olan agomelatinin, sıçanlarda vücut ağırlığını ve yem tüketimini azalttığını göstermektedir. Agomelatin uygulaması, plazma leptin seviyesini artırırken ghrelin seviyesini azaltmıştır. Bununla beraber agomelatin hipotalamustaki anoreksijenik POMC ve CART nöropeptitlerinin protein seviyelerini artırırken, oreksijenik NPY ve AgRP nöropeptitlerinin protein seviyelerini azaltmıştır. Meydana gelen etkinin, 5-HT<sub>2C</sub> reseptöründen ziyade MT<sub>1</sub> ve MT<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden gerçekleşmesi oldukça olasıdır. Çünkü agomelatin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerine nötral antagonist etkiye sahiptir. Dolayısıyla sağlıklı sıçanlarda 5-HT<sub>2C</sub> reseptör aracılı sinyal iletimini değiştirmesi beklenmez. Bu sebeple elde edilen sonuçların daha önce melatonin ile yapılan çalışmaları destekler nitelikte olması şaşırtıcı değildir. Ancak agomelatinin leptin ve ghrelin gibi periferik hormonları etkileyerek dolaylı yoldan merkezi nöropeptitlerin seviyelerini mi değiştirdiği yoksa doğrudan hipotalamik merkezlerin aktivitesini mi düzenlediği belirsizdir. Bu nedenle agomelatinin etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için ghrelin ve leptin nakavt hayvanların kullanılması ve MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>2C</sub> reseptör antagonistlerinin kullanıldığı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca POMC/CART ve NPY/AgRP nöronlarında melatonerjik reseptör seviyesinin immünofloresan boyama yöntemleriyle belirlenmesi agomelatinin iştah mekanizmasına yönelik etkilerinin anlaşılmasına önemli katkılar sağlayabilecektir.

Bununla beraber agomelatin beslenme davranışını SCN ve ARN arasındaki etkileşimi modüle ederek de düzenleyebilir. Ancak mevcut çalışmada analizler bütün hipotalamus üzerinde yapıldığı için, gıda alımı ve vücut ağırlığının azalmasına SCN ile ARN arasındaki etkileşimin ne düzeyde katkı sağladığını belirtemiyoruz. Bu nedenle bu iki yapı arasındaki etkileşimin mikrodiseke edilmiş çekirdekler üzerinde incelenmesi agomelatinin iştah metabolizmasının düzenlenmesindeki rolünü daha da anlamamıza katkı sağlayabilecektir. Ayrıca agomelatin uygulamasının yağ dokudaki termogenez ve sempatik çıkıştan sorumlu belirteçleri ne düzeyde etkileyebileceği de merak konusudur. Bu kapsamda Şekil 6.1.'de soru işareti ile gösterilen boşlukların yapılacak ileri düzey çalışmalarla incelenmesi gerekmektedir.



Şekil 6. 1. Agomelatinin iştah düzenlemesindeki olası etki mekanizması

## KAYNAKLAR

1. Ahima RS, Antwi DA. Brain regulation of appetite and satiety. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2008;37(4):811-23.
2. Phung HM, Jang D, Trinh TA, Lee D, Nguyen QN, Kim C-E, et al. Regulation of appetite-related neuropeptides by *Panax ginseng*: A novel approach for obesity treatment. *Journal of Ginseng Research*. 2022;46(4):609-619.
3. Zigman JM, Elmquist JK. Minireview: from anorexia to obesity—the yin and yang of body weight control. *Endocrinology*. 2003;144(9):3749-56.
4. Pantalone KM, Hobbs TM, Chagin KM, Kong SX, Wells BJ, Kattan MW, et al. Prevalence and recognition of obesity and its associated comorbidities: cross-sectional analysis of electronic health record data from a large US integrated health system. *BMJ Open*. 2017;7(11):e017583.
5. Nigatu YT, Bültmann U, Reijneveld SA. The prospective association between obesity and major depression in the general population: does single or recurrent episode matter? *BMC Public Health*. 2015;15(1):1-8.
6. Pratt LA, Brody DJ. Depression and obesity in the U.S. adult household population, 2005-2010. *NCHS Data Brief*. 2014(167):1-8.
7. Chauvet-Gelinier J-C, Roussot A, Cottenet J, Brindisi M-C, Petit J-M, Bonin B, et al. Depression and obesity, data from a national administrative database study: Geographic evidence for an epidemiological overlap. *PLoS One*. 2019;14(1):e0210507.
8. Milaneschi Y, Simmons WK, van Rossum EFC, Penninx BWJH. Depression and obesity: evidence of shared biological mechanisms. *Molecular Psychiatry*. 2019;24(1):18-33.
9. De Wit L, Luppino F, van Straten A, Penninx B, Zitman F, Cuijpers P. Depression and obesity: a meta-analysis of community-based studies. *Psychiatry Research*. 2010;178(2):230-35.
10. Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BWJH, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of General Psychiatry*. 2010;67(3):220-29.

11. Gill H, Gill B, El-Halabi S, Chen-Li D, Lipsitz O, Rosenblat JD, et al. Antidepressant medications and weight change: a narrative review. *Obesity*. 2020;28(11):2064-72.
12. Uğuz F, Şahingöz M, Güngör B, Aksoy F, Aşkın R. Weight gain and associated factors in patients using newer antidepressant drugs. *General Hospital Psychiatry*. 2015;37(1):46-48.
13. Grundy A, Cotterchio M, Kirsh VA, Kreiger N. Associations between anxiety, depression, antidepressant medication, obesity and weight gain among Canadian women. *PloS One*. 2014;9(6):e99780.
14. Pratt LA, Brody DJ, Gu Q. Antidepressant use in persons aged 12 and over: United States, 2005-2008. *NCHS Data Brief*. 2011(76):1-8.
15. Lee SH, Paz-Filho G, Mastronardi C, Licinio J, Wong M-L. Is increased antidepressant exposure a contributory factor to the obesity pandemic? *Translational Psychiatry*. 2016;6(3):e759-e59.
16. Hızlı H. Yüksek yağlı diyetin açlık-tokluk metabolizmasında görevli hormonlar ve nöropeptidler üzerine etkileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2018;27(3):239-344.
17. Dwarkasing JT, Marks DL, Witkamp RF, van Norren K. Hypothalamic inflammation and food intake regulation during chronic illness. *Peptides*. 2016;77:60-6.
18. Simpson KA, Martin NM, Bloom SR. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2009;53(2):120-8.
19. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases : NMCD*. 2008;18(2):158-68.
20. Han J, Liang X, Guo Y, Wu X, Li Z, Hong T. Agouti-related protein as the glucose signaling sensor in the central melanocortin circuits in regulating fish food intake. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13.
21. Andrews ZB, Liu ZW, Wallingford N, Erion DM, Borok E, Friedman JM, et al. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature*. 2008;454(7206):846-51.
22. Varela L, Horvath TL. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. *EMBO Reports*. 2012;13(12):1079-86.

23. Wu YH, Zhou JN, Balesar R, Unmehopa U, Bao A, Jockers R, et al. Distribution of MT1 melatonin receptor immunoreactivity in the human hypothalamus and pituitary gland: colocalization of MT1 with vasopressin, oxytocin, and corticotropin-releasing hormone. *Journal of Comparative Neurology*. 2006;499(6):897-910.
24. Ng KY, Leong MK, Liang H, Paxinos G. Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions. *Brain Structure & Function*. 2017;222(7):2921-39.
25. Suriagandhi V, Nachiappan V. Protective effects of melatonin against obesity-induced by leptin resistance. *Behavioural Brain Research*. 2022;417:113598.
26. Green B. Focus on agomelatine. *Current Medical Research and Opinion*. 2011;27(4):745-49.
27. Milano W, De Rosa M, Milano L, Capasso A. Agomelatine efficacy in the night eating syndrome. *Case Reports in Medicine*. 2013;2013:867650.
28. Aygün H, Gül SS. Cardioprotective effect of melatonin and agomelatine on doxorubicin-induced cardiotoxicity in a rat model: an electrocardiographic, scintigraphic and biochemical study. *Bratislavske Lekarske Listy*. 2019;120(4):249-55.
29. Aygün H, Gül SS. Protective effect of melatonin and agomelatine on adriamycin-induced nephrotoxicity in rat model: a renal scintigraphy and biochemical study. *Bratislavske Lekarske Listy*. 2019;120(2):113-18.
30. Chumboatong W, Thummayot S, Govitrapong P, Tocharus C, Jittiwat J, Tocharus J. Neuroprotection of agomelatine against cerebral ischemia/reperfusion injury through an antiapoptotic pathway in rat. *Neurochemistry International*. 2017;102:114-22.
31. Freire RH, Alvarez-Leite JJ. Appetite control: hormones or diet strategies? *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2020;23(5):328-35.
32. Myers Jr MG, Olson DP. Central nervous system control of metabolism. *Nature*. 2012;491(7424):357-63.
33. Berthoud H-R, Sutton GM, Townsend RL, Patterson LM, Zheng H. Brainstem mechanisms integrating gut-derived satiety signals and descending forebrain information in the control of meal size. *Physiology & Behavior*. 2006;89(4):517-24.

34. Yi C-X, Tschöp MH. Brain–gut–adipose–tissue communication pathways at a glance. *Disease Models & Mechanisms*. 2012;5(5):583-87.
35. Yu JH, Kim M-S. Molecular mechanisms of appetite regulation. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2012;36(6):391-98.
36. Liu S, Wang X, Zheng Q, Gao L, Sun Q. Sleep deprivation and central appetite regulation. *Nutrients*. 2022;14(24):5196.
37. Nilsson IAK, Lindfors C, Schalling M, Hökfelt T, Johansen JE. Anorexia and hypothalamic degeneration. *Vitamins & Hormones*. 2013;92:27-60.
38. Giel KE, Bulik CM, Fernandez-Aranda F, Hay P, Keski-Rahkonen A, Schag K, et al. Binge eating disorder. *Nature Reviews Disease Primers*. 2022;8(1):16.
39. Lechan RM, Toni R. *Functional Anatomy of the Hypothalamus and Pituitary*. Endotext [Internet]. 2016.
40. Bear MH, Reddy V, Bollu PC. Neuroanatomy, Hypothalamus. *StatPearls* [Internet]. 2022.
41. Shahid Z, Asuka E, Singh G. Physiology, Hypothalamus. *StatPearls* [Internet]. 2023.
42. Zhan C. POMC neurons: feeding, energy metabolism and beyond. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1090:17-29.
43. Korf H-W, Møller M. Arcuate nucleus, median eminence, and hypophysial pars tuberalis. *Handbook of Clinical Neurology*. 2021;180:227-51.
44. Cone RD, Cowley MA, Butler AA, Fan W, Marks DL, Low MJ. The arcuate nucleus as a conduit for diverse signals relevant to energy homeostasis. *International Journal of Obesity*. 2001;25(5):S63-S67.
45. Joly-Amado A, Cansell C, Denis RGP, Delbes A-S, Castel J, Martinez S, et al. The hypothalamic arcuate nucleus and the control of peripheral substrates. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;28(5):725-37.
46. Jais A, Brüning JC. Arcuate nucleus-dependent regulation of metabolism—pathways to obesity and diabetes mellitus. *Endocrine Reviews*. 2022;43(2):314-28.
47. Van den Pol AN. Weighing the role of hypothalamic feeding neurotransmitters. *Neuron*. 2003;40(6):1059-61.

48. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Disease Models & Mechanisms*. 2017;10(6):679-89.
49. Neary NM, Goldstone AP, Bloom SR. Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology*. 2004;60(2):153-60.
50. Singh U, Jiang J, Saito K, Toth BA, Dickey JE, Rodeghiero SR, et al. Neuroanatomical organization and functional roles of PVN MC4R pathways in physiological and behavioral regulations. *Molecular Metabolism*. 2022;55:101401.
51. Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, et al. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology*. 2008;149(3):1295-301.
52. Leibowitz SF, Hammer NJ, Chang K. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiology & Behavior*. 1981;27(6):1031-40.
53. Guyton AC, Hall JE. *Medical Physiology*, 14<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Elsevier, 2020.
54. Stuber GD, Wise RA. Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward. *Nature Neuroscience*. 2016;19(2):198-205.
55. Marsh DJ, Weingarth DT, Novi DE, Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, et al. Melanin-concentrating hormone 1 receptor-deficient mice are lean, hyperactive, and hyperphagic and have altered metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(5):3240-45.
56. Teske JA, Billington CJ, Kotz CM. Hypocretin/orexin and energy expenditure. *Acta Physiologica*. 2010;198(3):303-12.
57. Li Y, van den Pol AN. Differential target-dependent actions of coexpressed inhibitory dynorphin and excitatory hypocretin/orexin neuropeptides. *Journal of Neuroscience*. 2006;26(50):13037-47.
58. Ma X, Zubcevic L, Brüning JC, Ashcroft FM, Burdakov D. Electrical inhibition of identified anorexigenic POMC neurons by orexin/hypocretin. *Journal of Neuroscience*. 2007;27(7):1529-33.

59. Mangieri LR, Lu Y, Xu Y, Cassidy RM, Xu Y, Arenkiel BR, et al. A neural basis for antagonistic control of feeding and compulsive behaviors. *Nature Communications*. 2018;9(1):52.
60. Bernardis LL, Bellinger LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. *Brain Research Reviews*. 1987;12(3):321-81.
61. Jacobowitz DM, O'Donohue TL. alpha-Melanocyte stimulating hormone: immunohistochemical identification and mapping in neurons of rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1978;75(12):6300-04.
62. Broberger C, Johansen J, Johansson C, Schalling M, Hökfelt T. The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(25):15043-48.
63. Rau AR, Hentges ST. GABAergic inputs to POMC neurons originating from the dorsomedial hypothalamus are regulated by energy state. *The Journal of Neuroscience*. 2019;39(33):6449-59.
64. Otgon-Uul Z, Suyama S, Onodera H, Yada T. Optogenetic activation of leptin- and glucose-regulated GABAergic neurons in dorsomedial hypothalamus promotes food intake via inhibitory synaptic transmission to paraventricular nucleus of hypothalamus. *Mol Metab*. 2016;5(8):709-15.
65. Garfield AS, Shah BP, Burgess CR, Li MM, Li C, Steger JS, et al. Dynamic GABAergic afferent modulation of AgRP neurons. *Nat Neurosci*. 2016;19(12):1628-35.
66. Faber CL, Deem JD, Phan BA, Doan TP, Ogimoto K, Mirzadeh Z, et al. Leptin receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus regulate diurnal patterns of feeding, locomotion, and metabolism. *eLife*. 2021;10:e63671.
67. Liao GY, Kinney CE, An JJ, Xu B. TrkB-expressing neurons in the dorsomedial hypothalamus are necessary and sufficient to suppress homeostatic feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116(8):3256-61.

68. Vong L, Ye C, Yang Z, Choi B, Chua S, Jr., Lowell BB. Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons. *Neuron*. 2011;71(1):142-54.
69. Larkin RP. Effect of ventromedial hypothalamic procaine injections on feeding, lever pressing, and other behavior in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1975;89(9):1100-8.
70. Epstein AN. Reciprocal changes in feeding behavior produced by intrahypothalamic chemical injections. *The American Journal of Physiology*. 1960;199:969-74.
71. Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci*. 2003;6(7):736-42.
72. Sternson SM, Shepherd GMG, Friedman JM. Topographic mapping of VMH→arcuate nucleus microcircuits and their reorganization by fasting. *Nature Neuroscience*. 2005;8(10):1356-63.
73. Chee MJS, Myers MG, Price CJ, Colmers WF. Neuropeptide Y suppresses anorexigenic output from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(9):3380-90.
74. Davidowa H, Li Y, Plagemann A. Differential response to NPY of PVH and dopamine-responsive VMH neurons in overweight rats. *Neuroreport*. 2002;13(12):1523-27.
75. Prior LJ, Head GA, Armitage JA. Experimental models of maternal obesity and high-fat diet during pregnancy and programmed obesity in the offspring. In: Lustig RH (ed). *Obesity Before Birth: Maternal And Prenatal Influences On The Offspring*, 1<sup>st</sup> ed. Boston, Springer US, 2011;241-59.
76. Açar E. *İnsan Fizyolojisi*, 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık, 2021
77. Kim GW, Lin JE, Valentino MA, Colon-Gonzalez F, Waldman SA. Regulation of appetite to treat obesity. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2011;4(2):243-59.
78. Douglass J, McKinzie AA, Couceyro P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *The Journal of Neuroscience*. 1995;15(3 Pt 2):2471-81.

79. Rogge G, Jones D, Hubert GW, Lin Y, Kuhar MJ. CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions. *Nature Reviews Neuroscience*. 2008;9(10):747-58.
80. Lau J, Herzog H. CART in the regulation of appetite and energy homeostasis. *Frontiers in Neuroscience*. 2014;8:313.
81. Lau J, Farzi A, Qi Y, Heilbronn R, Mietzsch M, Shi YC, et al. CART neurons in the arcuate nucleus and lateral hypothalamic area exert differential controls on energy homeostasis. *Mol Metab*. 2018;7:102-18.
82. Menyhért J, Wittmann Gb, Lechan RM, Keller Ev, Liposits Z, Fekete C. Cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic neuropeptide  $\gamma$  and agouti-related protein and absent from the anorexigenic  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus. *Endocrinology*. 2007;148(9):4276-81.
83. Lambert PD, Couceyro PR, McGirr KM, Dall Vechia SE, Smith Y, Kuhar MJ. CART peptides in the central control of feeding and interactions with neuropeptide Y. *Synapse*. 1998;29(4):293-8.
84. Asnicar MA, Smith DP, Yang DD, Heiman ML, Fox N, Chen YF, et al. Absence of cocaine- and amphetamine-regulated transcript results in obesity in mice fed a high caloric diet. *Endocrinology*. 2001;142(10):4394-400.
85. Abbott CR, Rossi M, Wren AM, Murphy KG, Kennedy AR, Stanley SA, et al. Evidence of an orexigenic role for cocaine- and amphetamine-regulated transcript after administration into discrete hypothalamic nuclei. *Endocrinology*. 2001;142(8):3457-63.
86. Hou J, Zheng DZ, Zhou JY, Zhou SW. Orexigenic effect of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) after injection into hypothalamic nuclei in streptozotocin-diabetic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*. 2010;37(10):989-95.
87. Freitas-Lima LC, Pačesová A, Staňurová J, Šácha P, Marek A, Hubálek M, et al. GPR160 is not a receptor of anorexigenic cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide. *European Journal of Pharmacology*. 2023;949:175713.

88. Pražienková V, Marek A, Maletínská L. Iodination of CART(61-102) peptide: Preserved binding and anorexigenic activity in mice. *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*. 2021;64(2):61-64.
89. Millington GWM. The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. *Nutrition & Metabolism*. 2007;4(1):1-16.
90. Harno E, Gali Ramamoorthy T, Coll AP, White A. POMC: the physiological power of hormone processing. *Physiological Reviews*. 2018;98(4):2381-430.
91. Clark AJL. 60 Years of POMC: The proopiomelanocortin gene: discovery, deletion and disease. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2016;56(4):T27-T37.
92. Nussey S, Whitehead S. The pituitary gland. *Endocrinology: An Integrated Approach*: BIOS Scientific Publishers; 2001.
93. Bicknell AB. The tissue-specific processing of pro-opiomelanocortin. *Journal of Neuroendocrinology*. 2008;20(6):692-99.
94. Könnér AC, Klöckener T, Brüning JC. Control of energy homeostasis by insulin and leptin: targeting the arcuate nucleus and beyond. *Physiology & Behavior*. 2009;97(5):632-38.
95. Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*. 1997;88(1):131-41.
96. Yeo GSH, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nature Genetics*. 1998;20(2):111-12.
97. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GSH, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(12):1085-95.
98. Tanaka M, Yamada S, Watanabe Y. The role of neuropeptide Y in the nucleus accumbens. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(14):7287.
99. Mercer RE, Chee MJS, Colmers WF. The role of NPY in hypothalamic mediated food intake. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2011;32(4):398-415.
100. Levine AS, Morley JE. Neuropeptide Y: a potent inducer of consummatory behavior in rats. *Peptides*. 1984;5(6):1025-29.

101. Clark JT, Kalra PS, Kalra SP. Neuropeptide Y stimulates feeding but inhibits sexual behavior in rats. *Endocrinology*. 1985;117(6):2435-42.
102. Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdán MG, Diano S, Horvath TL, et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*. 2001;411(6836):480-84.
103. Galas L, Tonon M-C, Beaujean D, Fredriksson R, Larhammar D, Lihmann I, et al. Neuropeptide Y inhibits spontaneous  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) release via a Y5 receptor and suppresses thyrotropin-releasing hormone-induced  $\alpha$ -MSH secretion via a Y1 receptor in frog melanotrope cells. *Endocrinology*. 2002;143(5):1686-94.
104. Ghamari-Langroudi M, 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.
105. Mullins D, Kirby D, Hwa J, Guzzi M, Rivier J, Parker E. Identification of potent and selective neuropeptide Y Y1 receptor agonists with orexigenic activity in vivo. *Molecular Pharmacology*. 2001;60(3):534-40.
106. Hipskind PA, Lobb KL, Nixon JA, Britton TC, Bruns RF, Catlow J, et al. Potent and selective 1, 2, 3-trisubstituted indole NPY Y-1 antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1997;40(23):3712-14.
107. Ollmann MM, Wilson BD, Yang Y-K, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, et al. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science*. 1997;278(5335):135-38.
108. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarh DT, Adams JR, Frazier EG, et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*. 2004;145(6):2607-12.
109. Hahn TM, Breininger JF, Baskin DG, Schwartz MW. Coexpression of *Agrp* and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. *Nature Neuroscience*. 1998;1(4):271-72.
110. Zhang L, Hernandez-Sanchez D, Herzog H. Regulation of feeding-related behaviors by arcuate neuropeptide Y neurons. *Endocrinology*. 2019;160(6):1411-20.
111. Joppa MA, Gogas KR, Foster AC, Markison S. Central infusion of the melanocortin receptor antagonist agouti-related peptide (AgRP (83-132)) prevents cachexia-related

- symptoms induced by radiation and colon-26 tumors in mice. *Peptides*. 2007;28(3):636-42.
112. Semjonous NM, Smith KL, Parkinson JRC, Gunner DJL, Liu Y-L, Murphy KG, et al. Coordinated changes in energy intake and expenditure following hypothalamic administration of neuropeptides involved in energy balance. *International Journal of Obesity*. 2009;33(7):775-85.
  113. Livneh Y, Ramesh RN, Burgess CR, Levandowski KM, Madara JC, Fenselau H, et al. Homeostatic circuits selectively gate food cue responses in insular cortex. *Nature*. 2017;546(7660):611-16.
  114. Bamalan OA, Moore MJ, Al Khalili Y. Physiology, serotonin. StatPearls [Internet]. 2023.
  115. Giulietti M, Vivenzio V, Piva F, Principato G, Bellantuono C, Nardi B. How much do we know about the coupling of G-proteins to serotonin receptors? *Molecular Brain*. 2014;7:1-15.
  116. Marston OJ, Garfield AS, Heisler LK. Role of central serotonin and melanocortin systems in the control of energy balance. *European Journal of Pharmacology*. 2011;660(1):70-9.
  117. Heisler LK, Jobst EE, Sutton GM, Zhou L, Borok E, Thornton-Jones Z, et al. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. *Neuron*. 2006;51(2):239-49.
  118. Garfield AS, Heisler LK. Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. *The Journal of Physiology*. 2009;587(1):49-60.
  119. Choi S, Blake V, Cole S, Fernstrom JD. Effects of chronic fenfluramine administration on hypothalamic neuropeptide mRNA expression. *Brain Research*. 2006;1087(1):83-6.
  120. El-Merahbi R, Löffler M, Mayer A, Sumara G. The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Letters*. 2015;589(15):1728-34.
  121. Mazda T, Yamamoto H, Fujimura M, Fujimiya M. Gastric distension-induced release of 5-HT stimulates c-fos expression in specific brain nuclei via 5-HT<sub>3</sub> receptors in conscious rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2004;287(1):G228-G35.

122. Schwartz MW, Woods SC, Porte Jr D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.
123. Oltmans GA. Norepinephrine and dopamine levels in hypothalamic nuclei of the genetically obese mouse (ob/ob). *Brain Research*. 1983;273(2):369-73.
124. Romanova IV, Derkach KV, Mikhrina AL, Sukhov IB, Mikhailova EV, Shpakov AO. The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents. *Neurochemical Research*. 2018;43:821-37.
125. Gaziano I, Corneliussen S, Biglari N, Neuhaus R, Shen L, Sotelo-Hitschfeld T, et al. Dopamine-inhibited POMCDrd2+ neurons in the ARC acutely regulate feeding and body temperature. *JCI Insight*. 2022;7(21).
126. Pereira S, Cline DL, Glavas MM, Covey SD, Kieffer TJ. Tissue-specific effects of leptin on glucose and lipid metabolism. *Endocrine Reviews*. 2021;42(1):1-28.
127. Park H-K, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism*. 2015;64(1):24-34.
128. Liu Z, Xiao T, Liu H. Leptin signaling and its central role in energy homeostasis. *Frontiers in Neuroscience*. 2023;17:1238528.
129. Tang-Christensen M, Havel PJ, Jacobs RR, Larsen PJ, Cameron JL. Central administration of leptin inhibits food intake and activates the sympathetic nervous system in rhesus macaques. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999;84(2):711-17.
130. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-52.
131. Friedman JM. Modern science versus the stigma of obesity. *Nature Medicine*. 2004;10(6):563-69.
132. Kwon O, Kim KW, Kim MS. Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*. 2016;73(7):1457-77.
133. Suzuki K, Simpson KA, Minnion JS, Shillito JC, Bloom SR. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocrine Journal*. 2010;57(5):359-72.
134. Paz-Filho G, Mastronardi CA, Licinio J. Leptin treatment: facts and expectations. *Metabolism*. 2015;64(1):146-56.

135. Liu H, Du T, Li C, Yang G. STAT3 phosphorylation in central leptin resistance. *Nutrition & Metabolism*. 2021;18:1-13.
136. Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature*. 1998;393(6680):72-6.
137. Lenard NR, Berthoud HR. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity*. 2008;16(S3):S11-S22.
138. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(5):292-95.
139. Gruzdeva O, Borodkina D, Uchasova E, Dyleva Y, Barbarash O. Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2019:191-98.
140. Banks WA. Role of the blood–brain barrier in the evolution of feeding and cognition. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012;1264(1):13-19.
141. Lee B, Shao J. Adiponectin and energy homeostasis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2014;15(2):149-56.
142. Idrizaj E, Garella R, Squecco R, Baccari MC. Can adiponectin have an additional effect on the regulation of food intake by inducing gastric motor changes? *World Journal of Gastroenterology*. 2020;26(20):2472-78.
143. Holland WL, Adams AC, Brozinick JT, Bui HH, Miyauchi Y, Kusminski CM, et al. An FGF21-adiponectin-ceramide axis controls energy expenditure and insulin action in mice. *Cell Metabolism*. 2013;17(5):790-97.
144. Tang N, Zhang X, Chen D, Li Z. The controversial role of adiponectin in appetite regulation of animals. *Nutrients*. 2021;13(10):3387.
145. Morash BA, Wilkinson D, Ur E, Wilkinson M. Resistin expression and regulation in mouse pituitary. *FEBS Letters*. 2002;526(1-3):26-30.
146. Vazquez MJ, González CR, Varela L, Lage R, Tovar S, Sangiao-Alvarellos S, et al. Central resistin regulates hypothalamic and peripheral lipid metabolism in a nutritional-dependent fashion. *Endocrinology*. 2008;149(9):4534-43.

147. Tovar S, Nogueiras R, Tung LYC, Castaneda TR, Vázquez MaJs, Morris A, et al. Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *European Journal of Endocrinology*. 2005;153(3):R1-R5.
148. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(30):10610-15.
149. Youn B-S, Klöting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song E-S, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57(2):372-77.
150. Klöting N, Kovacs P, Kern M, Heiker JT, Fasshauer M, Schön MR, et al. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia*. 2011;54:1819-23.
151. Castan-Laurell I, Dray C, Attané C, Duparc T, Knauf C, Valet P. Apelin, diabetes and obesity. *Endocrine*. 2011;40:1-9.
152. Saral S, Alkanat M, Sumer A, Canpolat S. Apelin-13 increased food intake with serum ghrelin and leptin levels in male rats. *Bratislavske Lekarske Listy*. 2018;119(1):47-53.
153. Duerrschmid C, He Y, Wang C, Li C, Bournat JC, Romere C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature Medicine*. 2017;23(12):1444-53.
154. Dampney RA. Arcuate nucleus - a gateway for insulin's action on sympathetic activity. *The Journal of Physiology*. 2011;589(Pt 9):2109-10.
155. Schwartz MW, Figlewicz DP, Baskin DG, Woods SC, Porte Jr D. Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance. *Endocrine Reviews*. 1992;13(3):387-414.
156. Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, et al. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(20):9048-52.
157. Obici S, Feng Z, Karkanias G, Baskin DG, Rossetti L. Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nature Neuroscience*. 2002;5(6):566-72.
158. Brown LM, Clegg DJ, Benoit SC, Woods SC. Intraventricular insulin and leptin reduce food intake and body weight in C57BL/6J mice. *Physiology & Behavior*. 2006;89(5):687-91.

159. Gelling RW, Morton GJ, Morrison CD, Niswender KD, Myers MG, Rhodes CJ, et al. Insulin action in the brain contributes to glucose lowering during insulin treatment of diabetes. *Cell Metabolism*. 2006;3(1):67-73.
160. Krug R, Mohwinkel L, Drotleff B, Born J, Hallschmid M. Insulin and estrogen independently and differentially reduce macronutrient intake in healthy men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;103(4):1393-401.
161. Al-Massadi O, Fernø J, Diéguez C, Nogueiras R, Quiñones M. Glucagon control on food intake and energy balance. *Int J Mol Sci*. 2019;20(16).
162. Appleyard SM, Bailey TW, Doyle MW, Jin YH, Smart JL, Low MJ, et al. Proopiomelanocortin neurons in nucleus tractus solitarius are activated by visceral afferents: regulation by cholecystokinin and opioids. *The Journal of Neuroscience*. 2005;25(14):3578-85.
163. Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402(6762):656-60.
164. Schalla MA, Stengel A. The role of ghrelin in anorexia nervosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(7):2117.
165. De Vriese C, Delporte C. Influence of ghrelin on food intake and energy homeostasis. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2007;10(5):615-19.
166. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. 2001;50(8):1714-19.
167. Verhulst P-J, Depoortere I. Ghrelin's second life: from appetite stimulator to glucose regulator. *World Journal of Gastroenterology*. 2012;18(25):3183.
168. Chen SR, Chen H, Zhou JJ, Pradhan G, Sun Y, Pan HL, et al. Ghrelin receptors mediate ghrelin-induced excitation of agouti-related protein/neuropeptide Y but not pro-opiomelanocortin neurons. *Journal of Neurochemistry*. 2017;142(4):512-20.
169. Miura T, Maruyama K, Shimakura S, Kaiya H, Uchiyama M, Kangawa K, et al. Regulation of food intake in the goldfish by interaction between ghrelin and orexin. *Peptides*. 2007;28(6):1207-13.
170. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. 2001;409(6817):194-98.

171. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*. 2003;37(4):649-61.
172. Sato T, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M. Structure, regulation and function of ghrelin. *The Journal of Biochemistry*. 2012;151(2):119-28.
173. Date Y, Shimbara T, Koda S, Toshinai K, Ida T, Murakami N, et al. Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. *Cell Metabolism*. 2006;4(4):323-31.
174. Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, et al. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*. 2002;123(4):1120-28.
175. Yasuda T, Masaki T, Kakuma T, Yoshimatsu H. Centrally administered ghrelin suppresses sympathetic nerve activity in brown adipose tissue of rats. *Neuroscience Letters*. 2003;349(2):75-8.
176. Tsubone T, Masaki T, Katsuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Ghrelin regulates adiposity in white adipose tissue and UCP1 mRNA expression in brown adipose tissue in mice. *Regulatory Peptides*. 2005;130(1-2):97-103.
177. Silva AP, Bethmann K, Raulf F, Schmid HA. Regulation of ghrelin secretion by somatostatin analogs in rats. *European Journal of Endocrinology*. 2005;152(6):887-94.
178. Choi HJ, Ki KH, Yang J-Y, Jang BY, Song JA, Baek W-Y, et al. Chronic central administration of ghrelin increases bone mass through a mechanism independent of appetite regulation. *PLoS One*. 2013;8(7):e65505.
179. Tokudome T, Kangawa K. Physiological significance of ghrelin in the cardiovascular system. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2019;95(8):459-67.
180. Dailey MJ, Moran TH. Glucagon-like peptide 1 and appetite. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2013;24(2):85-91.
181. Singh I, Wang L, Xia B, Liu J, Tahiri A, El Ouaamari A, et al. Activation of arcuate nucleus glucagon-like peptide-1 receptor-expressing neurons suppresses food intake. *Cell & Bioscience*. 2022;12(1):1-14.

182. Li S, Liu M, Cao S, Liu B, Li D, Wang Z, et al. The mechanism of the gut-brain axis in regulating food intake. *Nutrients*. 2023;15(17):3728.
183. Okonkwo O, Zezoff D, Adeyinka A. *Biochemistry, Cholecystokinin*. StatPearls Publishing. 2023.
184. Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin SJB, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ, et al. Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology*. 2006;147(1):3-8.
185. Halatchev IG, Ellacott KLJ, Fan W, Cone RD. Peptide YY3–36 inhibits food intake in mice through a melanocortin-4 receptor-independent mechanism. *Endocrinology*. 2004;145(6):2585-90.
186. Poggiogalle E, Jamshed H, Peterson CM. Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism*. 2018;84:11-27.
187. Doghramji K. Melatonin and its receptors: a new class of sleep-promoting agents. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2007;15;3(5 Suppl):S17-23.
188. Page AJ, Christie S, Symonds E, Li H. Circadian regulation of appetite and time restricted feeding. *Physiology & Behavior*. 2020;220:112873.
189. Vrang N, Larsen PJ, Møller M, Mikkelsen JD. Topographical organization of the rat suprachiasmatic-paraventricular projection. *The Journal of Comparative Neurology*. 1995;353(4):585-603.
190. Stephan FK, Berkley KJ, Moss RL. Efferent connections of the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*. 1981;6(12):2625-41.
191. Lombardelli, Khan, McDowall, Dyball. Neural connections of hypothalamic neuroendocrine nuclei in the rat. *Journal of Neuroendocrinology*. 2000;12(7):635-48.
192. Sindelar DK, Palmiter RD, Woods SC, Schwartz MW. Attenuated feeding responses to circadian and palatability cues in mice lacking neuropeptide Y. *Peptides*. 2005;26(12):2597-602.
193. Boivin DB, Boudreau P, Kosmadopoulos A. Disturbance of the circadian system in shift work and its health impact. *Journal of Biological Rhythms*. 2022;37(1):3-28.
194. Garaulet M, Lee Y-C, Shen J, Parnell LD, Arnett DK, Tsai MY, et al. Genetic variants in human CLOCK associate with total energy intake and cytokine sleep factors in

- overweight subjects (GOLDN population). *European Journal of Human Genetics*. 2010;18(3):364-69.
195. Garaulet M, Madrid JA. Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;62(9-10):967-78.
  196. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2016;56:361-83.
  197. Brydon L, Petit L, Delagrangre P, Strosberg AD, Jockers R. Functional expression of MT2 (Mel1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes. *Endocrinology*. 2001;142(10):4264-71.
  198. Guan Q, Wang Z, Cao J, Dong Y, Chen Y. Mechanisms of melatonin in obesity: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;23(1):218.
  199. Kamfar WW, Khraiweh HM, Ibrahim MO, Qadhi AH, Azhar WF, Ghafouri KJ, et al. Comprehensive review of melatonin as a promising nutritional and nutraceutical supplement. *Heliyon*. 2024;10(2):e24266.
  200. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current Neuropharmacology*. 2017;15(3):434-43.
  201. Kutlu O, İsa Ü, Durmuşcan M, Kekilli E, Parlakpınar H, Kutlu NO. Anti-osteoporotic effects of melatonin and misoprostol in glucocorticoid-induced osteoporosis: An experimental study. *Journal of Surgery and Medicine*. 2019;3(8):568-73.
  202. Talib WH, Alsayed AR, Abuawad A, Daoud S, Mahmud AI. Melatonin in cancer treatment: current knowledge and future opportunities. *Molecules*. 2021;26(9):2506.
  203. Anwar MJ, Muhammad BY, Bader AA, Abdulghani M, Mahmood D, Haider M. An insight into the scientific background and future perspectives for the potential uses of melatonin. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2015;2(3):139-52.
  204. Claustrat B, Leston J. Melatonin: physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61(2-3):77-84.
  205. Boafo A, Greenham S, Alenezi S, Robillard R, Pajer K, Tavakoli P, et al. Could long-term administration of melatonin to prepubertal children affect timing of puberty? A clinician's perspective. *Nature and Science of Sleep*. 2019:1-10.

206. Akyüz E, Kullu İ, Arulsamy A, Shaikh MF. Melatonin as an antiepileptic molecule: therapeutic implications via neuroprotective and inflammatory mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*. 2021;12(8):1281-92.
207. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of Pineal Research*. 2016;61(3):253-78.
208. Amaral F, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2018;62:472-79.
209. Vasey C, McBride J, Penta K. Circadian rhythm dysregulation and restoration: the role of melatonin. *Nutrients*. 2021;13(10):3480.
210. Minella C, Coliat P, Amé S, Neuberger K, Stora A, Mathelin C, et al. Protective role of melatonin in breast cancer: what we can learn from women with blindness. *Cancer Causes & Control*. 2022;33(1):1-13.
211. Cipolla-Neto J, Amaral FGd. Melatonin as a hormone: new physiological and clinical insights. *Endocrine Reviews*. 2018;39(6):990-1028.
212. Karasek M. Melatonin, human aging, and age-related diseases. *Experimental Gerontology*. 2004;39(11-12):1723-29.
213. Xu Z, You W, Liu J, Wang Y, Shan T. Elucidating the regulatory role of melatonin in brown, white, and beige adipocytes. *Advances in Nutrition*. 2020;11(2):447-60.
214. Von Gall C, Weaver DR, Moek J, Jilg A, Stehle JH, Korf HW. Melatonin plays a crucial role in the regulation of rhythmic clock gene expression in the mouse pars tuberalis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005;1040(1):508-11.
215. Ahmad SB, Ali A, Bilal M, Rashid SM, Wani AB, Bhat RR, et al. Melatonin and health: Insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2023:1-22.
216. Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012;351(2):152-66.
217. Pévet P. Melatonin receptors as therapeutic targets in the suprachiasmatic nucleus. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2016;20(10):1209-18.

218. Ma H, Kang J, Fan W, He H, Huang F. ROR: nuclear receptor for melatonin or not? *Molecules*. 2021;26(9):2693.
219. Slominski AT, Zmijewski MA, Jetten AM. ROR $\alpha$  is not a receptor for melatonin. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*. 2016;38(12):1193.
220. Becker-André M, Wiesenberg I, Schaeren-Wiemers N, Andre E, Missbach M, Saurat J-H, et al. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(46):28531-34.
221. Tobeiha M, Jafari A, Fadaei S, Mirazimi SMA, Dashti F, Amiri A, et al. Evidence for the benefits of melatonin in cardiovascular disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:888319.
222. Lv T, Yan J, Lou Y, Zhang Z, Ye M, Zhou J, et al. Evaluation of melatonin therapy in patients with myocardial ischemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022:4610522.
223. Bermudez-Gonzalez JL, Sanchez-Quintero D, Proaño-Bernal L, Santana-Apreza R, Jimenez-Chavarria MA, Luna-Alvarez-Amezquita JA, et al. Role of the antioxidant activity of melatonin in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2022;11(4).
224. Chen C-Q, Fichna J, Bashashati M, Li Y-Y, Storr M. Distribution, function and physiological role of melatonin in the lower gut. *World Journal of Gastroenterology*. 2011;17(34):3888.
225. Drago F, Macaudo S, Salehi S. Small doses of melatonin increase intestinal motility in rats. *Digestive Diseases and Sciences*. 2002;47:1969-74.
226. Roy D, Belsham DD. Melatonin receptor activation regulates GnRH gene expression and secretion in GT1-7 GnRH neurons: signal transduction mechanisms. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(1):251-58.
227. Yılmaz B, Kutlu S, Moğulkoç R, Canpolat S, Sandal S, Tarakçi B, et al. Melatonin inhibits testosterone secretion by acting at hypothalamo-pituitary-gonadal axis in the rat. *Neuro Endocrinology Letters*. 2000;21(4):301-06.

228. Bubenik GA, Pang SF, Hacker RR, Smith PS. Melatonin concentrations in serum and tissues of porcine gastrointestinal tract and their relationship to the intake and passage of food. *Journal of Pineal Research*. 1996;21(4):251-56.
229. Piccinetti CC, Migliarini B, Olivotto I, Coletti G, Amici A, Carnevali O. Appetite regulation: the central role of melatonin in *Danio rerio*. *Hormones and Behavior*. 2010;58(5):780-85.
230. Huether G. Melatonin synthesis in the gastrointestinal tract and the impact of nutritional factors on circulating melatonin. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1994;719(1):146-58.
231. Zaki NFW, Spence DW, Subramanian P, Bharti VK, Karthikeyan R, BaHammam AS, et al. Basic chronobiology: what do sleep physicians need to know? *Sleep Science (Sao Paulo, Brazil)*. 2020;13(4):256-66.
232. Cardinali DP, Furio AM, Reyes MP, Brusco LI. The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep-wake cycle. *Cancer Causes & Control*. 2006;17(4):601-9.
233. Williams iii WP, McLin iii DE, Dressman MA, Neubauer DN. Comparative review of approved melatonin agonists for the treatment of circadian rhythm sleep-wake disorders. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2016;36(9):1028-41.
234. Kostoglou-Athanassiou I. Therapeutic applications of melatonin. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2013;4(1):13-24.
235. Otte C, Gold SM, Penninx BW, Pariante CM, Etkin A, Fava M, et al. Major depressive disorder. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016;2:16065.
236. Srinivasan V, Zakaria R, Othman Z, Lauterbach EC, Acuña-Castroviejo D. Agomelatine in depressive disorders: its novel mechanisms of action. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 2012;24(3):290-308.
237. Salgado-Delgado R, Tapia Osorio A, Saderi N, Escobar C. Disruption of circadian rhythms: a crucial factor in the etiology of depression. *Depression Research and Treatment*. 2011;2011:839743.
238. Al-Harbi KS. Treatment-resistant depression: therapeutic trends, challenges, and future directions. *Patient Preference and Adherence*. 2012;6:369-88.

239. Kelly K, Posternak M, Alpert JE. Toward achieving optimal response: understanding and managing antidepressant side effects. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2008;10(4):409-18.
240. Norman TR, Olver JS. Agomelatine for depression: expanding the horizons? *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2019;20(6):647-56.
241. De Berardis D, Fornaro M, Serroni N, Campanella D, Rapini G, Olivieri L, et al. Agomelatine beyond borders: current evidences of its efficacy in disorders other than major depression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(1):1111-30.
242. Spadoni G, Bedini A, Rivara S, Mor M. Melatonin receptor agonists: new options for insomnia and depression treatment. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2011;17(6):733-41.
243. Ancizu S, Castrillo N, Pérez-Silanes S, Aldana I, Monge A, Delagrangé P, et al. New quinoxaline derivatives as potential MT1 and MT2 receptor ligands. *Molecules*. 2012;17(7):7737-57.
244. Liu X, Lu Y-F, Guan X, Zhao M, Wang J, Li F. Characterizing novel metabolic pathways of melatonin receptor agonist agomelatine using metabolomic approaches. *Biochemical Pharmacology*. 2016;109:70-82.
245. Yu Z, Cheng Z, Xie C, Zeng S, Deng H, Liu P, et al. Synthesis of agomelatine by one-pot catalytic hydrogenation and acetylation with NiO. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater Sci Ed*. 2019;34:453-58.
246. Stahl SM. Mechanism of action of agomelatine: a novel antidepressant exploiting synergy between monoaminergic and melatonergic properties. *CNS Spectrums*. 2014;19(3):207-12.
247. Millan MJ. Agomelatine for the treatment of generalized anxiety disorder: focus on its distinctive mechanism of action. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*. 2022;12:20451253221105128.
248. Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, Dekeyne A, Newman-Tancredi A, Pasteau V, et al. The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003;306(3):954-64.

249. Hanoun N, Mocaër E, Boyer P-A, Hamon M, Lanfumey L. Differential effects of the novel antidepressant agomelatine (S 20098) versus fluoxetine on 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the rat brain. *Neuropharmacology*. 2004;47(4):515-26.
250. Karamustafalıoğlu O, Baran E. Agomelatin ve etki mekanizması. *Journal of Mood Disorders*. 2012;2(5).
251. Australian product information-valdoxan (agomelatine) film-coated tablets <https://www.ebs.tga.gov.au/ebs/picmi/picmirepository.nsf/pdf?OpenAgent&id=CP-2010-PI-07273-3&d=20240322172310101> Son Erişim Tarihi:12 Mayıs 2024.
252. De Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Renard P, Muñoz C, Millan MJ. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010;9(8):628-42.
253. Perlemuter G, Cacoub P, Valla D, Guyader D, Saba B, Batailler C, et al. Characterisation of agomelatine-induced increase in liver enzymes: frequency and risk factors determined from a pooled analysis of 7605 treated patients. *CNS Drugs*. 2016;30:877-88.
254. Montejo A, Majadas S, Rizvi SJ, Kennedy SH. The effects of agomelatine on sexual function in depressed patients and healthy volunteers. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2011;26(8):537-42.
255. Chenu F, El Mansari M, Blier P. Electrophysiological effects of repeated administration of agomelatine on the dopamine, norepinephrine, and serotonin systems in the rat brain. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(2):275-84.
256. Molteni R, Calabrese F, Pisoni S, Gabriel C, Mocaer E, Racagni G, et al. Synergistic mechanisms in the modulation of the neurotrophin BDNF in the rat prefrontal cortex following acute agomelatine administration. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2010;11(2):148-53.
257. Tardito D, Milanese M, Bonifacino T, Musazzi L, Grilli M, Mallei A, et al. Blockade of stress-induced increase of glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex by agomelatine involves synergy between melatonergic and 5-HT<sub>2C</sub> receptor-dependent pathways. *BMC Neuroscience*. 2010;11:1-4.

258. Racagni G, Riva MA, Molteni R, Musazzi L, Calabrese F, Popoli M, et al. Mode of action of agomelatine: synergy between melatonergic and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2011;12(8):574-87.
259. Kamal M, Gbahou F, Guillaume J-L, Daulat AM, Benleulmi-Chaachoua A, Luka M, et al. Convergence of melatonin and serotonin (5-HT) signaling at MT<sub>2</sub>/5-HT<sub>2C</sub> receptor heteromers. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(18):11537-46.
260. Gerbier R, Ndiaye-Lobry D, Martinez de Morentin PB, Cecon E, Heisler LK, Delagrangé P, et al. Pharmacological evidence for transactivation within melatonin MT<sub>2</sub> and serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor heteromers in mouse brain. *The FASEB Journal*. 2021;35(1):e21161.
261. Oishi A, Cecon E, Jockers R. Melatonin receptor signaling: impact of receptor oligomerization on receptor function. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;338:59-77.
262. Klosen P, Lapmanee S, Schuster C, Guardiola B, Hicks D, Pevet P, et al. MT<sub>1</sub> and MT<sub>2</sub> melatonin receptors are expressed in nonoverlapping neuronal populations. *Journal of Pineal Research*. 2019;67(1):e12575.
263. Ying S-W, Rusak B, Delagrangé P, Mocaër E, Renard P, Guardiola-Lemaître B. Melatonin analogues as agonists and antagonists in the circadian system and other brain areas. *European Journal of Pharmacology*. 1996;296(1):33-42.
264. Armstrong SM, McNulty OM, Guardiola-Lemaître B, Redman JR. Successful use of S20098 and melatonin in an animal model of delayed sleep-phase syndrome (DSPS). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1993;46(1):45-49.
265. Guardiola-Lemaître B, De Bodinat C, Delagrangé P, Millan MJ, Munoz C, Mocaër E. Agomelatine: mechanism of action and pharmacological profile in relation to antidepressant properties. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(15):3604-19.
266. Castanho A, Bothorel B, Seguin L, Mocaër E, Pévet P. Like melatonin, agomelatine (S20098) increases the amplitude of oscillations of two clock outputs: melatonin and temperature rhythms. *Chronobiology International*. 2014;31(3):371-81.
267. Bourin M, Mocaër E, Porsolt R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*. 2004;29(2):126-33.

268. Bertaina-Anglade V, la Rochelle CD, Boyer PA, Mocaër E. Antidepressant-like effects of agomelatine (S 20098) in the learned helplessness model. *Behavioural Pharmacology*. 2006;17(8):703-13.
269. Papp M, Gruca P, Boyer PA, Mocaër E. Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(4):694-703.
270. Taylor D, Sparshatt A, Varma S, Olofinjana O. Antidepressant efficacy of agomelatine: meta-analysis of published and unpublished studies. *Bmj*. 2014;348:g2496.
271. Sansone RA, Sansone LA. Agomelatine: a novel antidepressant. *Innovations in Clinical Neuroscience*. 2011;8(11):10.
272. Krause M, Gutmiedl K, Bighelli I, Schneider-Thoma J, Chaimani A, Leucht S. Efficacy and tolerability of pharmacological and non-pharmacological interventions in older patients with major depressive disorder: A systematic review, pairwise and network meta-analysis. *European Neuropsychopharmacology*. 2019;29(9):1003-22.
273. Zapp AA, Fischer EC, Deuschle M. The effect of agomelatine and melatonin on sleep-related eating: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 2017;11:1-4.
274. Milano W, De Rosa M, Milano L, Riccio A, Sanseverino B, Capasso A. Successful treatment with agomelatine in NES: a series of five cases. *The Open Neurology Journal*. 2013;7:32.
275. Diez-Echave P, Vezza T, Algieri F, Ruiz-Malagón AJ, Hidalgo-García L, García F, et al. The melatonergic agonist agomelatine ameliorates high fat diet-induced obesity in mice through the modulation of the gut microbiome. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113445.
276. Cherngwelling R, Pengrattanachot N, Swe MT, Thongnak L, Promsan S, Phengpol N, et al. Agomelatine protects against obesity-induced renal injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress/apoptosis pathway in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2021;425:115601.
277. Promsan S, Thongnak L, Pengrattanachot N, Phengpol N, Sutthasupha P, Lungkaphin A. Agomelatine, a structural analog of melatonin, improves kidney dysfunction

- through regulating the AMPK/mTOR signaling pathway to promote autophagy in obese rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2022;165:113190.
278. Wang L, McFadden JW, Yang G, Zhu H, Lian H, Fu T, et al. Effect of melatonin on visceral fat deposition, lipid metabolism and hepatic lipo-metabolic gene expression in male rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2021;105(4):787-96.
279. Buonfiglio D, Parthimos R, Dantas R, Cerqueira Silva R, Gomes G, Andrade-Silva J, et al. Melatonin absence leads to long-term leptin resistance and overweight in rats. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:122.
280. Arslan AK, Çolak C. RAY: Rasgele Atama Yazılımı. <http://biostatapps.inonu.edu.tr/RAY/> Son Erişim Tarihi:12 Mayıs 2024.
281. Tekin S, Erden Y, Ozyalin F, Onalan EE, Cigremis Y, Colak C, et al. Central iris administration suppresses thyroid hormone production but increases energy consumption in rats. *Neuroscience Letters*. 2018;674:136-41.
282. Barden N, Shink E, Labbé M, Vacher R, Rochford J, Mocaër E. Antidepressant action of agomelatine (S 20098) in a transgenic mouse model. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2005;29(6):908-16.
283. De Berardis D, Marini S, Fornaro M, Srinivasan V, Iasevoli F, Tomasetti C, et al. The melatonergic system in mood and anxiety disorders and the role of agomelatine: implications for clinical practice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(6).
284. Moreno-SanJuan S, Puentes-Pardo JD, Casado J, Escudero-Feliu J, Khaldy H, Arnedo J, et al. Agomelatine, a melatonin-derived drug, as a new strategy for the treatment of colorectal cancer. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2023;12(4).
285. Conboy L, Tanrikut C, Zoladz PR, Campbell AM, Park CR, Gabriel C, et al. The antidepressant agomelatine blocks the adverse effects of stress on memory and enables spatial learning to rapidly increase neural cell adhesion molecule (NCAM) expression in the hippocampus of rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2009;12(3):329-41.
286. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.

287. Erden Y. Capsanthin stimulates the mitochondrial apoptosis-mediated cell death, following DNA damage in MCF-7 Cells. *Nutrition and Cancer*. 2021;73(4):662-70.
288. Nogueira LFR, Marqueze EC. Effects of melatonin supplementation on eating habits and appetite-regulating hormones: a systematic review of randomized controlled clinical and preclinical trials. *Chronobiol Int*. 2021;38(8):1089-102.
289. Millan MJ, Marin P, Kamal M, Jockers R, Chanrion B, Labasque M, et al. The melatonergic agonist and clinically active antidepressant, agomelatine, is a neutral antagonist at 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2011;14(6):768-83.
290. Spiteri NJ. Circadian patterning of feeding, drinking and activity during diurnal food access in rats. *Physiology & Behavior*. 1982;28(1):139-47.
291. Masana MI, Benloucif S, Dubocovich ML. Circadian rhythm of mt1 melatonin receptor expression in the suprachiasmatic nucleus of the C3H/HeN mouse 1. *Journal of Pineal Research*. 2000;28(3):185-92.
292. Von Gall C, Stehle JH, Weaver DR. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction. *Cell and Tissue Research*. 2002;309(1):151-62.
293. Holmes MC, French KL, Seckl JR. Dysregulation of diurnal rhythms of serotonin 5-HT<sub>2c</sub> and corticosteroid receptor gene expression in the hippocampus with food restriction and glucocorticoids. *Journal of Neuroscience*. 1997;17(11):4056-65.
294. Sanchez-Mateos S, Alonso-Gonzalez C, Gonzalez A, Martinez-Campa CM, Mediavilla MD, Cos S, et al. Melatonin and estradiol effects on food intake, body weight, and leptin in ovariectomized rats. *Maturitas*. 2007;58(1):91-101.
295. Canpolat S, Aydin M, Yasar A, Colakoglu N, Yilmaz B, Kelestimur H. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin levels in the rat. *Neuroscience Letters*. 2006;410(2):132-36.
296. Buonfiglio D, Tchio C, Furigo I, Donato Jr J, Baba K, Cipolla-Neto J, et al. Removing melatonin receptor type 1 signaling leads to selective leptin resistance in the arcuate nucleus. *Journal of Pineal Research*. 2019;67(2):e12580.
297. Puchalski SS, Green JN, Rasmussen DD. Melatonin effect on rat body weight regulation in response to high-fat diet at middle age. *Endocrine*. 2003;21:163-67.

298. Ríos-Lugo MJ, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos MP, Scacchi PA, Cardinali DP, et al. Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats. *J Pineal Res.* 2010;49(4):342-8.
299. Wolden-Hanson T, Mitton DR, McCants RL, Yellon SM, Wilkinson CW, Matsumoto AM, et al. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology.* 2000;141(2):487-97.
300. Carter RL, Lipman NS. Feed and bedding. In: Weichbrod RH, Thompson GA, Norton JN (eds). *Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing.* 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis, 2018:639-54.
301. Ali MA, Kravitz AV. Challenges in quantifying food intake in rodents. *Brain Research.* 2018;1693:188-91.
302. Yan L, Combs GF, Jr., DeMars LC, Johnson LK. Effects of the physical form of the diet on food intake, growth, and body composition changes in mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science.* 2011;50(4):488-94.
303. Terrón MP, Delgado-Adámez J, Pariente JA, Barriga C, Paredes SD, Rodríguez AB. Melatonin reduces body weight gain and increases nocturnal activity in male Wistar rats. *Physiology & Behavior.* 2013;118:8-13.
304. Halford JCG, Harrold JA, Boyland EJ, Lawton CL, Blundell JE. Serotonergic drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. *Drugs.* 2007;67:27-56.
305. Higgins GA, Sellers EM, Fletcher PJ. From obesity to substance abuse: therapeutic opportunities for 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonists. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2013;34(10):560-70.
306. Zeltser LM. Distinct hypothalamic and brainstem contributions to lorcaserin action. *Cell Metabolism.* 2018;28(4):533-34.
307. Suriagandhi V, Nachiappan V. Therapeutic target analysis and molecular mechanism of melatonin-treated leptin resistance induced obesity: A Systematic Study of Network Pharmacology. *Frontiers in Endocrinology.* 2022;13:927576.

308. Szewczyk-Golec K, Woźniak A, Reiter RJ. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity. *Journal of Pineal Research*. 2015;59(3):277-91.
309. Song YM, Chen MD. Effects of melatonin administration on plasma leptin concentration and adipose tissue leptin secretion in mice. *Acta Biologica Hungarica*. 2009;60(4):399-407.
310. Baltacı AK, Moğulkoç R. Pinealectomy and melatonin administration in rats: their effects on plasma leptin levels and relationship with zinc. *Acta Biologica Hungarica*. 2007;58(4):335-43.
311. Mustonen A-M, Nieminen P, Hyvärinen H, Asikainen J. Exogenous melatonin elevates the plasma leptin and thyroxine concentrations of the mink (*Mustela vison*). *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2000;55(9-10):806-13.
312. Rasmussen DD, Boldt BM, Wilkinson C, Yellon SM, Matsumoto AM. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels. *Endocrinology*. 1999;140(2):1009-12.
313. Canpolat S, Sandal S, Yilmaz B, Yasar A, Kutlu S, Baydas G, et al. Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on serum leptin levels in male rat. *European Journal of Pharmacology*. 2001;428(1):145-48.
314. Farias TdSMd, Paixao RId, Cruz MM, de Sa RDCdC, Simão JdJ, Antraco VJ, et al. Melatonin supplementation attenuates the pro-inflammatory adipokines expression in visceral fat from obese mice induced by a high-fat diet. *Cells*. 2019;8(9):1041.
315. Agil A, Rosado I, Ruiz R, Figueroa A, Zen N, Fernández-Vázquez G. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Pineal Research*. 2012;52(2):203-10.
316. Zhang L, Su P, Xu C, Chen C, Liang A, Du K, et al. Melatonin inhibits adipogenesis and enhances osteogenesis of human mesenchymal stem cells by suppressing PPAR $\gamma$  expression and enhancing Runx2 expression. *Journal of Pineal Research*. 2010;49(4):364-72.
317. Alonso-Vale MIC, Peres SB, Vernochet C, Farmer SR, Lima FB. Adipocyte differentiation is inhibited by melatonin through the regulation of C/EBP $\beta$  transcriptional activity. *Journal of Pineal Research*. 2009;47(3):221-27.

318. Alonso-Vale MI, Andreotti S, Mukai PY, Borges-Silva C, Peres SB, Cipolla-Neto J, et al. Melatonin and the circadian entrainment of metabolic and hormonal activities in primary isolated adipocytes. *J Pineal Res.* 2008;45(4):422-9.
319. Alonso-Vale MI, Anhê GF, Borges-Silva C, Andreotti S, Peres SB, Cipolla-Neto J, et al. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. *Metabolism.* 2004;53(4):500-6.
320. Alonso-Vale MI, Andreotti S, Borges-Silva C, Mukai PY, Cipolla-Neto J, Lima FB. Intermittent and rhythmic exposure to melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and dexamethasone effects on leptin expression. *J Pineal Res.* 2006;41(1):28-34.
321. Alonso-Vale MIC, Andreotti S, Peres SB, Anhê GF, das Neves Borges-Silva C, Neto JC, et al. Melatonin enhances leptin expression by rat adipocytes in the presence of insulin. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 2005;288(4):E805-E12.
322. Le Roux C, Patterson M, Vincent R, Hunt C, Ghatei M, Bloom S. Postprandial plasma ghrelin is suppressed proportional to meal calorie content in normal-weight but not obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2005;90(2):1068-71.
323. Klok M, Jakobsdottir S, Drent M. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obesity Reviews.* 2007;8(1):21-34.
324. De Ambrogi M, Volpe S, Tamanini C. Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidyl hormone. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research.* 2003;9(9):RA217-24.
325. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature.* 2000;407(6806):908-13.
326. Mustonen A-M, Nieminen P, Hyvärinen H. Preliminary evidence that pharmacologic melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine.* 2001;16(1):43-46.
327. Celinski K, Konturek PC, Slomka M, Cichoz-Lach H, Gonciarz M, Bielanski W, et al. Altered basal and postprandial plasma melatonin, gastrin, ghrelin, leptin and insulin in patients with liver cirrhosis and portal hypertension without and with oral

- administration of melatonin or tryptophan. *Journal of Pineal Research*. 2009;46(4):408-14.
328. Buxton OM, Cain SW, O'Connor SP, Porter JH, Duffy JF, Wang W, et al. Adverse metabolic consequences in humans of prolonged sleep restriction combined with circadian disruption. *Science Translational Medicine*. 2012;4(129):129ra43.
329. Bays HE. Lorcaserin and adiposopathy: 5-HT<sub>2c</sub> agonism as a treatment for 'sick fat' and metabolic disease. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2009;7(11):1429-45.
330. Vohra MS, Benchoula K, Serpell CJ, Hwa WE. AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity. *European Journal of pharmacology*. 2022;915:174611.
331. Cheng Z, Teo G, Krueger S, Rock TM, Koh HW, Choi H, et al. Differential dynamics of the mammalian mRNA and protein expression response to misfolding stress. *Molecular Systems Biology*. 2016;12(1):855.
332. de Sousa Abreu R, Penalva LO, Marcotte EM, Vogel C. Global signatures of protein and mRNA expression levels. *Molecular bioSystems*. 2009;5(12):1512-26.
333. Ríos-Lugo MJ, Jiménez-Ortega V, Cano-Barquilla P, Mateos PF, Spinedi EJ, Cardinali DP, et al. Melatonin counteracts changes in hypothalamic gene expression of signals regulating feeding behavior in high-fat fed rats. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 2015;21(3):175-83.
334. Fischer C, Mueller T, Pfeffer M, Wicht H, von Gall C, Korf H-W. Melatonin receptor 1 deficiency affects feeding dynamics and pro-opiomelanocortin expression in the arcuate nucleus and pituitary of mice. *Neuroendocrinology*. 2017;105(1):35-43.
335. Montalbano G, Mania M, Abbate F, Navarra M, Guerrera MC, Laura R, et al. Melatonin treatment suppresses appetite genes and improves adipose tissue plasticity in diet-induced obese zebrafish. *Endocrine*. 2018;62(2):381-93.
336. Pickel L, Sung HK. Feeding rhythms and the circadian regulation of metabolism. *Frontiers in Nutrition*. 2020;7:39.
337. Huang W, Ramsey KM, Marcheva B, Bass J. Circadian rhythms, sleep, and metabolism. *The Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(6):2133-41.

338. Buijs FN, Guzmán-Ruiz M, León-Mercado L, Basualdo MC, Escobar C, Kalsbeek A, et al. Suprachiasmatic nucleus interaction with the arcuate nucleus; essential for organizing physiological rhythms. *Eneuro*. 2017;4(2).



## **EKLER**

### **EK.1. ÖZGEÇMİŞ**



## **EK.2. ETİK KURUL KARARI**

