



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RETROPERİTONEAL YAĞ DOKUSU
DENERVASYONUNU TAKİBEN DİYETLE
OBEZ YAPILMIŞ SIÇANLARDA LEPTİN
SENTEZİ VE SERUM SEVİYELERİNİN
İNCELENMESİ**

Taghi AHMADI RENDİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet ALVER

TRABZON-2015

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Taghi AHMADI RENDİ'nin hazırladığı **“Retroperitoneal Yağ Dokusu Denervasyonunu Takiben Diyetle Obez Yapılmış Sıçanlarda Leptin Sentezi Ve Serum Seviyelerinin İncelenmesi ”** başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ALVER

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Prof. Dr. Ahmet ALVER

Yrd. Doç. Dr. İbrahim TURAN

Tarih:/.../201...

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

.....

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

Tarih: 05.10.2015

Taghi AHMADI RENDI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yüksek lisans eğitimi boyunca hem bilimsel hem de ahlâki yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Ahmet ALVER başta olmak üzere, eğitimimde büyük ve sayısız emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Eşref Edip KEHA, Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİ YAZICIOĞLU, Prof. Dr. Birgül KURAL, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE, Yrd. Doç. Dr. Fulya B. YÜCESAN’a, ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Cemil KAHRAMAN’a, Biyokimya Anabilim Dalı’ndaki başta Arş. Gör. Ayşe ŞENTÜRK, Arş. Gör. Diler US ALTAY, İmran İNCE’ye, Arş. Gör. Neslihan SAĞLAM’a ve tüm araştırma görevlisi, doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma, sağlık bilimleri enstitüsünde çalışanlarına, her zaman bana destek olan, her türlü fedakârlığı gösteren ve ümit veren aileme en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Taghi AHMADI RENDI

“Retroperitoneal yağ Dokusu Denerve Edilmiş Sıçanlarda Retroperitoneal ve Epididimal Yağ Dokularından Salgılanan Adipokin Profillerinin İncelenmesi” başlıklı 114S147 kodlu projeye maddi destek sağlayan TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	x
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Yağ Dokusunun Yapısı	5
4.1.1. Yağ Dokusunun Çeşitleri, Vücutta Yerleşimi ve Özellikleri	5
4.2. Yağ dokusu, Sinir Sistemi ve Denervasyon	8
4.3. Obezite	11
4.4. Leptin	11
4.4.1. Leptinin Geni ve Peptid Yapısı	12
4.4.2. Leptinin Sentezi	12
4.4.3. Leptinin Aktifleşmesi ve Etki Mekanizması	13
4.4.4. Leptinin reseptörleri	15
5. GEREÇ ve YÖNTEM	17
5.1. Gereç	17
5.1.1. Kullanılan Hayvanlar	17
5.1.2. Kullanılan Cihazlar, Aletler ve Malzemeler	17
5.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
5.1.4. Kullanılan Ticari Kitler	20
5.2. Yöntem	20
5.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	20
5.3. Serumda Glukoz ve Trigliserit Ölçümü	21

5.4. Serumda Leptin Ölçümü	22
5.5. Serumda İnsülin Ölçümü	22
5.6. Dokuda Norepinefrin (NE) Ölçümü	23
5.6.1. Norepinefrin Ölçümünde Kullanılan PBS Çözeltilisinin Hazırlanması	23
5.6.2. Homojenizasyon Aşaması	23
5.7. Yağ Dokusundan Total RNA İzolasyonu	24
5.8. Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile RNA'dan cDNA Elde Edilmesi ve Çoğaltılması	25
5.9. RT- PCR	26
5.10. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	29
6. BULGULAR	30
6.1. Morfolojik Bulgular	30
6.2. Deney Gruplarının Kilo Artışı ve Son Ağırlık Ölçümü	
Sonuçları	31
6.3. Serum Glukoz, TG ve İnsülin Ölçümü Sonuçları	32
6.4. Retroperitoneal Yağ Dokusunda NE Ölçümü Sonuçları	33
6.5. Retroperitoneal Yağ doku Ağırlık Ölçümü Sonuçları	34
6.6. Serum Leptin Ölçümü Sonuçları	35
6.7. Retroperitoneal ve Epididmal Yağ Dokularında Gen Ekspresyon Sonuçları	36
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	37
8. KAYNAKLAR	42
9. ETİK KURUL ONAYI	50
10. ÖZGEÇMİŞ	51

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Kullanılan cihazlar, aletler ve malzemeler	17
Tablo 2. Kullanılan kimyasal maddeler ve üretici firmalar	19
Tablo 3. Kullanılan kitler ve üretici firmalar	20
Tablo 4. Yüksek yağ içerikli sıçan yeminin içeriği	21
Tablo 5. Standart sıçan yeminin içeriği	21
Tablo 6. RT-PCR’da kullanılan primer dizileri	26
Tablo 7. Örneklerin RT-PCR için hazırlanması	27
Tablo 8. RT-PCR Protokolü	27
Tablo 9. Deney grupların kilo artışı ve son ağırlık sonuçları	31
Tablo 10. Deney gruplarının serum glukoz, TG ve insülin sonuçları	33
Tablo 11. Deney gruplarının retroperitoneal yağ dokusu NE sonuçları	34
Tablo 12. Deney gruplarının retroperitoneal yağ dokularının ağırlık sonuçları	34
Tablo 13. Deney gruplarının leptin/ağırlık sonuçları	36
Tablo 14. Deney grupların retroperitoneal ve epididmal gen ekspresyon sonuçları	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Adipoz dokunun bazı metabolik etkileri	7
Şekil 2. Beyaz yağ dokusu ve beyin arasındaki sinirsel ilişki	8
Şekil 3. Leptinin aktifleşme mekanizması	14
Şekil 4. Leptin reseptör formları ve hücre domainları	16
Şekil 5. Leptin standart grafiği	22
Şekil 6. İnsülin standart grafiği (405 nm)	23
Şekil 7. Norepinefrin standart grafiği	24
Şekil 8. Leptin için erime noktası grafiği	28
Şekil 9. Amplifikasyon eğrileri	28
Şekil 10. Denervasyon öncesi retroperitoneal yağ dokusu ve sinir lifleri	30
Şekil 11. Retroperitoneal yağ dokusu ve denerve edilmiş sinir lifleri	30
Şekil 12. Deney grupların zamana bağlı kilo artışları	32
Şekil 13. Deney grupların retroperitoneal yağ dokusu NE sonuçları	33
Şekil 14. Deney grupların leptin ölçümü sonuçları	35

KISALTMALAR, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ**Kısaltmalar**

WAT	Beyaz yağ dokusu
BAT	Kahverengi yağ dokusu
NPY	Nöropeptid Y
AGRP	Agouti gen ilgili peptid
TG	Trigliserid
NE	Norepinefrin
LepR	Leptin reseptör

Formüller

NaCl	Sodyum klorür
Na₂HPO₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaH₂PO₄	Sodyum dihidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
KCl	Potasyum klorür

1. ÖZET

Retroperitoneal Yağ Dokusu Denervasyonunu Takiben Diyetle Obez Yapılmış Sıçanlarda Leptin Sentezi ve Serum Seviyelerinin İncelenmesi

Leptin başlıca beyaz yağ dokusunda sentezlenen ve enerji dengesini düzenleyen bir hormondur. Sentezi birçok faktörün yanı sıra sempatik sinir sistemi tarafından da düzenlenir. Çalışmamızda, yüksek yağlı ve standart diyetle beslenen sıçanlarda iki taraflı retroperitoneal yağ dokusu denervasyonunun, retroperitoneal ve epididimal yağ dokusunda leptin ekspresyonuna ve serum leptin konsantrasyonuna etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda, her birinde 8 adet 100-150 g ve 3-5 haftalık Sprague Dawley ırkı sıçan bulunan 4 grup oluşturuldu: I. Grup: Retroperitoneal yağ dokusu iki taraflı denervasyon yapıldı ve yüksek yağlı yem ile beslendi (YD+), II. Grup: Denervasyon yapılmadı ve yüksek yağlı yem ile beslendi (YD-), III. Grup: Retroperitoneal yağ dokusu iki taraflı denervasyon yapıldı ve standart yem ile beslendi (SD+), IV. Grup: Denervasyon yapılmadı ve standart yem ile beslendi (SD-) kontrol grubu olarak kabul edildi. 10 haftalık programı sonunda sıçanlardan serum ve doku numuneleri toplandı. Serum numunelerinde, glukoz, trigliserit, insülin ve leptin seviyeleri ölçüldü. Retroperitoneal ve epididimal yağ dokusunda leptin mRNA seviyesi RT-PCR ile belirlendi. Yüksek yağlı diyet kullanan ve denerve edilen grupların serum leptin seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ($p=0.038$). Yağlı diyet denervasyon ile birlikte gen ekspresyon sonuçlarında ciddi bir değişiklik bulunmadı ($p=0.31$). Sonuç olarak, denerve edilmiş sıçanlarda, diyete bağlı olarak leptin ekspresyonlarında fark bulunmadığı, serum leptin seviyelerinde farklılıklar olduğu görüldü. Gözlenen değişikliklerin diyetin diğer yağ dokularına olan etkisinden kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Sözcükler: Adipokin, Denervasyon, Obezite, Sempatik Sinir Sistemi, Yüksek Yağlı Diyet.

2. SUMMARY

The Investigation of Leptin Synthesis and Serum Levels in Diet Induced Obese Rats Subsequent to Retroperitoneal Adipose Tissue Denervation

Leptin is a hormone synthesized mainly in white adipose tissue and that regulates the energy balance. Synthesis of leptin is regulated by the sympathetic nervous system as well as a number of other factors. In our study, we aim to investigate the effects of retroperitoneal fat tissue denervation (both sides) on mRNA expression of leptin in the fat tissue and in the serum concentrations in rats fed with standard and high fat diet. In our study, there will be four experimental groups each containing 8 Sprague Dawley rats weighing 100-150 g and aging 3-5 weeks: I. Group: Denervated of both retroperitoneal tissue and fed high fat rat diet (YD+), II. Group: Not Denervated and fed with high fat rat diet (YD-), III. Group: Denervated of both retroperitoneal tissue and fed standart fat rat diet (SD+), IV. Group: Not Denervated and fed with standart rat diet (SD-) (control group). At the end of 10 week period, the animals tissue and serum samples were collected. In serum samples measured glucose, triglyceride, insulin and leptin levels. Furthermore, in retroperitonel ve epididimal tissue samples leptin mRNA levels were determined by using RT-PCR. Serum leptin levels were determined to be higher in high-fat diet and denervated group compared to the control group ($p=0.038$). Denervation with high fat diet did not altered gene expressions ($p=0.31$). In conclusion, the denervated rats, there was no difference in the leptin expression. On the other hand, serum leptin levels showed significant changes. The observed changes, were considered to be caused by dietary effects to other fat tissues.

Key Words: Adipokine, Denervation, Obesity, Sempatic Nerve System, High Fat Diet.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Araştırmacılar tarafından 21. yüzyılın en önemli sağlık problemlerinden birinin obezite olduğunu ifade edilmektedir (1). Obezite vücuttaki yağ dokusu hacminin artmasından dolayı sağlık problemlerinin arttığı ve beklenen yaşam süresinin azaldığı medikal bir durum olarak tanımlanmaktadır (2). Vücuda besinler yoluyla alınan enerji, vücudun harcadığı enerjiden daha fazla olduğunda, artan enerji yağ dokusunda trigliserit olarak depolanır ve obezite ortaya çıkar (3). Obezite özellikle kalp hastalıkları, tip 2 diyabet ve kanserin ortaya çıkma riskini artırmaktadır (2-5). Bazı endokrin ve psikiyatrik hastalıkların obeziteye neden olduğu bilinmesine rağmen, obezitenin en yaygın nedenleri diyetle fazla kalori alınması, fiziksel aktivitenin azalması ve genetik yatkınlık olarak bilinmektedir (6).

İlk kez Friedman ve ark. ob geni tarafından kodlanan leptin adını verdikleri, bir proteinin adipositlerden sekrete edildiğini tespit etmişlerdir. Leptin 16 kDa ağırlığında ve 167 amino asitten oluşan bir proteindir. Leptinin merkezi sinir sistemindeki etkisi ile adipoz doku büyümesini kontrol ettiği sonucuna varılmıştır. Leptin hipotalamusu etkileyerek iştahı baskılar ve enerji sarfiyatını artırır. Yapılan çeşitli çalışmalarla leptin reseptörlerinin karaciğerde, iskelet kasında, kalpte, böbrek ve pankreas gibi önemli organlarda da bulunduğu tespit edilmiştir. Leptin başlıca adipoz dokuda sentezlenir. Miktarı vücuttaki yağ kitlesi ile orantılı olarak artar. Adipoz doku dışında overlerde, bağırsaklarda ve karaciğerde de az miktarda sentezlenmektedir. Leptinin sadece olgun adipositlerden sentezlendiği ve olgun olmayanlarda sentezlenmediği tespit edilmiştir. Adipositler leptin reseptörlerini de eksprese ettiği için bu hormonun otokrin ve parakrin etkilerinin de olduğu söylenmektedir. Aynı zamanda leptin hematopoiezis, angiogenezi, uyardığı immün cevabı düzenlediği, sempatik sinir sistemini etkilediği ve kemik iliğini baskıladığı bilinmektedir. Bunlara ilaveten hiperleptinemi kan basıncını etkilemektedir (7).

Obezite araştırmalarında diyetle indüklenmiş modeller, insanlarda görülen obezitenin genellikle diyet kaynaklı olmasından dolayı, transgenik deney hayvanları ve kimyasal ajanlarla indüklenmiş obezite gibi diğer modellere göre çok daha fazla tercih edilmektedir. Özellikle rodentlerde diyetle indüklenmiş obezite spesifik besinlerin obezite gelişimindeki rollerini göstermede oldukça bilgi verici olmaktadır. Toplam

kalorinin %30-60'nın yağlardan sağlandığı yüksek yağ içerikli diyetler rodentlerde insülin direnci ve hipergliseminin eşlik ettiği obezitenin gelişiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek karbohidrat içerikli diyetle (yüksek sukroz içeriği), hipertriglisemik, insülin direnci ve kilo kazanımı ile karakterize obezite temin edilmektedir. Yüksek yağ içerikli diyetle beslenen hayvanlarda obezite, yüksek karbohidrat içerikli yemle beslenenlere göre daha belirgin olmaktadır (7).

Sinir sistemi enerji metabolizmasının kontrolünde önemli rol oynar. Özellikle enerji alınımlı ve kullanımı sinir sistemi tarafından sıkıca kontrol edilir. Birçok dokuda olduğu gibi yağ dokusunun da metabolik ve sekretuar fonksiyonları otonom sinir sistemi tarafından kontrol altındadır. Otonom sinir sisteminin yağ dokusu üzerindeki etkilerini incelemek için sinir liflerinin devre dışı bırakıldığı denervasyon deneyleri kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda denervasyonun insülin aracılıklı glukoz alınımlı, hücre proliferasyonunu, Adipokin salgılanması ve bazı enzim seviyelerini değiştirdiği bulunmuştur (8).

Bu çalışmada, iki taraflı retroperitoneal yağ dokusu denerve edilmiş sıçanlarda hem retroperitoneal hemde epididimal yağ dokularında meydana gelen leptin ekspresyonu ve serum konsantrasyonlarındaki denervasyona ve diyetle bağlı değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Yağ Dokusunun Yapısı

Yağ dokusu çeşitli hücre tiplerinden oluşan gevşek bağ dokusu türüdür. Doku olgun yağ hücreleri ve stroma-vasküler fraksiyon olarak adlandırılan preadiposit, makrofaj, endotel hücresi, fibroblast ve lökositler gibi hücrelerden oluşur. Yağ dokusu klasik olarak, fazla enerjinin depolandığı, vücuda yalıtım sağlayan ve dolgu özelliği olan bir dokunun ötesinde, bugün birçok organı etkileyen hormonların, büyüme faktörlerinin, matriks proteinlerinin, enzimlerin ve sitokinlerin salgılandığı bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir. Yağ dokusunun biyoaktif molekülleri salgılayan ana birimleri adipositler ve fibroblastlardır. Yağ dokusundan salgılanan endokrin, parakrin ve otokrin etkiye sahip bu biyoaktif moleküller adipokinler veya adipositokinler olarak adlandırılmaktadır. Bu faktörler, vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde, adiposit farklılaşmasında, vaskülerizasyon ve kan akışının düzenlenmesinde, karbohidrat, lipid ve kolesterol metabolizmasında ve bağışıklık sistemi fonksiyonlarında rol oynamaktadır. Bu kadar farklı görevleri olan adipokinler obezite ve obezite ile ilişkili olan hastalıkların (insülin direnci, diyabet, kalp-damar hastalıkları gibi) gelişiminde önemli roller oynar (9).

Normal ağırlıktaki bir insanda yağ dokusu vücut ağırlığının erkeklerde %15-20'sini, kadınlarda ise %20-25'ini oluşturmaktadır. Memelilerin çoğunda beyaz yağ dokusu (White Adipose Tissue - WAT) ve kahverengi yağ dokusu (Brown Adipose Tissue - BAT) olarak adlandırılan, birbirlerinden renk, dağılım, damarlanma ve metabolik aktivite açılarından farklılık gösteren, iki ayrı yağ dokusu bulunmaktadır (10).

4.1.1. Yağ Dokusunun Çeşitleri, Vücutta Yerleşimi ve Özellikleri

Yağ dokusu anatomik yerleşimlerine göre; subkutan ve visseral yağ dokusu olarak sınıflandırılmaktadır. İnsan vücudundaki yağ dokusunun yaklaşık %80'i yüzeysel ve derin subkutan yağ dokusudur. Subkutan yağ dokusu boyun, sırt, bel, karın, gluteal, femoral ve meme bölgesinde bulunur. Yağ dokusunun yaklaşık %20'si ise visseral yağ olarak mide, barsak, göbek, pankreas, aort, kalp, böbrek ve iç üreme organları çevresinde bulunmaktadır. Ayrıca kas içinde ve kas çevresinde az miktarda bulunan yağ dokusu da visseral yağ dokusuna dahil edilmektedir (11).

Visseral ve subkutan yağ dokusu işlevsel farklılıklar göstermektedir. Visseral adipoz doku hem sistemik hemde lokal inflamatuvar olayları etkiler. Örneğin, visseral adipoz dokuda, anjiotensinojen için genler, kompleman faktörler ve yağ asidi bağlayıcı protein 4, subkutan yağ dokusuna göre daha fazla eksprese edilir. Visseral ve subkutan adipoz doku, otonom sinir sistemi tarafından her bir yağ deposu için farklı motor nöronlar ile birlikte nöroendokrin geri bildirim kontrolü altında innerve edilir (12, 13). Visseral yağ dokusu subkutan yağ dokusuna göre daha fazla kan teminini sağlayan zengin damar ağı ve yoğun sinir innervasyonu ile karakterize edilmiştir (4).

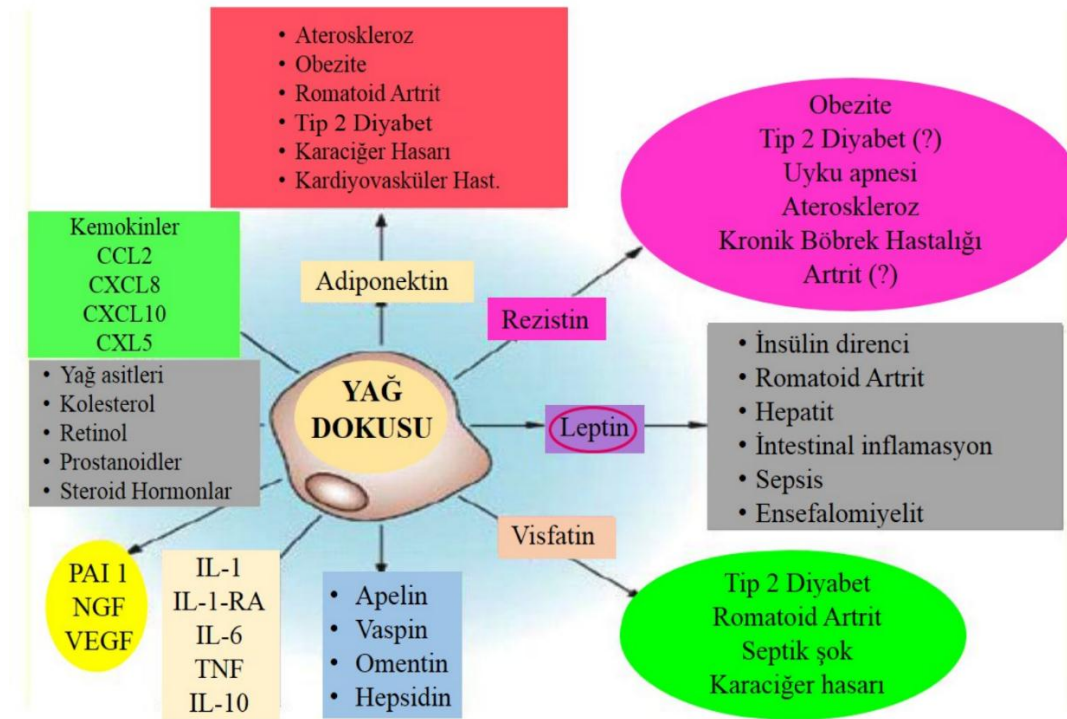
Adipoz dokusunda bulunan hücreler (adipositler), adipoz dokusunun tipine göre, hücre hacminin büyük bir kısmını oluşturan tek bir yağ damlası içerirken, bazıları da çok sayıda küçük yağ damlacıkları içermektedir. WAT tek ve büyük bir yağ damlası içeren, tek damlacıklı hücre tipinden oluşmaktadır. BAT'nin ise tipik olarak çok damlacıklı hücrelerden oluştuğu gözlenmektedir. Beyaz ve kahverengi yağ dokusunun renklerindeki farklılık, içerdikleri damar ve mitokondri miktarından kaynaklanmaktadır. BAT'de zengin bir damar ağı ve bol miktarda mitokondri bu dokunun diğer yağ dokularından farklı olmasına sebep olmaktadır. WAT'nin damarlanması, BAT'ye göre daha azdır ancak WAT'nin her bir hücresi en azından bir kapillerle bağlantı kurmaktadır (10).

İnsanlarda WAT, birçok organ çevresinde ve deri altında geniş olarak yerleşirken, kalp, epikardium, perikardium, geniş kan damarları, büyük lenf nodülleri ve beyinde parasellüler bölgede küçük depo alanları şeklinde bulunmaktadır. BAT ise böbreklerin, adrenal bezlerin, aortun çevresinde, kürek kemiklerinin arasında ve boyunun içinde bulunmaktadır (10). Yağ dokusunun enerji ve yağda eriyen vitaminleri depolama yanında, fiziksel koruma ve ısı üretimi gibi işlevleri vardır (14).

Beyaz yağ dokusunun fonksiyonları üç başlık altında sınıflandırılmaktadır. Birincisi serbest yağ asitlerini trigliserit olarak depolama, İkincisi depolamış olduğu trigliseritleri gliserol ve serbest yağ asitlerine katabolize etme, Üçüncüsü ise adipokin olarak bilinen özel biyolojik fonksiyonları olan proteinleri, sitokinleri ve hormonları salgılamaktır (15). Adipoz doku diyetle alınan fazla enerjinin trigliserit şeklinde depolaması dışında enerji metabolizmasının kontrolünde de ana faktör olduğu bilinmektedir. Adipoz doku leptin, adiponektin, rezistin, serpin, lipokalin-2, PAI-1,

retinol bağlayıcı protein (RBP4), Zn α -2 glycoprotein, vaspin, visfatin, omentin, apelin, chemerin gibi adipokinleri salgıladığı gibi, anjiotensinojen, TNF- α , IL-6, ve MCP-1 gibi sitokinleride salgılamaktadır (4, 5, 16-18). Bu moleküller insülin direnci, hipertansiyon, kanser gibi hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar. Yapılan çalışmalarda, vücuda dağılımları farklı yağ dokularının adipokin salgılama profillerinin de farklı olduğu gösterilmiştir (4, 16-19).

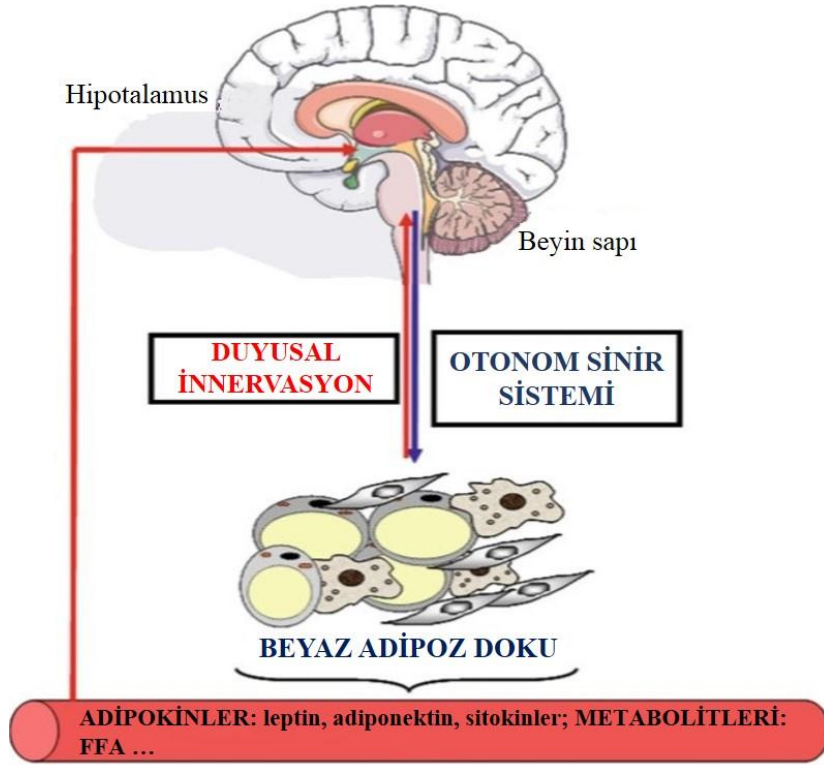
Adipositler ve adipoz doku, glukoz metabolizmasında (leptin, adiponektin, resistin), lipid metabolizmasında (kolesterol ester transfer protein), inflamasyonda (TNF- α , IL-6), koagülasyonda (PAI-1), kan basıncı düzenlenmesinde (leptin, anjiotensinojen, anjiotensin II), beslenmede (leptin) rollere sahiptir. Böylece kas, karaciğer, damar ve beyin gibi pek çok organ ve dokunun fonksiyonunda ve metabolizmasında etkilidir (20-22). Adipoz dokunun bazı metabolik etkileri Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Adipoz dokunun bazı metabolik etkileri (Yüksel'den, 22)

4.2. Yağ Dokusu, Sinir Sistemi ve Denervasyon

Nöral kökenli faktörler, enerji homeostazisi kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Gerçekten de, merkezi ve otonomik sinir sistemleri tüm vücut enerjisini farklı bileşenler ile düzenlemektedir, bu bileşenler: enerji alımı, harcanması ve depolanmasıdır. Çeşitli dokular veya organın metabolik ya da salgılama faaliyetleri gerçekten de otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Bu bilgilerin karaciğer, pankreas ve adrenal bezler için geçerliliğinin yanı sıra, kaslar için de doğru olduğunu gösteren veriler vardır. Adipoz dokuların metabolik ve salgılama kapasitesi de belirgin bir şekilde otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Beyaz yağ dokusu ve beyin arasındaki sinirsel ilişki Şekil 2’de gösterilmiştir (23).



Şekil 2. Beyaz yağ dokusu ve beyin arasındaki sinirsel ilişki (Bastard’dan, 23)

Birçok gözlem açıkça göstermiştir ki beyaz yağ dokusu otonom sinir sisteminin sempatik kısmı tarafından innerve edilmektedir. Başlangıçta beyaz yağ dokusundaki kan damarları ile yakın ilişkili Katekolaminerjik sinir liflerinin yağ dokusunu innerve ettiği bildirilmiştir ancak 1980-1990’lı yıllarda beyaz yağ dokusunun doğrudan innerve edildiğini gösteren nöroanatomikal kanıtlar ortaya çıkmıştır (24-29). Aralıklı olmasına

rağmen, sempatik sonlanmalar *en passant* tipte norepinefrin salgılanmasına müsaade eder. Daha sonra yapılan çalışmalarda, beyaz yağ dokusunun merkezi sinir sisteminin bir parçası olan sempatik sinir sistemi hücre gruplarından giriş aldığı gösterilmiştir. Son dönemlerde beyaz yağ dokusunu innerve eden sempatik tellerin karaciğer gibi metabolik organları da etkilediği ve periferik metabolizmanın kontrolünü düzenleyebileceği ifade edilmiştir (23).

Sempatik sinir sisteminin klasik ve esas nörotransmitteri norepinefrindir, ancak bu sinirler norepinefrin kadar noropeptid Y'nin de aralarında bulunduğu nörotransmitterleri içerir ve salgılar (30, 31). Noropeptid Y adipositlerde bulunan farklı reseptör alt tiplerini aktifleştirerek lipolizi kontrol eder (30-35). Yağ hücreleri farklı noradrenerjik reseptör alt tiplerini eksprese eder (36). Beyaz yağ dokusunda adipositlerin lipolitik aktivitesinin lipoliz uyarıcı β -adrenerjik reseptör ve lipoliz inhibe edici α -2 adrenerjik reseptör arasındaki dengeye bağlı olduğu gösterilmiştir (37, 38). Bu dengeye bağlı olarak sempatik tondaki lipolizde bir artışa veya azalışa sebep olabilir (23).

Organların ve dokuların birçoğu hem sempatik sinir sistemi hemde parasempatik sinir sistemi tarafından uyarılır. Beyaz yağ dokusunun çok uzun zamandan beri parasempatik sinirlerce uyarılmadığı düşünülmektedir. Ratlarda yapılan son nöroanatomik çalışmalar beyaz yağ dokusunun parasempatik sinirlerce uyarıldığını göstermiştir. Ancak çelişkili sonuçlar da vardır (13). Beyaz yağ dokusunun parasempatik sistemi tarafından uyarılması oldukça tartışmalı ve şüpheli bir konu olarak kalmıştır (39-41).

Yağ dokusu genel bir terim olarak kullanılmasına rağmen, yağ pedleri orjinleri anatomik karakteristikleri ve fonksiyonları yönünden çok farklıdır. Gerçekten de hem anatomik innervasyon (fiberlerin yoğunluğu veya sublokalizasyonları) hemde sayı ve reseptörlerin nörotransmitter afinitesi yağ depoları arasında oldukça farklıdır (23).

Beyinden yağ dokusuna gelip dokunun metabolik ve sekretuar fonksiyonlarını düzenleyen sinyaller kadar, yağ dokusundan beyine ulaşan beslenme davranışı ve enerji dengesinin düzenlenmesini sağlayan sinyaller de vardır. İlk olarak 1950'li yıllarda Kennedy vücut yağ depoları ile orantılı üretilen sinyallerin beyini etkileyerek yiyecek alınımını ve/veya enerji harcanmasını kontrol ettiğini ileri sürmüştür (42). Bu sinyaller arasında ilk aday insülin olmuştur. İnsülin salgılanması vücut yağ kitlesi ile orantılı

olarak artar ve merkezi sinir sistemini etkileyerek yiyecek alımını azaltır. Ancak bu hormon yağ dokusundan değil pankrasta salgılanır (43). 1994 yılında Friedman ve arkadaşları yağ dokusundan salgılanan 167 amino asitlik leptini keşfetmiş (44) ve reseptörlerinin varlığını merkezi sinir sisteminde göstermiştir (45). Leptin doğrudan vücut yağ depolarıyla orantılı salgılanır ve sonuç olarak vücut ağırlığı ile plazma konsantrasyonu artar, açlık ve zayıflık da plazma konsantrasyonu azalmaya sebep olur (22, 46).

Benzer şekilde beyaz yağ dokusunda en bol sentezlenen protein olan adiponektin de beyin omurilik sıvısında bulunur (47, 48) ve reseptörü de yiyecek alımını ve enerji harcanmasını düzenleyen hipotalamus nöronları da bulunur (47-49). Adiponektinin İVC (intraventriküler) enjeksiyonu enerji tüketimini artırır yiyecek alımını baskılar (47, 50, 51). Nesfatin ve visfatin gibi adipokinlerin de beyin vasıtasıyla yiyecek alımını ve enerji tüketimi üzerine etkisi vardır. Ayrıca yağ dokusundan beyine ulaşan uyarı sinirlerinde varlığı gösterilmiştir (23, 52, 54).

Yağ dokusundaki sinirlerin denervasyonu ile ilgili çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bunlar cerrahi denervasyon, *psödörabies virüs* aracılıklı denervasyon, 6-hydroxydopamine ve capsaicin kimyasalı ile denervasyondur. Denervasyon sonucunda capsaicin ile denervasyonun cerrahi denervasyona nazaran kalsitonin gen ilişkili peptitteki düşüşü daha az sağladığı ifade edilmektedir (55). Bu durum capsaicin ile denervasyonun cerrahi denervasyona göre daha etkisiz bir denervasyon yöntemi olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Kreier ve arkadaşlarının sıçanlarda *psödörabies virüs* yöntemi ile yapmış olduğu denervasyon çalışmasında sıçanlarda virüs enfeksiyonu ortaya çıktığı ifade edilmektedir (13). 6-hydroxydopamine ile tek dozda yapılan denervasyonda ise Harris ve arkadaşları dokulardaki norepinefrin dönüşümlerini incelemiş ve norepinefrin miktarındaki azalmayı denervasyonun başarısı için kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (55). Benzer şekilde diğer araştırmacılar da kimyasal ajanlarla oluşturulan denervasyon işlemlerinin başarısı için norepinefrin ölçümünün yeterli olabileceğini ifade etmişlerdir (56).

4.3. Obezite

Obezite aşırı pozitif enerji dengesinden kaynaklanıp, enerji alımının enerji tüketiminden fazla olduğu durumda ortaya çıkmaktadır. Obezite gelişmiş ülkelerde en sık görülen metabolik hastalıklardan biridir. Obezite birçok hastalıkla örneğin Tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser ile ilişkilidir. Bu hastalıkların yaygınlaşmasında bir risk faktördür. Obeziteye bağlı olan morbidite ve mortalite, küresel sağlık ve refah sistemleri üzerinde çok büyük bir etkiye sahiptir. Obezite arttıkça ulusal ekonomilere yükü de artmaktadır. Bu nedenle, dünya çapında epidemik obezitenin azalma stratejilerinin geliştirilmesi önemli araştırma hedeflerindendir. Diyet ve yaşam tarzında değişiklikler teorik olarak bu duruma yardımcı olabilirler, ancak bu uygulamalarla elde edilen kilo kayıpları yüksek oranda metabolizma fonksiyonları ile sınırlıdır. Böylece farmakolojik araştırmalar obezite tedavisinde gerekli bir mevzudur. Buna rağmen halen obezite tedavisi için sunulan ilaçların sayısı oldukça azdır ve fonksiyon mekanizmaları açısından yeterli bilgi mevcut değildir (57).

Bazı endokrin ve psikiyatrik hastalıkların obeziteye neden olduğu bilinmesine rağmen obezitenin en yaygın nedenleri diyetle fazla kalori alınması, fiziksel aktivitenin azalması ve genetik yatkınlık olarak bilinmektedir (6).

4.4. Leptin

1953’de Kennedy tarafından yağ dokusundan bir endokrin faktör salındığı ve bu faktörün enerji alımını düzenlediği fikri ortaya konulmuştur (42). İlk kez 1994’de Friedman ve arkadaşları Ob geni tarafından kodlanan pepdit yapısında, leptin adı verilen bu bileşiğin yağ hücrelerinden üretilip salgılandığını tespit etmişlerdir. Leptin kelimesi yunanca “LEPTOS” kelimesinden köken almakta olup zayıf anlamındadır (44).

Leptin başlıca beyaz yağ dokusundan salgılanmasına rağmen az miktarda da mide, plasenta, meme epitelyumu, iskelet kası, bağırsak, karaciğer ve beyinde de üretilmektedir ve merkezi sinir sisteminde hipotalamusu etkileyerek enerji alımı ve tüketimini düzenlemektedir (44).

İnsanlarda, leptin salınımı pulsatil bir sirkülasyon göstermektedir. Leptin konsantrasyonu günlük bir ritme sahiptir. Uyku paternlerinden etkilenen leptin, gece yarısı ve sabahın erken saatleri arasında en yüksek düzeyde iken, öğleden sonra en

düşük düzeydedir. Leptin mRNA'nın yağ hücrelerindeki yarılanma ömrü yaklaşık 2 saat gibi kısa bir süreye sahiptir (58). Leptin paterni, obez ve zayıf bireylerde benzerlik gösterse de, obez bireylerin daha fazla yağ oranına sahip olmasından dolayı daha yüksek leptin konsantrasyonuna sahiptir. Ayrıca, aynı yaş ve vücut ağırlık indeksine sahip bireyler incelendiğinde, kadınlarda leptin konsantrasyonunun erkeklerden daha fazla oranda olduğu bulunmuştur. Kadınlarda menstrual siklusun luteal fazında daha yüksek olabilir, fakat menapozda leptin sirkülasyonunda azalma görüldüğü belirtilmiştir. İleri düzeyde açlık durumunun, kilo kaybından önce leptin konsantrasyonunda hızlı bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir ve böylece, adaptif mekanizma tetiklenerek, enerji korunmuş olur (59).

4.4.1. Leptin Geni ve Peptid Yapısı

Leptin, 7. kromozom üzerinde bulunan Ob geninden eksprese olup, 16 kD molekül ağırlığına ve 167 amino asitten oluşan bir peptid yapısına sahiptir. Memelilerde Lep geni dizisi oldukça korunmuştur ve leptin ortologları amfibiler, sürüngenler ve balıklarda olmasına rağmen primer amino asit dizilişlerinde önemli farklılıklar görülmektedir. Leptin fonksiyonu hem memelilerde hem de memeli olmayanlarda yüksek ölçüde korunmaktadır çünkü leptin anahtar ikinci ve üçüncü yapıların korunması için disülfid köprülerinin oluşumunu sağlamaktadır. Leptin, kristal yapısına göre, lösemi önleyici faktörü, kirpiksi nörotrofik faktör (CNTF) ve insan büyüme hormonu dahil olmak üzere uzun-zincirli sarmal sitokinlerin ailesine aittir (60).

Farelerde 6.kromozomda bulunan Ob geni, insanlarda 7q31.3 gen bölgesinde olup, üç ekson ve iki intron içerir. Başlangıçta 167 aminoasitten oluşan leptinin 21 aminoasitlik sinyal kısmı ayrıldıktan sonra 146 aminoasitlik bölümü fonksiyonel protein olarak salınır. Yapısal olarak hematopoetik sitokinlere benzeyen leptin, 4 α sarmal yapar ve sistein (Cys) 96 ile Cys 146 aminoasitleri arasında disülfid bağı ile bu yapı sağlamlaştırılır. Leptin mRNA'nın yağ hücrelerindeki yarılanma ömrü yaklaşık 2 saat gibi kısa bir süredir (61).

4.4.2. Leptinin Sentezi

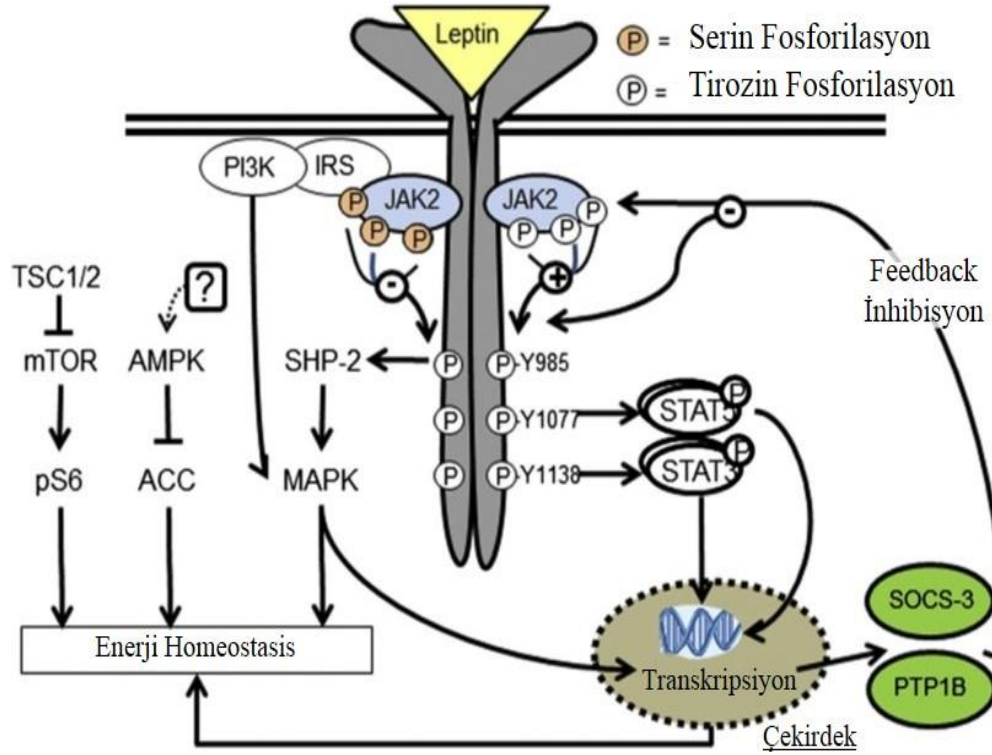
Leptin başlıca beyaz yağ dokusunda sentezlenip dolaşıma salgılanmaktadır. Dolaşımdaki leptinin seviyesi yağ dokusu kütlesi ile doğru orantılıdır ve beyne enerji depolarının durumunu hakkında bilgi verir. Leptin ekspresyonu ve dolaşımdaki

seviyeleri sirkadiyen bir ritim gösterir ve bu ritim beslenme durumuna göre değişmektedir. Açlık durumunda dolaşımda leptin seviyesi düşükken, tokluk (beslenme zamanı) ve obezite durumlarında seviyesi yükselmektedir (60).

Leptin ekspresyonu ve salgılanması inflamatuvar sitokinler, glikokortikoidler ve insülin gibi birçok faktör ile düzenlenmektedir (62).

4.4.3. Leptinin Aktifleşmesi ve Etki Mekanizması

Kan beyin bariyeri ve kan BOS (beyin omurilik sıvısı) bariyerini kolaylaştırmış difüzyon ile aşan leptin, reseptörüne (LepR) bağlandığında dimerizasyon sağlar ve reseptöre bağlı janus kinazlar (JAK), reseptörün sitoplazmik kısmında olan tirozini (Y) fosforile eder. Janus kinazlar sinyal taşıyan ve transkripsiyonu aktive eden proteinleri (Signal Transducers and Activators of Transcription Protein -STAT), fosforilleyerek aktifleştirir. Aktifleşen bu proteinler reseptörden ayrılıp birbirleri ile dimer yaparak transkripsiyonel regülatörleri aktive edecek hale gelirler ve çekirdeğe taşınarak DNA'ya bağlanır. Sonuç olarak leptin hedef genlerinin transkripsiyonu sağlanır (58, 63, 64). Leptinin aktifleşme mekanizması Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Leptinin aktifleşme mekanizması (Münzberg'den, 60)

Leptinin merkezi sinir sistemindeki etkisi ile adipoz doku büyümesini kontrol ettiği sonucuna varılmıştır. Leptin hipotalamusa etkileyerek iştahı baskılar ve enerji sarfiyatını artırır. Yapılan çeşitli çalışmalarla leptin reseptörlerinin karaciğerde, iskelet kasında, kalpte, böbrek ve pankreas gibi önemli organlarda da bulunduğu tespit edilmiştir. Adipositler leptin reseptörlerini de eksprese ettiği için bu hormonun otokrin ve parakrin etkilerinin de olduğu söylenmektedir. Aynı zamanda leptin hematopoiezis, anjiogenezisi, uyardığı immün cevabı düzenlediği, sempatik sinir sistemini etkilediği ve kemik iliğini baskıladığı bilinmektedir. Bunlara ilaveten hiperleptinemi kan basıncını hem hayvanlarda hemde insanlarda etkilemektedir (7, 23).

Beypinde leptinin enerji homeostazisini düzenlediği keşfedildikten sonra, LepRb'i eksprese eden nöronların dağılımı, hipotalamusu leptinin fonksiyonu için ana hedef olarak ortaya koymuştur. Bu gözlem, hipotalamik lezyon oluşumuna bağlı sabitlenen ağır obezite tablosu ile uyumludur (58).

Leptin, anoreksijenik faktörler olarak bilinen, kokain ve amfetaminle regüle edilen transkript (CART) ve proopimelanokortin (POMC) hormonunun ekspresyonunu

indükler ve oreksijenik nöropeptitler olan, nöropeptit Y(NPY), Agouti gen ilgili peptid (AGRP) ve orexin hormonunun inhibisyonunda rol almaktadır (65).

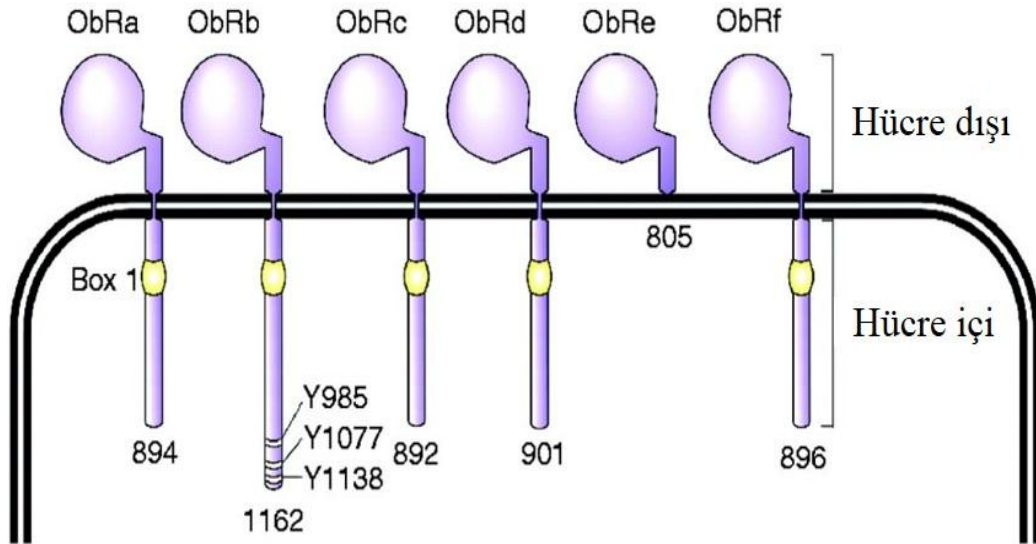
Obezite etiyolojisinde periferik iki farklı dokudan salgılanan insülin ve leptin beyin sinyal getirici yolu oluştururken, NPY ve AGRP beyinden sinyal götürücü yolu oluşturmaktadır. Açlık, leptin düzeyini düşürürken, aşırı beslenme leptin düzeyini arttırmaktadır. Böylece açlık durumunda leptin düşüklüğü, arkut nükleusta NPY ve AGRP nöron grubunun aktifleşmesini sağlar. NPY ve AGRP salgılanması ile kuvvetli bir açlık hissi oluşur ve bu his kişinin beslenmesini sağlar. Ayrıca, artan AGRP paraventricüler nükleusta α -MSH'nin melanokortin reseptörlerine bağlanmasını engeller ve dolayısıyla iştah düşürücü yolağın çalışması engellenir. Sonuçta kilo alımı olur, yağ deposu artar. Aşırı kalorili bir öğün sonrasında ise leptin artarak arkut nükleusta POMC sentezini uyarır. POMC posttranslasyonel olarak parçalanarak adrenokortikotropin (ACTH) ve α -MSH gibi peptid yapıları oluşturur. α -MSH santral melanokortin reseptörlerinden MC3/4-R üzerinde agonistik etki ile iştahı azaltıp enerji harcanmasını artırır. AGRP nöron grubu aktif olmadığı için melanokortin mekanizmasını baskılayamaz ve dolayısıyla iştahın azalması gerçekleşir (61).

Hipotalamustaki iştahı ve vücut ısısını düzenleyen diğer bir nöromodilatör olan melanosit uyarıcı hormone (MSH) iştahı azaltarak etki gösterir. Leptin santral MSH seviyesini artırarak bir başka yoldan da iştahın azalması yönünde etki gösterir. Leptin ve insülin arkuat nükleus'tan salgılanan çok kuvvetli bir iştah uyarıcısı olan NPY'yi baskılayarak gıda alımına engel olur. Aynı zamanda paraventricüler nükleus'tan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salınımını uyarak yine gıda alımına engel olur (66).

4.4.4. Leptinin Reseptörleri

LepR ilk kez 1995 yılında Tartaglia ve ark. tarafından bir ekspresyon-kolonlama stratejisi ile fare koroid pleksusundan izole edilmiştir (59). Farklı leptin reseptör izoformlarının oluşmasında da db gen ekspresyonu sırasında alternatif birleştirme (alternative splicing), bu işleve neden olabileceği tahmin edilmiştir. LepR ekspresyonunun çoklu birleşme (splice) varyantları ile, en az altı farklı leptin reseptörü izoformu kodlanması bulunmuştur. Leptin reseptörleri interleukin 6 (IL-6), leukemia inhibe edici faktör, granülosit-koloni uyarı faktörü ve glikoprotein 130'u içeren sitokin-

1 ailesinde yer almaktadır. Leptin reseptör izoformları amino uclarında ortak bir hücre dışı ligand-bağlama domaine sahiptirler halbuki karboksil uclarında bu özellik değişmektedir. Beş izoform (LepRa, LepRb, LepRc, LepRd ve LepRf) transmembran domaine sahipken, LepRe izofomu sadece hücre dışı domaini içermektedir (67). Leptin reseptörleri ve hücre domainleri Şekil 4’de gösterilmiştir.



Şekil 4. Leptin reseptör formları ve hücre domainleri (Marroqui'den, 68)

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan Hayvanlar

Çalışmamızda KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen Sprague-Dawley ırkı 32 adet erkek 3-5 haftalık 100-150 g sıçanlar kullanıldı. Yapılan deneylerin tümü Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 2013/29 protokol numaralı etik kurulu onayı ile yapıldı.

5.1.2. Kullanılan Cihazlar, Aletler ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, laboratuvar aletleri ve malzemeleri üretici firmaları ile birlikte Tablo 1’de listelenmiştir.

Tablo 1. Kullanılan cihazlar, aletler ve malzemeler

Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	Üretici Firma
Etüv	Gallenkamp
Vorteks	Nüve, NM 110
ELISA pleyti	Bioscience
Real Time PCR Cihazı	Roche Light Cyclor 480 II
Santrifüj	Eppendorf
Magnetik karıştırıcı	Ikamag RH
Otomatik pipet,10-100 µL	Eppendorf Research
Otomatik pipet,100-1000 µL	Eppendorf Research
Otomatik pipet,1-5 mL	Eppendorf Research
Mikro dalga fırın	Altus ALMD 171
pH metre	Hanna Instruments
El Homojenizatörü	OMNI-Tissue Master 125
Saf su cihazı	Aquatron 4 AD
Hassas analitik terazi	Metler Toledo AB 204-S
Deney tüpleri	SH & GLASS
Mikropleyt okuyucu	VERSA max
Soğutmalı santrifüj	Allegra 64R Centrifuge
Steril DNAaz, RNAaz free pipet uçları	Greiner
Thermocycler	PE Biosystem

Çalkalayıcı	Nüve SL 35
Nanodrop	Thermo
ELISA yıkayıcısı	Biotek
Derin dondurucu	Thermo -86 °C

5.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve üretici firmaları hakkında bilgi Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Kullanılan kimyasal maddeler ve üretici firmalar

Kullanılan Kimyasal Maddeler	Üretici firma
Etidyum bromür	Sigma
Dietil pirokarbonat (DEPC)	Sigma
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	Merck
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	Lancaster
Sülfürik asit (H ₂ SO ₄)	Carlo Erba
Ksantin	Sigma
Etilem diamin tetra asetik asit (EDTA)	Carlo Erbo Reagent
Nitro blue tetrazolium (NBT)	Sigma
Sığır Serum Albumin (BSA)	Sigma
Amonyum sülfat (NH ₄) ₂ SO ₄	Merck
Bakır klorür (CuCl ₂)	Lancaster
Ksantin oksidaz	Sigma
Sıçan yemi	Research diet
Etanol	Sigma
Triton X-100	Merck
Potasyum klorür (KCl)	Merck
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	Merck
Asetik asit (CH ₃ COOH)	Merck
Tris-HCl	AppliChem
Coomassie Brilliant Blue G-250	Serva
Hidroklorik asit (HCl)	Merck
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	Merck
Sodyum klorür (NaCl)	Merck
Tiyobarbitürik asit (TBA)	Sigma
İzoprıl alkol	Sigma
Kloroform	Merck
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat (Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O)	Merck

5.1.4. Kullanılan Ticari Kitler

Çalışmada kullanılan kitler ve üretici firmaları hakkında bilgi Tablo 3’de sunulmuştur.

Tablo 3. Kullanılan kitler ve üretici firmalar

Kullanılan kitler	Üretici firma
Mouse and rat leptin ELISA kiti	Biovendor- Cat.no RD291001200R
Rat NE ELISA kiti	Sun Red- Cat.no 201-11-0515
Rat insulin ELISA kiti	SPI bio- Cat.no A05105
TRI pure RNA izolasyon kiti	Roche- Cat.no 11667165001
cDNA sentez kiti	Roche- Cat.no 04896866001
DNA Master SYBR Green I	Roche- Cat.no 12239264001

5.2. Yöntem

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Çalışma başlamadan önce, deney hayvanları aynı yerde deneyler için vücut ağırlıklarına göre dengeli bir şekilde ayarlanarak 4 farklı grup oluşturuldu ve 24 saatlik adaptasyon süresince standart yem ile beslendi. Çalışmada kullanılan tüm yemler (D12450J ve D12492) Research Diyetten satın alındı.

5.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sıçanlar standart sıçan yemi (D12450J) ile 24 saat süreyle beslendi. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Adaptasyon süresi bittikten sonra sıçanlar rastgele her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve tartım işlemleri gerçekleştirildi.

I. Grup: Retroperitoneal yağ dokusu iki taraflı denerve edildi ve yüksek yağ içerikli sıçan yemi ile beslendi (YD+).

II. Grup: Sadece batınları açılıp dikildi ve yüksek yağ içerikli sıçan yemi ile beslendi (YD-).

III. Grup: Retroperitoneal yağ dokusu iki taraflı denerve edildi ve standart sıçan yemi ile beslendi (SD+).

IV. Grup: Sadece batinları açılıp dikildi ve standart sıçan yemi ile beslenmeye devam edildi (SD -) (kontrol grubu). Tüm gruplara su ve yem *ad libitum* olarak verildi.

Bütün hayvanlara batin kapatılmadan önce tek doz penisilin seyreltilerek batin içi uygulandı. Toplam 70 günlük beslenme periyodunun sonunda, sıçanların tartımı gerçekleştirildi ve 12 saatlik yemsiz bir periyod geçirdikten sonra sabah saatlerinde dekapitasyon ile kanları alınarak kurban edildi. Kanların santrifüjlenmesiyle elde edilen serumlar ependorflara konularak -20 °C saklandı. Sıçanlar kan alındıktan sonra batından açılıp her iki tarafta olan retroperitoneal yağ dokusunun tümü ve epididimalın bir kısmı çıkarılıp hemen DNAaz, RNAaz içermeyen steril ependorflara konarak ölçüm yapılana kadar -80 °C saklandı.

Beslenme periyodunda kullanılan D12492 ve D12450J yemlerin içeriği Tablo 4’de ve Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 4. Yüksek yağ içerikli sıçan yeminin içeriği

D12492 kodlu Yüksek yağlı sıçan yemi içeriği	% g	% K. kalori
Protein	26.2	20
Karbohidrat	26.3	20
Yağ	34.9	60
Toplam kilo kalori/g	5.24	100

Tablo 5. Standart sıçan yeminin içeriği

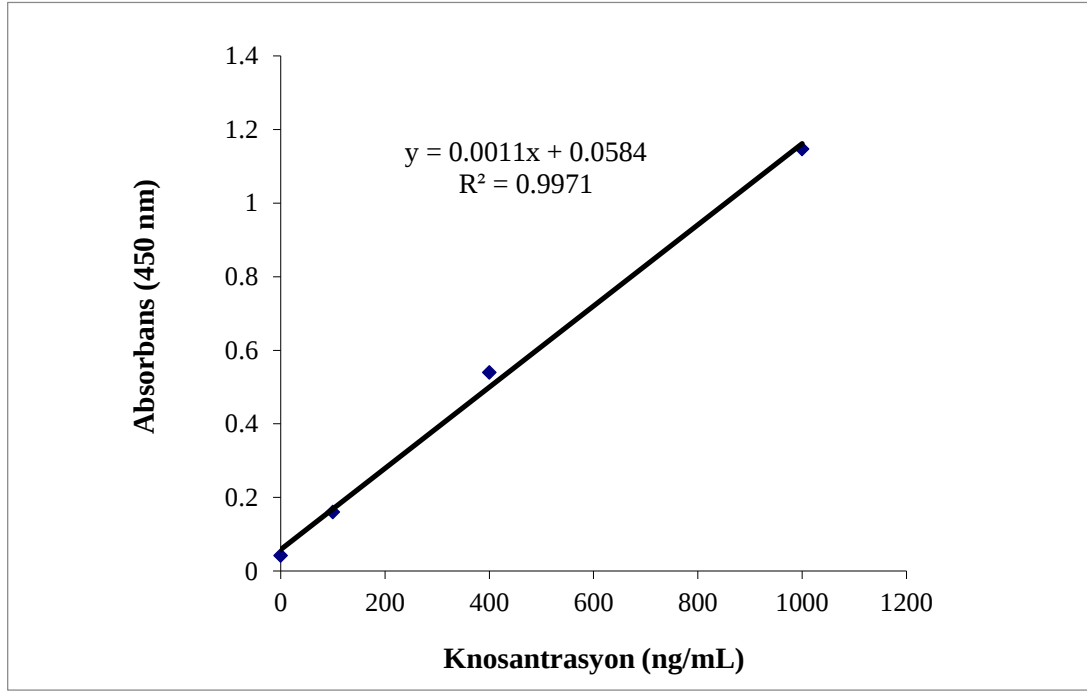
D12450J kodlu standart sıçan yemi içeriği	% g	% K. kalori
Protein	19.2	20
Karbohidrat	67.3	70
Yağ	4.3	10
Toplam kilo kalori/g	3.85	100

5.3. Serumda Glukoz ve Trigliserit Ölçümü

Serum numunelerin açlık glukoz ve TG seviyeleri Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Farabi Hastanesi rutin tıbbi biyokimya laboratuvarında Roche Hitachi Cobas 8000 oto analizöründe ölçülmüştür.

5.4. Serum Leptin Ölçümü

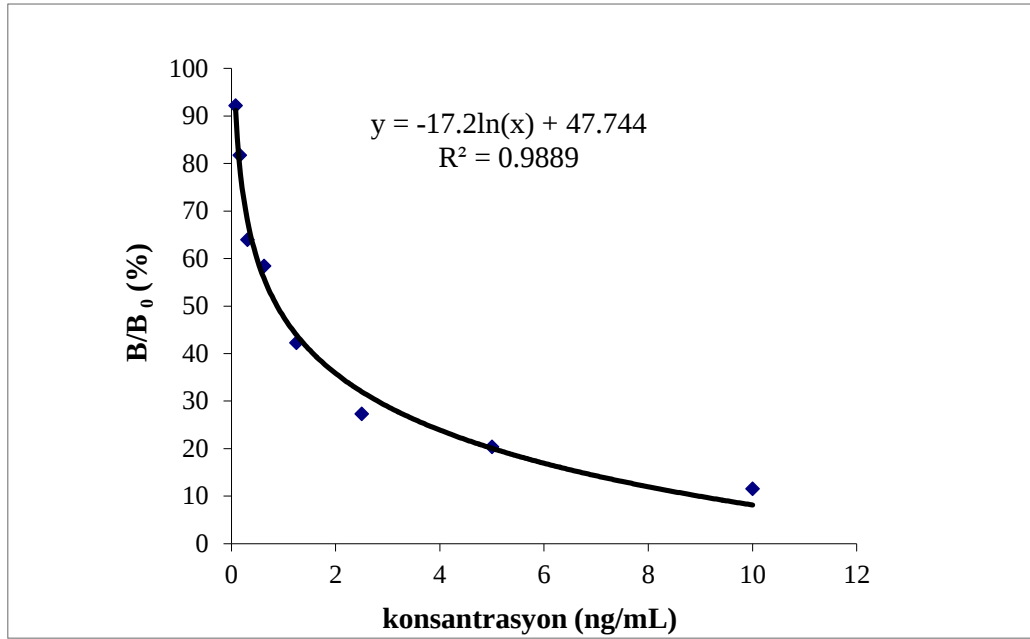
Serum leptin ölçümünde Mouse ve Rat leptin Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ticari kiti (katalog no RD291001200R, Biovendor) kullanılmıştır. Serumda leptin ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapılmıştır. Elde edilen standart grafiği Şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. Leptin standart grafiği.

5.5. Serum İnsülin Ölçümü

Serum insülin ölçümünde Rat insülin ELISA ticari kiti (katalog no A05105, SPI Bio) kullanılmıştır. Serumda insülin ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapılmıştır. Elde edilen standart grafiği Şekil 6’da gösterilmiştir.



Şekil 6. İnsülin standart grafiği (405 nm)

5.6. Dokuda Norepinefrin (NE) Ölçümü

5.6.1. Norepinefrin Ölçümünde Kullanılan PBS Çözeltilisinin Hazırlanması

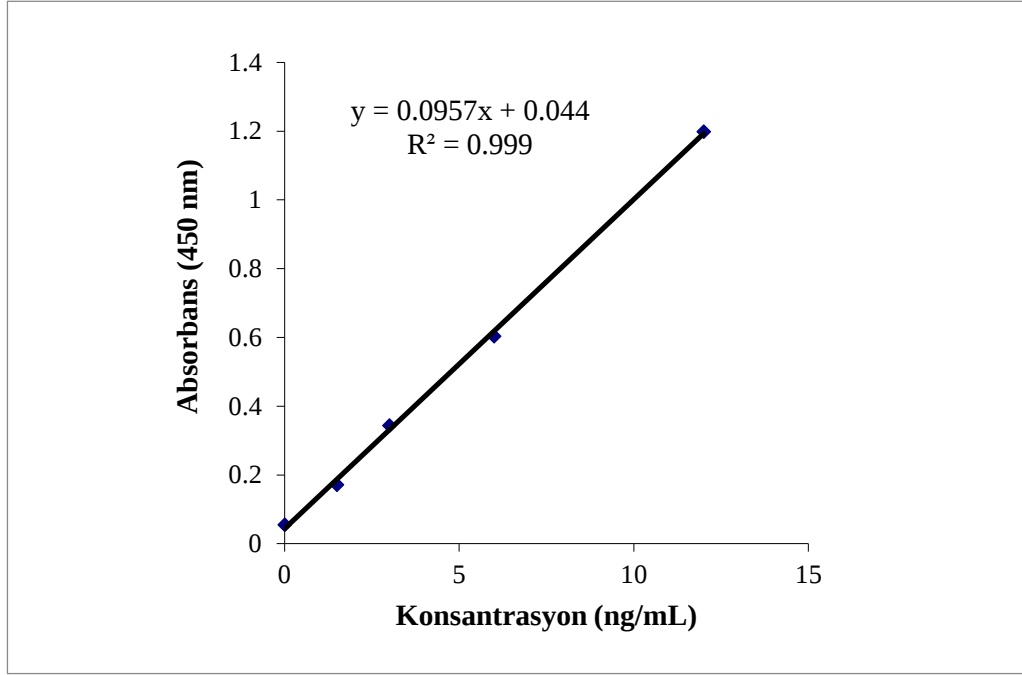
- **PBS (Fosfat Tamponu), 10 mM, pH 7.4:**

8.02 g NaCl, 0.18 g KCl, 0.863 g Na₂HPO₄, 0.471 g NaH₂PO₄ tartılarak 900 mL saf suda çözüldü. pH'sı 1 M NaOH ile 7.4'e ayarlanarak saf su ile son hacim 1 L'ye tamamlandı.

5.6.2. Homojenizasyon Aşaması

Yağ dokusunun yaklaşık 150 mg'lık kısmı 500 µL soğuk homojenizasyon çözeltisi (PBS) içine konularak bütün örnekler aynı zamanda sıvı azot'ta (-196 °C) yaklaşık 45 saniye donduruldu, ardından 2-8 °C'da çözündükten sonra tekrar 500 µL PBS eklenerek her numune el homojenizator ile 6000 rpm'de 30 saniye homojenize edildi. Daha sonra 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi süpernatantı ayırarak alt faz kullanıldı.

Denervasyon markırı olarak kullanılan norepinefrin, retroperitoneal yağ dokusu numunelerinde Rat norepinefrin ELISA ticari kiti (katalog no 201-11-0515, Sun Red) kullanılmıştır. Dokuda NE ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Elde edilen standart grafiği Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Norepinefrin standart grafiği

5.7. Yağ Dokusundan Total RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu TRİpure total RNA izolasyon kiti (Katalog no:11667165001, Roche) kullanılarak yapıldı. Kit prosedürü modifiye edilerek sırasıyla aşağıdaki işlemler yapıldı:

1. 140-160 mg arasında tartılan yağ dokularının RNAaz ve DNAaz'sız ependorflarına konulduktan sonra üzerine 0.8 mL denatürasyon çözeltisi (TRİpure) eklendi.
2. Örnekler el homojenizatorü ile 6000 rpm'de 15 saniye homojenize edildi.
3. Homojenize edilen numuneler 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
4. 12000 g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi.
5. Santrifüj edildikten sonra tüplerin üst kısmında oluşan beyaz tabaka atıldı ardından aynı tüpün dibine dokunmadan ortadaki faz yeni bir tüpe alındı.

6. Üzerine 100 µL kloroform ilave edildi ve elle karıştırıldı.
7. 3 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
8. 12000 g'de 15 dk +4 °C'de santrifüj edildi.
9. Oluşan iki fazın üst kısmı yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine eşit miktarda izopropil alkol ilave edildi (alt faz atıldı).
10. 10 dk 25 °C'de inkübe edildi.
11. 12000 g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi.
12. Süpernatant tamamen atıldı.
13. 0.5 mL %75'lik etanol ilave edildi.
14. 7500 g'de 5 dk +4 °C'de santrifüj edildi.
15. Süpernatant tamamen atıldı.
16. Ependorflar kapakları açık olarak oda sıcaklığında kurutuldu.
17. Tüplerin içinde kalmış olan RNA'ların üzerine 50 µL RNAaz'sız su (DEPC) eklendi ve 10 dk 55 °C'de thermomixer'de inkübe edildi.

Elde edilen RNA örnekleri DEPC'li suda seyreltilerek 260/280 nm'de konsantrasyonları ve absorbands oranları nanodrop kullanılarak belirlendi (Elde edilen RNA'nın saflığı 260/280 absorbands oranına bağlıdır ve iyi bir RNA izolasyonu için bu oranın 1.6-1.9 arasında olması gerekir). Daha sonra Reverse Transcription ile cDNA elde edildi.

5.8. Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile RNA'dan cDNA Elde Edilmesi ve Çoğaltılması

Ekstraksiyon sonunda elde edilen total RNA, komplementer DNA (cDNA) sentezi için kalıp olarak kullanıldı. Bu amaçla ticari cDNA sentez kiti (katalog no 04896866001, Roche) kullanıldı. Kit prosedürüne uygun olarak cDNA sentez işlemi yapıldı. Elde edilen cDNA örnekleri RT-PCR işleminde kullanıldı.

5.9. RT- PCR

RT-PCR’da oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarlarıyla orantılı olarak artan floresans boyanın verdiği sinyalin izlenmesiyle belirlenir. RT-PCR’da ilgili genlerin ekspresyonlarını belirlemek için SYBR Green boyası kullanıldı. RT-PCR işlemi Roche LightCycler 480 II marka cihazda (Roche, Germany) DNA master SYBR green I qRT-PCR kiti (katalog no 12239264001, Roche) prosedürü doğrultusunda yapıldı.

Sonuçların hesaplanmasında her bir örneğin hedef genine (Leptin) o örneğin referans genini (GAPDH) orantılayarak relatif kantifikasyon yapıldı. Kontrol grubuna göre artış ve azalışlar belirlendi. Sonuçlar Arbitrary unit olarak ifade edildi. Çalışmamızda kullandığımız primerler Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. RT-PCR’da kullanılan primer dizileri

Primer Adı		Primer dizisi
Leptin	İleri primer	5’-AAA ACC CTC ATC AAG ACC ATT G-3’
	Geri primer	5’-TCT CCA GGT CAT GAG CTA TCT G-3’
GAPDH	İler primer	5’-ACA TGG TGA AGG CCG GTGT-3’
	Geri primer	5’-CAT TCT CAG CCT TGA CTG TGC-3’

cDNA’ları oluşturulan her bir örnek için Tablo 7’deki gibi pipetlemeler yapıldı. RT-PCR protokolü Light Cycler 480 II cihazında Tablo 8’de verildiği gibi uygulandı.

Tablo 7. Örneklerin RT-PCR için hazırlanması

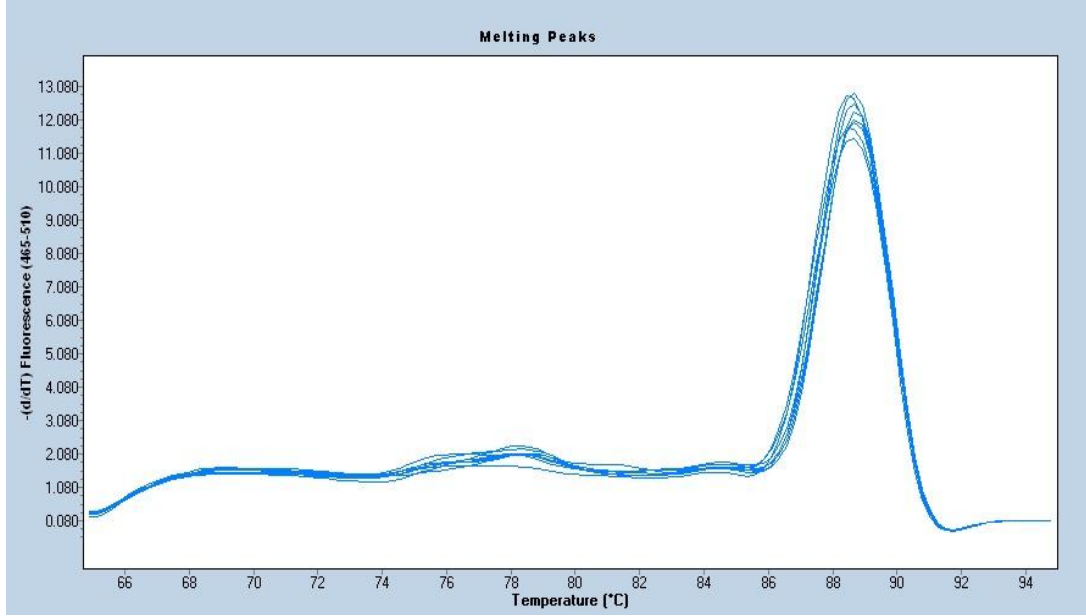
Enzimler için eklenecek reaktifler	Bir örnek için hacim (µL)	64 Örnek için hacim (µL)
RNaz'sız su	12.8	819.2
MgCl (25 mM)	1.2	76.8
10 µM ileri primer (500 nM son kon.)	1	64
10 µM geri primer (500 nM son kon.)	1	64
DNA master SYBR Green 10x (mix vial 1)	2	128
cDNA (her örnek için)	2	-

Tablo 8. RT-PCR Protokolü

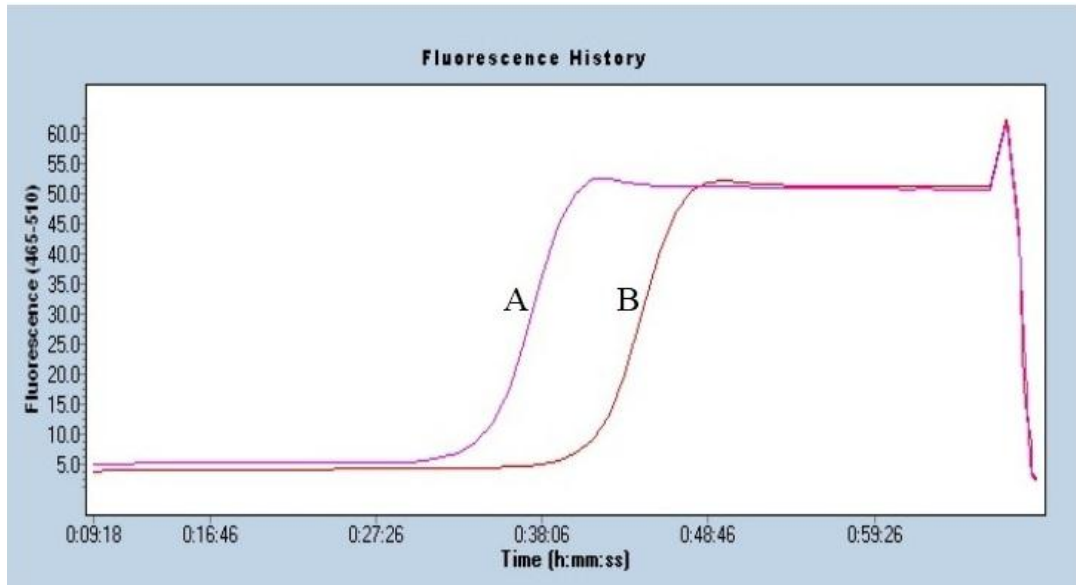
Program	Döngü	Analiz Modu	
Ön inkübasyon	1	-	
Amplifikasyon	45	Kantifikasyon	
Erime Eğrisi	1	Erime Eğrileri	
Soğutma	1	-	

Hedef Sıcaklık (°C)	Elde Etme Modu	Süre (s:dak:sn)	Sıcaklık Artış Hızı (°C/sn)
Ön inkübasyon			
95	-	00:08:00	4.4
Amplifikasyon			
95	-	00:00:10	4.4
58	-	00:00:07	2.2
72	Single	00:00:08	4.4
Erime Eğrisi			
95	-	00:00:05	2.0
65	-	00:01:00	2.0
97		Devamlı	
Soğuma			
40	-	00:00:10	2.0

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz RT-PCR sonuçlarına göre kullandığımız primerlerin çalışmamıza uygun olduğu ve yan ürün oluşturmadığı gözlemlendi. Buna ilişkin örnek leptin erime noktası grafiği Şekil 8’de gösterilmiştir. RT-PCR çalışmasında leptin ve GAPDH’a ait amplifikasyon grafiği Şekil 9’da gösterilmiştir.



Şekil 8. Leptin için erime noktası grafiği



Şekil 9. Amplifikasyon eğrileri A: GAPDH, B: leptin

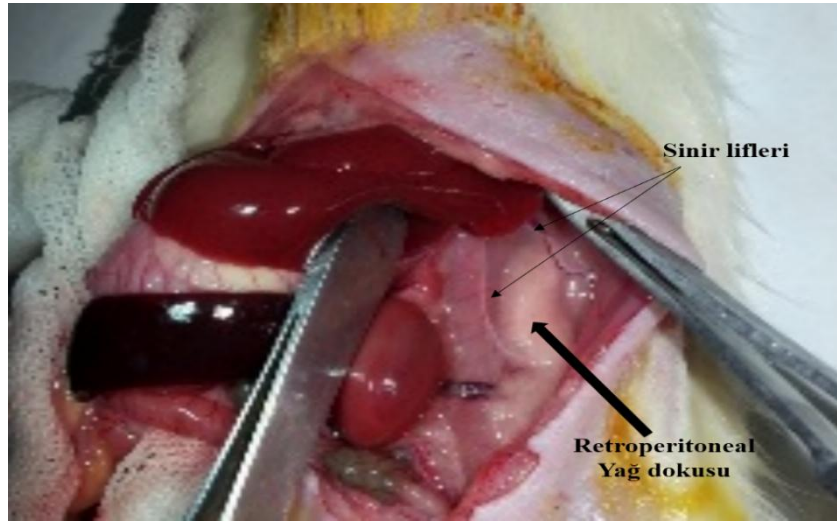
5.10. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Elde edilen sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verildi. Grup ortalamalarının karşılaştırılması için Kruskal Wallis testi, Post-Hoc olarak da Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

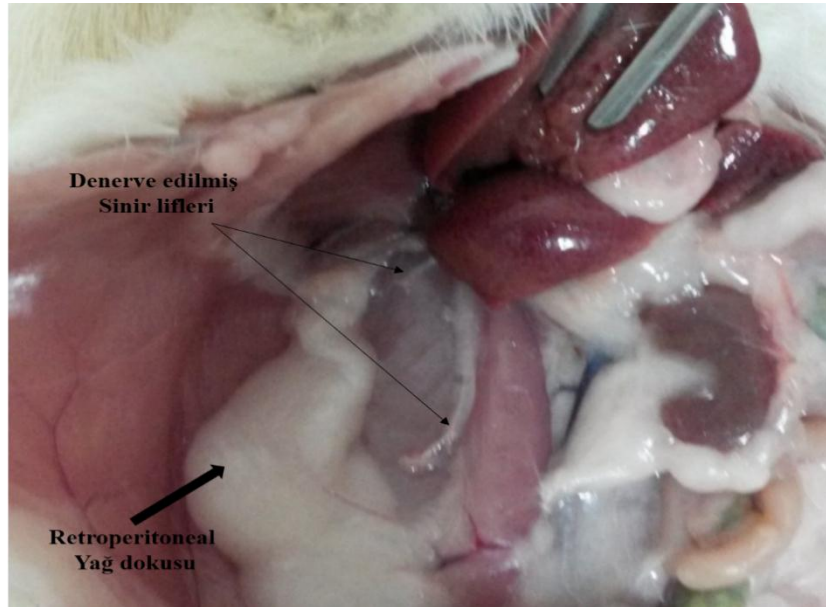
6. BULGULAR

6.1. Morfolojik Bulgular

İki grup denervasyon işlemi yapılmış ve iki grup sadece batın açılıp ve kapanmış şeklinde toplam 4 gruba ayrılarak gruplarına uygun sıçan yemleri ile 70 gün boyunca beslendi. Denervasyon işlemi yapılmadan önce görüntüleri Şekil 10'da ve deney sonundaki denerve edilmiş sinir lifleri Şekil 11'de gösterilmiştir.



Şekil 10. Denervasyon öncesi retroperitoneal yağ dokusu ve sinir lifleri



Şekil 11. Retroperitoneal yağ dokusu ve denerve edilmiş sinir lifleri

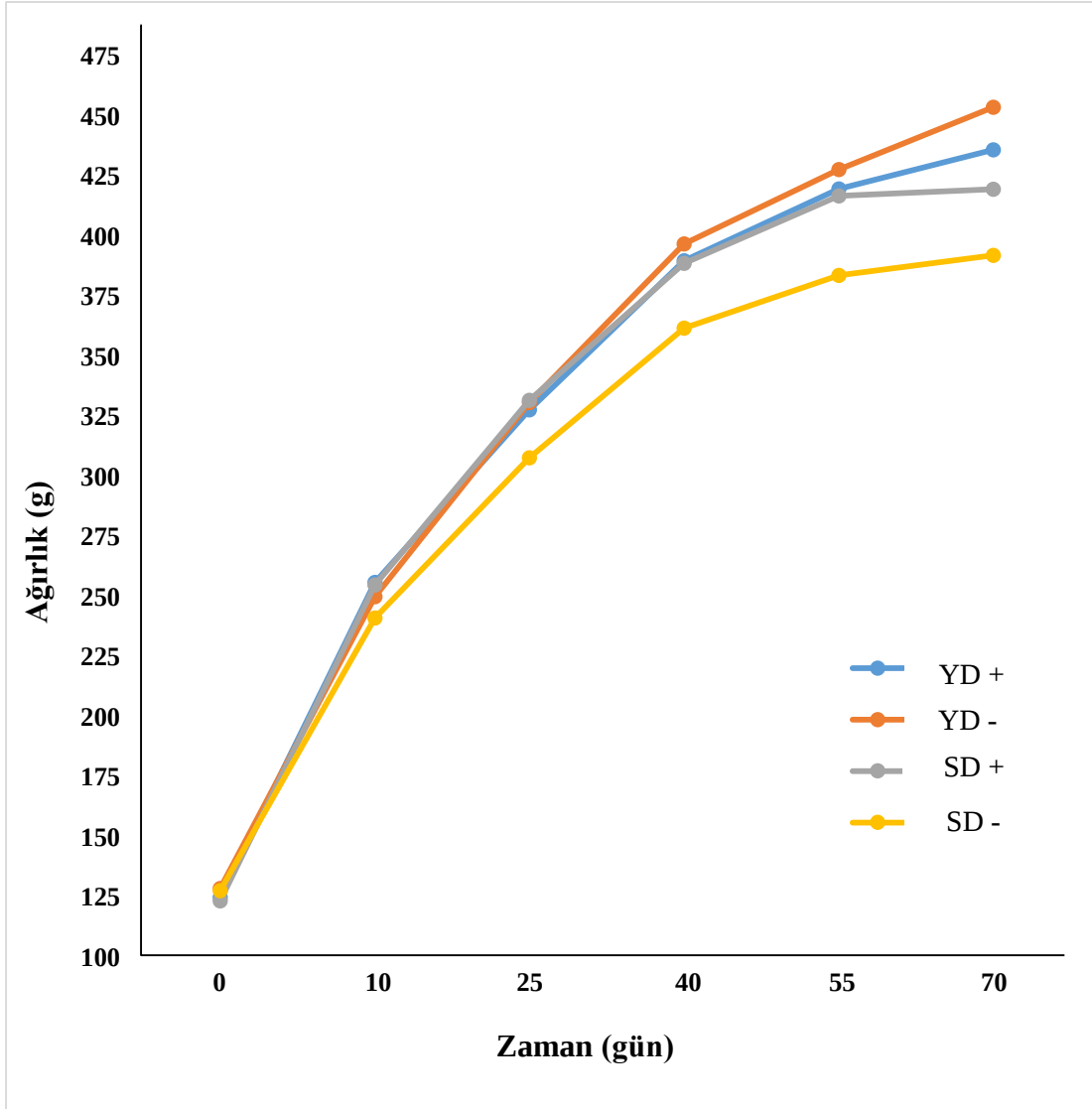
6.2. Deney Gruplarının Kilo Artışı ve Son Ağırlık Ölçümü Sonuçları

Çalışmamızda uyguladığımız beslenme periyodu sonucu grupların başlangıç ağırlık, son ağırlık ve toplam ağırlık artışı ortalamaları Tablo 9’da verilmiştir. Ayrıca zamana bağlı ağırlık artışı’da Şekil 12’de gösterilmiştir. Gruplar arasında son ağırlık sonuçlarında anlamlı fark ($p=0.007$), ağırlık artışı ise anlamlı fark bulunmadı ($p=0.08$).

Tablo 9. Deney gruplarının kilo artışı ve son ağırlık sonuçları

Gruplar	Kullanılan Yem	Başlangıç Ağırlık Ort (g)	Son Ağırlık Ort (g)	Toplam Ağırlık artışı Ort (g)
YD +	Yüksek yağlı yem	125.0 ± 13.80	436.25 ± 49.51	280.62 ± 27.86
YD -	Yüksek yağlı yem	128.6 ± 14.74	454.00 ± 32.54 ^a	291.31 ± 20.73
SD +	Standart yem	123.5 ± 16.00	419.75 ± 29.99	269.75 ± 20.81
SD -	Standart yem	127.7 ± 10.68	392.25 ± 37.71	260.00 ± 20.08

^a:YD- grubu SD- grubuna göre $p=0.007$ düzeyinde farklıdır.



Şekil 12. Deney gruplarının zamana bağlı kilo artışları

6.3. Serum Glukoz, TG ve İnsülin Ölçümü Sonuçları

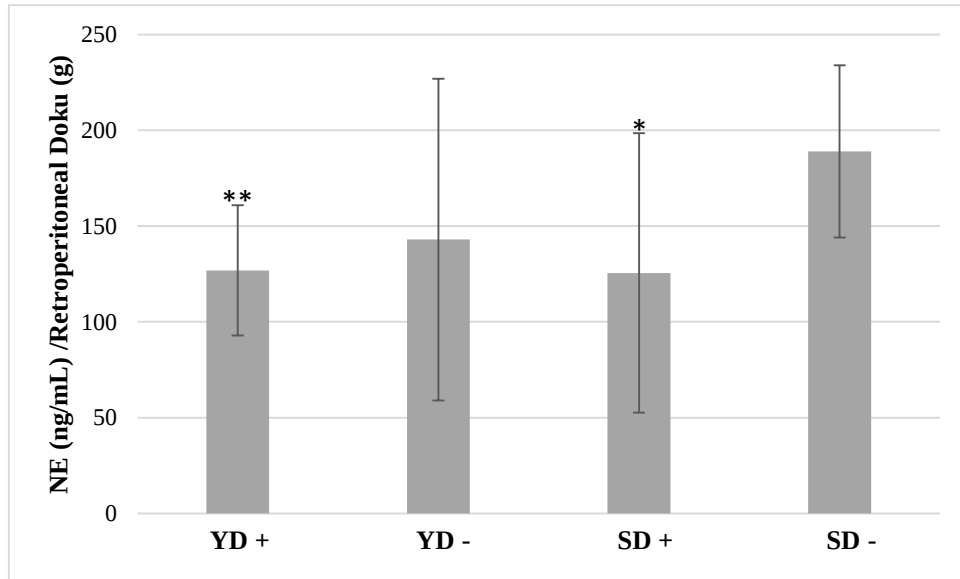
Serum numunelerinin açlık glukoz ve TG seviyeleri ölçümü Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Farabi Hastanesi rutin tıbbi biyokimya laboratuvarında ve serum insülin ölçümü SPI Bio firmasının Rat insülin ELISA ticari kiti ile yapıldı. 70 günlük periyodu sonunda yüksek yağlı uygulanan ve denerve edilmiş gruplarla, standart diyet ve denerve edilmemiş gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Grupların glukoz, TG ve insülin değerleri Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Deney gruplarının serum glukoz, TG ve insülin sonuçları

Gruplar	Glukoz (mg/dL)	Trigliserid (mg/mL)	İnsülin (ng/mL)
YD +	107.14 ± 16.85	80.62 ± 40.34	0.46 ± 0.53
YD -	104.00 ± 22.29	93.37 ± 28.62	0.39 ± 0.36
SD +	95.25 ± 19.79	113.75 ± 47.55	0.58 ± 0.45
SD -	112.42 ± 20.37	97.75 ± 58.58	0.74 ± 0.72

6.4. Retroperitoneal Yağ Dokusunda Norepinefrin Ölçümü Sonuçları

Retroperitoneal dokularından aldığımız numuneler Sun Red firmasının Rat norepinefrin ELISA ticari kiti ile ölçüldü. Denervasyon markırı olan NE'in, denerve edilmiş gruplarda ciddi bir düşüşü gözlemlendi ve diğer gruplara göre anlamlı fark belirlendi (p=0.037). Sonuçlar Şekil 13'de gösterilmiştir.



Şekil 13. Deney gruplarının retroperitoneal yağ dokusu norepinefrin sonuçları

*: SD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.005 düzeyinde farklıdır.

** : YD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.007 düzeyinde farklıdır.

Tablo 11. Deney gruplarının retroperitoneal yağ dokusu NE sonuçları

Gruplar	NE (ng/mL) / Retroperitoneal doku (g)
YD +	126.85 ± 34.82 ^b
YD -	142.95 ± 73.45
SD +	125.54 ± 37.30 ^a
SD -	188.96 ± 28.21

^a : SD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.005 düzeyinde farklıdır.

^b : YD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.007 düzeyinde farklıdır.

6.5. Retroperitoneal Yağ Doku Ağırlık Ölçümü Sonuçları

Bütün gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildikten sonra retroperitoneal yağ dokuları tartıldı ve gruplar arasında anlamlı fark bulundu (p=0.033). Grupların retroperitoneal yağ dokuları ağırlık ortalamaları Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Deney gruplarının retroperitoneal yağ dokularının ağırlık sonuçları

Gruplar	Sağ Retroperitoneal doku ort (g) ¹	Sol Retroperitoneal doku ort (g)
YD +	5.04 ± 2.02	5.16 ± 1.6 ^c
YD -	4.96 ± 1.78	4.91 ± 1.71 ^b
SD +	4.84 ± 1.51	4.59 ± 1.51 ^a
SD -	3.09 ± 0.96	3.05 ± 0.97

¹ : Sağ retroperitoneal yağ dokusunda istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

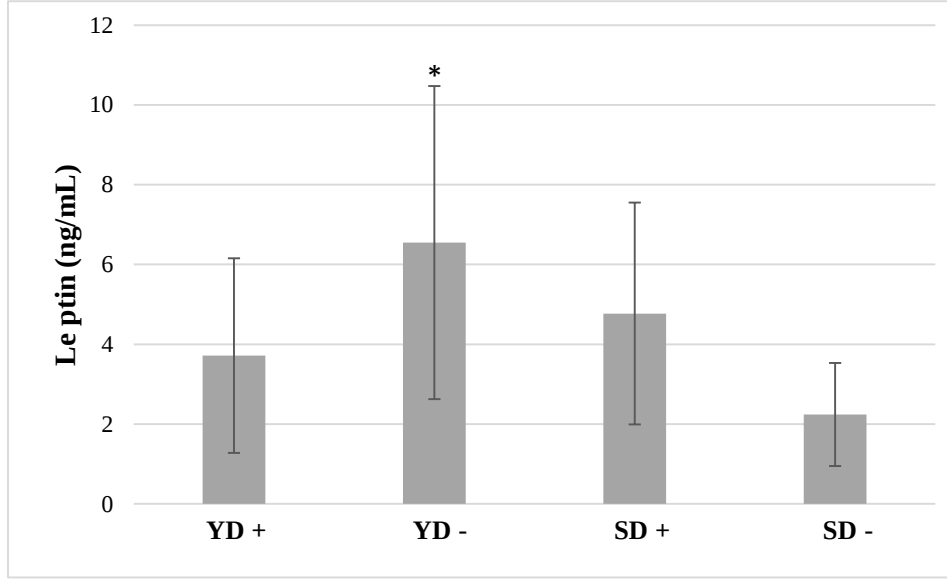
^a : SD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.038 düzeyinde farklıdır.

^b : YD- grubu SD- grubuna göre p= 0.05 düzeyinde farklıdır.

^c : YD+ grubu SD- grubuna göre p= 0.004 düzeyinde farklıdır.

6.6. Serum Leptin Ölçümü Sonuçları

Serum numunelerinde leptin Biovendor firmasının ticari ELISA kiti ile ölçüldü. Yapılan istatistiksel analizler sonucu, yüksek yağlı diyet kullanan ve denerve edilen grubunda leptin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksel olduğu belirlendi ($p= 0.04$). Sonuçlar Şekil 14’de gösterilmiştir.



Şekil 14. Deney gruplarının leptin ölçümü sonuçları

*: YD- grubu SD- grubuna göre $p= 0.01$ düzeyde farklıdır.

Leptin değerleri ağırlık (g) başına da analiz edildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0.038$). Grupların son ağırlık ortalamaları ile birlikte leptin/ağırlık değerleri Tablo13’de verilmiştir.

Tablo 13. Deney gruplarının leptin/ağırlık sonuçları

Gruplar	Leptin (ng/mL)	Ağırlık ort (g)	Leptin (µg/mL) / Ağırlık (g)
YD +	3.72 ± 2.44	436.25 ± 49.51	6.87 ± 2.42
YD -	6.55 ± 3.92 ^c	454.00 ± 32.54	14.81 ± 9.94 ^a
SD +	4.77 ± 2.78 [*]	419.75 ± 29.99	11.16 ± 5.94 ^b
SD -	2.24 ± 1.29	392.25 ± 37.71	5.65 ± 3.44

^{*} : SD+ grup ile SD- grup arasında fark bulunamadı (p=0.05).

^a : YD- grubu SD- grubuna göre p=0.02 düzeyde farklıdır.

^b : SD+ grubu SD- grubuna göre p=0.04 düzeyde farklıdır.

^c : YD- grup SD- gruba göre p=0.01 düzeyinde farklıdır.

6.7. Retroperitoneal ve Epididimal Yağ Dokularında Gen Ekspresyon Sonuçları

Retroperitoneal ve epididimal yağ dokularındaki leptin gen ekspresyonu değerleri ile birlikte Tablo 14’de gösterilmiştir. Gruplar arasında retroperitoneal (p=0.31) ve epididimal (p=0.18) gen ekspresyon açısından her hangi bir anlamlı fark bulunmadı. Sonuçlar Tablo 14’de listelenmiştir.

Tablo 14. Deney gruplarının retroperitoneal ve epididimal gen ekspresyon sonuçları

Gruplar	Retroperitoneal yağ dokusu (Arbitrary unit)	Epididimal yağ dokusu (Arbitrary unit)
YD +	1.09 ± 0.12	1.14 ± 0.11
YD -	1.08 ± 0.13	1.04 ± 0.08
SD +	1.14 ± 0.09	1.04 ± 0.08
SD -	1.16 ± 0.11	1.09 ± 0.12

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaşadığımız çağın en önemli hastalıklarından biri olan obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından, sağlığı bozacak ölçüde yağ dokularında anormal veya aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanmıştır (69). Diyetle alınan enerji miktarının, metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarını aştığı ve fazlalık enerjinin yağ olarak depolanmasına bağlı olarak, vücuttaki yağ kitlesinin, yağsız vücut kitlesine oranla arttığı durumlarda obezite ortaya çıkar (70). Obezitenin görülme sıklığı dünyada her yaş grubunda gittikçe artmaktadır. Çocukluk dönemindeki obezite, ileri yaşlarda diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, ateroskleroz, ortopedik problemler ve psikososyal bozuklukların gelişiminde rol oynamaktadır (71). Obezite oluşumundaki en önemli risk faktörleri, fiziksel aktivitede azalma, değişen beslenme alışkanlıkları, yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi, doğum sayısı ve genetik faktörlerdir (72). Obezitenin tedavisinde, diyet, egzersiz, beslenme davranışlarında değişiklikler, ilaçlar ve cerrahi yöntemler kullanılmaktadır.

Obezitenin biyokimyasal ve moleküler temelini aydınlatabilmek için zayıf ve şişman hayvanların yağ dokularını karşılaştıran birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Genel olarak, diyetle oluşturulan ve transgenik obez modeller çalışmalarda sıklıkla kullanılmışlardır. Yağ dokusunda özel bir genin fonksiyonunu belirlemek için kullanılan transgenik hayvan modelleri adipoz dokunun metabolizmasını, salgı fonksiyonunu ve adipogenezin transkripsiyonel regülasyonunun incelenmesinde ve analiz edilmesinde önemli katkılar sağlamıştır (7). Ancak insanlarda görülen obezitenin genetik bozukluklardan daha çok, diyet kaynaklı olmasından dolayı, diyetle indüklenmiş obez hayvan modelleri bu alandaki çalışmalarda daha çok tercih edilmiştir. Spesifik besinlerin obezitenin gelişimindeki rolünü göstermek için çeşitli diyet protokolleri kullanılmıştır. Yüksek yağlı diyetin (diyetin kalorisinin %30-60 yağ kaynaklı) kullanılan yağın çeşidine bağlı olarak, rodentlerde obezite, insülin direnci ve hiperglisemi gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. Yüksek karbohidrat içerikli diyetlerde, TG seviyeleri yüksek, insülin dirençli modeller oluşturulabilmektedir. Ancak yüksek yağlı diyet kullanan hayvanlarda, yüksek karbohidratlı diyet kullananlara göre obezite derecesi daha yüksek olmaktadır (1, 21).

Merkezi ve otonom sinir sistemi yiyecek alınımı, enerji harcanması ve depolanması gibi fonksiyonları düzenleyerek enerji metabolizmasını kontrol eder. Yağ dokusunun metabolik, sekretuar ve plasticiy gibi özellikleri otonom sinir sistemi tarafından sıkıca kontrol edilir. Özellikle sempatik sinir sistemi lipoliz ve beyaz yağ depolarının boyutlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Parasempatik innervasyonun beyaz yağ dokusu fonksiyonu hakkında, hatta parasempatik sinir sisteminin yağ dokusunda ki varlığı hakkında, ciddi tartışmalar vardır. Beyaz yağ dokusunda parasempatik sinir sisteminin klasik nörokimyasal maddelerinin (VIP, nöronal nitrik oksid sentaz, VAChT) ve fonksiyonel nikotinik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir. Ancak, parasempatik sinir sisteminin beyaz yağ dokusundaki fonksiyonları ortaya konulamamıştır. Yağ dokusu ve beyin arasındaki bir sinirsel feedback mekanizma ile enerji homeostazisinin ve vücut yağ kitlesinin düzenlenmesinin yanı sıra, üreme ve immünolojik fonksiyonların düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Bu feedback mekanizma çoklu metabolik sendromların (obezite ve tip II diyabet) patolojisini de etkileyebilmektedir (13, 23).

Sempatik sinir sisteminin denervasyonun başarısını göstermek için, doku norepinefrin miktarı ölçülmektedir (8). Sempatik uyarının azalmasına bağlı olarak yağ dokusundaki norepinefrin miktarı azalmaktadır. Retroperitoneal yağ dokusunda yaptığımız norepinefrin ölçümlerinde standart yem kullanan gruplarda denervasyonun net bir şekilde norepinefrin miktarını azalttığını gördük (Şekil 13, $p=0.005$). Yüksek yağlı diyet kullanan gruplarda denervasyona bağlı olarak NE miktarında azalma olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 13, $p>0.05$). Bu sonuç, alınan fazla kaloringin doku metabolizmasında oluşturduğu değişikliğe bağlı olabilir.

Çalışmamızda sinir lifleri denerve edilmemiş hayvanlar karşılaştırıldığında, yüksek yağlı yem tüketen hayvanların standart yem tüketen hayvanlara göre daha fazla kilo aldığı gözlemlendi (Tablo 9 ve Şekil 12, $p=0.007$). Denervasyon yapılmış hayvanlarda ise ağırlıkları yönünden herhangi bir fark gözlenmedi. Ancak, her iki grupta (YD-,YD+) standart yem tüketen denervasyon yapılmamış hayvanlara (SD-) göre daha yüksek ağırlık ortalamalarına sahip olduğu bulundu. Genel olarak standart yem tüketen hayvanlarda denervasyonun belirgin bir kilo artışına sebep olduğu, yüksek yağlı yem tüketen hayvanlarda ise denervasyona bağlı bir fark oluşmadığı görüldü. Bu sonuç,

yüksek yağlı yem tüketimine bağlı beslenme davranışı değişikliğinin bir sonucu olabilir. Yağ dokusundan salgılanan bazı faktörlerin (leptin, adiponektin, nesfatin ve visfatin, gibi) enerji tüketimi ve iştahı düzenlediği bilinmektedir (60). Zamana bağlı ağırlık değişiklikleri incelendiğinde, SD- grup ile diğer grupların arasında ilk 15 günden sonra net bir şekilde gözlenen bir kilo artışı farklılığı bulunmaktadır (Şekil 12). YD- ve YD+ gruplarda alınan fazla kaloringin bir sonucu olan bu değişikliğin, SD+ grupta da gözlenmesi, denervasyonun yiyecek tüketimini artırabileceği yönünde değerlendirilmiştir.

Yağ kütlesi, yağ hücrelerinin sayısı ve boyutlarının düzenlenmesi ile kontrol edilir. Birçok çalışma, sempatik sinir sisteminin yağ hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşmasını kontrol ettiğini göstermiştir. Yağ hücresi apoptozu üzerine etkisi daha azdır (23). Sempatik aktivasyon beyaz yağ dokusunun gelişimini baskılar (73, 74). Sempatik sinir sistemi denerve edilmiş deney hayvanlarında, beyaz yağ dokusunun hücre proliferasyonuna bağlı olarak boyutlarının arttığı gösterilmiştir (23). Bizde çalışmamızda, denervasyon yaptığımız retroperitoneal yağ dokularını, SD- gruptaki hayvanların retroperitoneal yağ dokularına oranla daha yüksek olduğunu bulduk (Tablo 12, $p=0.038$). Denervasyona bağlı dokudaki norepinefrin miktarındaki azalış, yağ dokularında hipertrofiye neden olmaktadır. Norepinefrin, adiposit öncül hücrelerinin proliferasyonunu *in vitro* çalışmalarda inhibe eder (75), *in vivo* beyaz yağ dokusunun cerrahi ve farmakolojik (6 OH-DA uygulaması) denervasyonu hem ratlarda hem de Sibirya hamstirlerinde beyaz yağ dokusundaki preadiposit ve adipositlerin sayısını ciddi anlamda artırır (76-78).

Beyaz yağ dokusunun iki ana metabolik yolu vardır. Birincisi, TG'lerin sentez ve depolanması, ikincisi bunların serbest yağ asitleri ve gliserole yıkılmasıdır (79). Adipositlerde lipit depolarının artması iki yolla gerçekleştirilir; birincisi dolaşımdaki lipoproteinlerle birlikte bulunan TG'lerin direk alınımı, ikincisi ise lipogenik yollarca sentezi (TG'lerin glukozdan *de novo* sentezi). Bu anabolik yollar çok büyük ölçüde insülinin kontrolü altındadır (23). Yağ dokusunda lipolitik yollar üç ana faktör tarafından kontrol edilir: adiposit TG lipaz, hormon duyarlı lipaz ve perilipin A (79). Beyaz yağ hücresinde hem serbest yağ asitleri hemde gliserol diğer organlara yakıt sağlamak için kana verilir. Katekolaminler ve özellikle norepinefrin lipolizin kontrolünü, düzenleyen ana hormonlardır. Ancak insülinin anti lipolitik etkisi katekolaminlerden daha baskındır

ve insülin seviyesi düştüğü zaman bu hormonlar etkilidir (23). Deney gruplarında yaptığımız serum glukoz, TG ve insülin ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunamamıştır (Tablo10, $p>0.05$). Yüksek yağlı diyet kullanımına bağlı oluşan insülin direnci ve dislipidemi birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak, elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu çalışmalarda vardır (80). Bu farklılıkta kullanılan yağ kaynağı farklılığı kadar, diyetin uygulama süresi ve hayvan türü de etkili olabilir. Bu haliyle sonuçlar değerlendirildiğinde, yukarıda bahsedildiği gibi insülinin baskın antilipolitik etkisinin bir sonucu olarak, TG ve glukoz miktarlarında denervasyona bağlı değişiklikler gözlenmemiştir.

Beyaz yağ dokusunda bazı bileşiklerin sentez ve salgılanması diğer birçok faktörün yanı sıra, katekolaminler yolu ile sempatik sinir sisteminde de kontrol edilir. Leptin sentezi ve salgılanmasının kontrolü en çok çalışılanlardan biridir. Birçok çalışma β -adrenoreseptör uyarılmasının leptin salgılanmasını azalttığını göstermiştir. İnsan yağ dokusunda bu azalma posttranslasyonel mekanizmalarla gerçekleşir. Tersine rat yağ dokusunda izoproterenol (β -reseptör agonisti) bazal leptin sekresyonunu etkilemez ancak insülince uyarılmış leptin biyosentezini kısa dönemde baskılar (81, 82). Aynı zamanda 3T3L1 yağ hücreli primer sempatik nöronların varlığında kültüre edildiğinde leptin sekresyonu azalmıştır (83). Bu sonuçlar göz önüne alınarak, katekolaminlerin soğuğa maruz kalma ve açlık dönemlerinde gözlenen plazma leptin seviyesindeki kısa dönemli azalmaya aracılık edebileceği ileri sürülmüştür (84). Çalışmamızda, denervasyon yapılmamış gruplarda yüksek yağlı diyet kullanımına bağlı olarak hayvanlarda serum leptin seviyesi artmıştır (Şekil 14, $p=0.04$). Leptinin kandaki miktarı vücuttaki yağ kitlesi ile doğru orantılıdır. Yağlı diyet kullanan gruplardaki serum leptin seviyesindeki artışlar artan vücut ağırlığının bir sonucudur (7). Standart yem kullanan gruplarda, denervasyona bağlı leptin miktarı artmıştır. Katekolaminlerin plazma leptin seviyesinde azalmaya sebep olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu artış denervasyon sonucu yağ dokusunda azalan NE seviyelerine bağlı olabilir. YD+ grupta SD- gruptan daha yüksek serum leptin seviyesine sahip olmasına rağmen YD- gruptan daha düşük serum leptin seviyesine sahiptir. Bu değişiklik YD+ grubun ortalama ağırlığının YD- gruptan daha az olmasının bir sonucu olabilir (Tablo 9). Ayrıca serum leptin seviyesini belirleyen diğer faktörlerin (Subkutan yağ dokusu miktarı, insülin,

TNF- α , gibi) denervasyona verdiği cevabın bir sonucu olarak da bu değişiklikler şekillenmiş olabilir.

Retroperitoneal yağ dokusunda denervasyonun leptin sentezine etkisini incelemek için yaptığımız ekspresyon çalışmalarında, bu dokuda gruplar arasında anlamlı farklar bulunamamıştır (Tablo 14). Serum örneklerinde gözlenen değişikliklerin retroperitoneal yağ dokusundaki ekspresyon profillerinde gözlenmemesi, leptinin başlıca subkutan yağ dokuda sentezlenmesi ve visseral yağ dokularında sentezinin daha az olmasına bağlı olabilir.

Farklı yağ dokularının denervasyonu, farklı metabolik ve sekreatuar sonuçlar doğurmaktadır. Bu farklılık, beyaz yağ dokularındaki metabolik ve sekreatuar heterojenitenin esasen innervasyonlarına bağlı olduğu iddiasını güçlendirmektedir (23). Ancak yine de, yağ dokuları merkezi sinir sistemi üzerinden birbiri ile haberleşmektedir. Harisin yaptığı bir çalışmada, visseral yağ dokularının bazılarında meydana getirilen sempatik denervasyonun diğer denerve edilmemiş yağ dokuların tarafından algılandığı ve doku boyutları ile bazı proteinlerin sentezinde farklılıklar ortaya çıktığı gösterilmiştir. Doğrudan birbirleri ile iletişimi olmayan bu dokuların nöronal temelli mekanizmalarla birbirlerini algıladıkları ve farklı metabolik cevaplar oluşturdıkları düşünülmektedir (8). Retroperitoneal yağ dokusu denervasyonunun epididimal yağ dokusunda leptin ekspresyonuna etkisini incelediğimiz çalışmada, gruplar arasında herhangi bir fark bulunamamıştır (Tablo 14). Bunda yukarıda bahsettiğimiz gibi, leptinin visseral yağ dokularında sentezinin daha az olmasının yanı sıra, çift taraflı gerçekleştirilen denervasyonunda etkisi olabilir.

Sonuç olarak, iki taraflı retroperitoneal yağ dokusu denerve edilmiş sıçanlarda, yağ dokularındaki leptin ekspresyonlarında fark bulunmadığı, retroperitoneal dokuda ağırlık artışı olduğu ve serum leptin seviyelerinde diyetle bağlı farklılıklar bulunduğu görüldü. Gözlenen değişikliklerin diyetin diğer yağ dokularına olan etkisinden kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

8. KAYNAKLAR

1. Karbonits M (2008). Obesity and Metabolism. Karger 92-260.
2. Haslam DW, James WPT (2005). Obesity 366: 1197-1209.
3. Gesta S, Tseng YH, Kahn CR (2007). Developmental Origine of Fat: Tracking Obesity to its Source. Cell 131: 242-256.
4. Ibrahim MM (2010). Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Structural and Functional Differences. Obesity Reviews 11: 11-18.
5. Sethi JK, Vidal-Puig AJ (2007). Adipose Tissue Function and Plasticity Orchestrate Nutritional Adaptation. J Lipid Res 48: 1253-1262.
6. Kushner RF, Bessesen DH (2007). Treatment of the Obese Patient. Humana Pres 86-140.
7. Vela FME, Torres N, R.Tovar A (2008). White Adipose Tissue as Endocrine Organe and Its Role in Obesity. Arch Med Res 39: 715-728.
8. Ruth BS, Harris (2012). Sympathetic denervation of one white fat depot changes norepinephrine content and turnover in intact white and brown fat depots. Adipocyte Biol 20: 1355-1366.
9. Sylvia PP, Dorothy BH, Gary JH (2010). The development and endocrine functions of adipose tissue. Mol Cell Endocrinol 323: 20-34.
10. Peker E (2005). Soğuk stresine maruz bırakılan sıçanlarda damar düz kas aktivitesinin yağ dokusu ile ilişkisi. Yüksek lisans tezi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
11. Kahraman C (2013). Diyetle indüklenmiş obezitede yağ dokusundaki oksidan antioksidan dengenin incelenmesi. Doktora tezi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
12. Dusserre E, Moulin P, Vidal H (2000). Differences in mRNA expression of the proteins secreted by the adipocytes in human subcutaneous and vis-ceral adipose tissues. Biochim Biophys Acta 1500: 88-96.
13. Kreier F, Fliers E, Voshol PJ, Van-Eden CG, Havekes LM, Kalsbeek A, Van Heijningen CL, Sluiter AA, Mettenleiter TC, Romijn JA, Sauerwein HP, Buijs RM (2002). Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat–functional implications. J Clin Invest 110: 1243-1250.

14. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC (2008). Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 14: 741-51.
15. Morrison RF, Farmer SR (2000). Hormonal Signaling and Transcriptional Control of Adipocyte Differentiation. *J Nutr* 130: 3116-3121.
16. Wozniak SE, Gee LL, Wachte MS, Frezza EE (2009). Adipose Tissue: The New Endocrine Organ. *Digest Dis Sci* 54: 1847-1856.
17. Mac Dougald OA, Burant CF (2007). The Rapidly Expanding Family of Adipokines. *Cell Metab* 6: 159-161.
18. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M (2004). Increased Oxidative Stress in Obesity and its Impact on Metabolic Syndrome. *J Clin Invest* 114: 1752-1761.
19. Dolincova M, Dostalova I, Lacinova Z, Michasky D, Haluzikova D, Mraz M, Kasalicky M, Haluzik M (2008). The Endocrine Profile of Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue of Obese Patients. *Mol Cell Endocrinol* 291: 63-70.
20. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, T.Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinos C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai K, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 7: 941–946.
21. Chu NF, Spiegelman D, Hotamisligil GS, Rifai N, Stampfer M, Rimm EB (2001). Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity-related atherogenic and thrombogenic cardiovascular disease risk factors among men. *Atherosclerosis* 157: 495–503.
22. Yüksel S (2011). Tip 2 diyabet mellitus’lu hastalarda yağ dokusundan salınan adipokinlerin ateroskleroz gelişimindeki rolü. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Gazi Üniversitesi, Ankara.
23. Bastard JP (2013). *Physiology and Physiopathology of Adipose Tissue*. Springer, N.Y 171-181.
24. Norman D, Mukherjee S, Symons D, Jung RT, Lever JD (1988). Neuropeptides in interscapular and perirenal brown adipose tissue in the rat: a plurality of innervation. *J Neurocytol* 17: 305–311.

25. Himms-Hagen J (1990). Brown adipose thermogenesis: interdisciplinary studies. *FASEB J* 4: 2890–2898.
26. Ballantyne B, Raffery AT (1974). The intrinsic autonomic innervation of white adipose tissue. *Cytobios* 10: 187.
27. Slavin BG, Ballard KW (1978). Morphological studies of the adrenergic innervation of white adipose tissue. *Anta Rec* 191: 377–389.
28. Rebuffe-Scrive M (1991). Neuroregulation of adipose tissue: molecular and hormonal mechanisms. *Int J Obes* 15: 83–86.
29. Youngstrom TG, Bartness TJ (1995). Cathecolaminergic innervation of white adipose tissue in the Siberian hamster. *Am J Physiol* 268: 744-751.
30. Potter K (1988). Neuropeptide Y as an autonomic neurotransmitter. *Pharmacol Ther* 37: 251.
31. Giordano A, Morroni M, Santone G, Marchesi GR, Cinti S (1996). Tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, substance P, calcitonin gene-related peptide and vasoactive intestinal peptide in nerves of rat periovarian adipose tissue: an immunohistochemical and ultrastructural investigation. *J Neurocyto* 25: 125-136.
32. Castan I, Valet P, Quideau N, Voisin T, Ambid L, Laburthe M, Lafontan M, Carpenne C (1994). Antilipolytic effects of alpha 2-adrenergic agonists, neuropeptide Y, adenosine, and PGE1 in mammal adipocytes. *Am J Physiol* 266: 1141-1147.
33. S.L.Gal C, Lafontan M, Raufaste D, Marchand J, Pouzet B, Casellas P, Pascal M, Maffrand JP, Fur GL (2000). Characterization of NPY receptors controlling lipolysis and leptin secretion in human adipocytes. *FEBS Lett* 475: 150-156.
34. Bradley RL, Mansfield JPR, Maratos-Flier E (2005). Neuropeptides, including neuropeptide Y and melanocortins, mediate lipolysis in murine adipocytes. *Obesity Res* 13: 653–661.
35. Lee H, Jun DJ, Suh BC, Choi BH, Lee JH, Do MS, Suh BS, Ha H, Kim TK (2005). Dual roles of P2 purinergic receptors in insulin-stimulated leptin production and lipolysis in differentiated rat white adipocytes. *J Biol Chem* 280: 28556-28563.
36. Lafontan M, Berlan M (1993). Fat cell adrenergic receptor and the control of white and brown fat cell function. *J Lipid Res* 34: 1057-1091.

37. Grujic D, Susulic VS, Harper ME, H.Hagem J, Cunningham BA, Corkey BE, Lowell BB (1997). Beta3-adrenergic receptors on white and Brown adipocytes mediate beta3-selective agonist-induced effects on energy expenditure, insulin secretion, and food intake. A study using transgenic and gene knockout mice. *J Biol Chem* 272: 17686-17693.
38. Lafontan M, Berlan M (1995). Fat cell α 2-adrenoceptors: the regulation of fat cell function and lipolysis. *Endocrine Rev* 16: 716-738.
39. Berthoud HR, Fox EA, Neuhuber W (2006). Vagaries of adipose tissue innervation. *Am J Physiol* 291: 1240-1242.
40. Giordano A, Song CK, Bowers RR, Ehlen JC, Frontini A, Cinti S, Bartness TJ (2006). White adipose tissue lacks significant vagal innervation and immunohistochemical evidence of parasympathetic innervation. *Am J Physiol* 291: 1243-1255.
41. Kreier F, Buijs RM (2007). Evidence for parasympathetic innervation of white adipose tissue, clearing up some vagaries. *Am J Physiol* 293: 548-549.
42. Kennedy GC (1953). The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond* 140: 578-596.
43. Wood S, Lotter E, M.Kay L, Porte DJ (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 282: 503-505.
44. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1995). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.
45. Tartaglia IA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, T.Clark F, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, J.Moore K, S.Smutko J, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Teper I (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor OB-R. *Cell* 83: 1263-1271.
46. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Maraco CC, Kee LJ, Bauer TL, Caro JF (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal- weight and obese humans. *New Engl J Med* 334: 292-295.

47. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T (2007). Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 6: 55-68.
48. Kusminski CM, McTernan PG, Schraw T, Kos K, Ohare JP, Ahima R, Kumar S, Scherer PE (2007). Adiponectin complexes in human cerebrospinal fluid: distinct complex distribution from serum. *Diabetologia* 50: 634-642.
49. G.Maximin E, Roy AF, Vacher CM, Aubourg A, Bailleux V, Lorsignol A, Penicaud L, Parguet M, Taouis M (2009). Adiponectin receptors are expressed in hypothalamus and colocalized with proopiomelanocortin and neuropeptide Y in rodents arcuate neurons. *J Endocrinol* 200: 93-105.
50. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE, Ahima RS (2004). Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat Med* 10: 524-529.
51. Coope A, Milanski M, Araujo EP, Tambascia M, J.A.Saad M, Geloneze B, Velloso LA (2008). AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/ leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *Febs Lett* 82: 1471-1476.
52. Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M (2006). Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 443: 709-712.
53. Shimizu H, Oh-I K, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N, Eguchi H, Kato I, Inoue K, Satoh T, Okada S, Yamada M, Yada T, Mori M (2013). Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 150: 662-671.
54. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita1 S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Frogue P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T (2002). Adiponectin Stimulates Glucose Utilization and Fatty-Acid Oxidation by Activating AMP-Activated Protein Kinase. *Nat Med* 8: 1288-1295.

55. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y (2001). Adipocyte-Derived Plasma Protein, Adiponectin, Suppresses Lipid Accumulation and Class A Scavenger Receptor Expression in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Circulation* 103(8): 1057-1063.
56. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M, Ohashi K, Sakai N, Shimomura L, Kobayashi H, Terasaka N, Inaba T, Funahashi T, Matsuzawa Y (2002). Adiponectin Reduces Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Circulation* 106(22): 2767-2770.
57. Supuran I, Claudiu T, Jean-Yves W (2009). Drug design of zinc-enzyme inhibitors: functional, structural, and disease applications. USA. 10: 241.
58. Considine RV, Caro JF (1996). Leptin: Genes, concepts and clinical perspective. *Horm Res* 46: 249-256.
59. Eröz E (2009). Toplumumuzda Sağlıklı Bireylerde ve Kardiyovasküler Hastalığı Olan Olgularda Yağ Asidi Profilinin Ve Yağ Dokusu Hormonlarının Düzeylerinin (Adiponektin, Leptin, Rezistin) Değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Tıp fakültesi, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
60. Münzberg H, Morrison CD (2014). Structure, production and signaling of leptin. *Metabolism* 10.1016: 1-11.
61. Şahin S (2011). Obez hastalarında leptin geni (LEP) G-2548A ve leptin reseptör geni (LEPR) 668>G (Q223R) polimorfizmlerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, sağlık bilimleri enstitüsü, Gaziosman paşa Üniversitesi, Tokat.
62. Dagogo-Jack S (2001). Human leptin regulation and promise in pharmacotherapy. *Curr Drug Targets* 2 (2): 181-195.
63. Auwerx J, Staels B (1998). Leptin. *Lancet* 351: 737-742.
64. V.Haermelen V, Reynisdottir S, Hoffstedt J, Lönnqvist F, Arner P (1988). Leptin secretion rates from subcutaneous and omental fat tissue in women. *Int J Obes* 22: 41.
65. Lago R, Gómez R, Lago F, Gómez-R J, Gualillo O (2008). Leptin beyond body weight regulation current concepts concerning its role in immune function and inflammation. *Cell Immunol* 252 (1): 139-145.

66. Gültürk S, Demirkazık A (2007). Leptin ve Diyabet. C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 29 (1): 35-40.
67. Wada N, Hirako S, Takenoya F, Kageyama H, Okabe M, Shioda S (2014). Leptin and its receptors. J Chemic Neuroanatom 61:191-199.
68. Marroqui L, Gonzalez A, Neco P, C.Garrido E, Vieira E, Ripoll C, Nadal A, Quesada I (2012). Role of leptin in the pancreatic β -cell: effects and signaling pathways. J Mol Endocrinol. 49: 9-17.
69. Keçetepen LO (2005). Egzersizin leptin düzeyleri üzerine etkisi, leptinin solunum ve kardiyovasküler parametreler ile ilişkisi. Yüksek lisans tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
70. Hammoud AO, Gibson M, Peterson CM, Meikle AW, Carrell DT (2008). Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. Fertil Steril 90: 897-904.
71. Bozan G (2010). Obez çocuklarda serum leptin ve kemik metabolizma parametrelerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
72. Altunkaynak BZ, Özbek E (2007). Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri, Dicle Tıp Dergisi 34: 144-149.
73. Pénicaud L, Cousin B, Leloup C, Lorsignol A, Casteilla L (2000). The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity and energy balance. Nutrition 16: 903-908.
74. Cousin B, B.Viguerie N, Kassis N, Nibbelink M, Ambid L, Casteilla L, Penicaud L (1996). Cellular changes during cold acclimatation in adipose tissues. J Cell Physiol 167: 285-289.
75. Jones DD, Ramsay TG, Hausman GJ, Martin RJ (1992). Norepinephrine inhibits rat pre-adipocyte proliferation. Int J Obes 16: 349-354.
76. Bowers RR, Festuccia WTL, K.Song C, Shi H, H.Migliorini R, J.Bartness T (2004). Sympathetic innervation of adipose tissue and its regulation of fat cell number. Am J Physiol 286: 1167-1175.
77. Cousin B, Casteilla L, Lafontan M, Ambid L, Langin D, Berthault MF, Penicaud L (2013). Local sympathetic denervation of white adipose tissue in rats induces

- preadipocyte proliferation without noticeable changes in metabolism. *Endocrinology* 33: 2255-2262.
78. Foster MT, Bartness TJ (2006). Sympathetic but not sensory denervation stimulates white adipocyte proliferation. *Am J Physiol* 291: 1630-1637.
 79. Wang S, G.Soni K, Semache M, Casavant S, Fortier M, Pan L, A.Mitchell G (2008). Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism. *Mol Genet Metab* 95: 117-126.
 80. Zaman MQ, Leray V, Bloc'h JL, Thorin C, Ouguerram K, Nguyen P (2011). Lipid profile and insulin sensitivity in rats fed with high-fat or high-fructose diets. *Brit J Nutr* 106: 206-210.
 81. Cammisotto PG, Bukowiecki LJ (2002). Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes. *Am J Physiol* 283: 244-250.
 82. Ricci MR, Lee MJ, Russell CD, Wang Y, Sullivan S, Schneider SH, Brolin RE, Fried SK (2005). Isoproterenol decreases leptin release from rat and human adipose tissue through posttranscriptional mechanisms. *Am J Physiol* 288: 798-804.
 83. Turtzo LC, Marx R, Lane MD (2001). Cross-talk between sympathetic neurons and adipocytes in coculture. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12385-12390.
 84. Lee MJ, Fried SK (2009). Integration of hormonal and nutrient signals that regulate leptin synthesis and secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296: 1230-1238.

9. ETİK KURUL ONAYI

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



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

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

Çalışmasının Adı : "Retroperitoneal Yağ Dokusu Denevce Edilmiş Sıçanlarda Retroperitoneal ve Epididimal Yağ Dokularından Salgılanan Adipokin Profillerinin İncelenmesi"			
Çalışmacılar : Doç.Dr.Ahmet ALVER, Doç.Dr.Sinan CANPOLAT, Arş.Gör.Cemil KAHRAMAN			
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya			
Etik Kurul Dosya No 2013/ 29	Etik Kurul Toplantı Tarihi 28.05.2013	Etik Kurul Toplantı No 2013/09	Etik Kurul Karar No 06
Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu'nda Prof.Dr.Etem ALHAN'ın başkanlığında; "Retroperitoneal Yağ Dokusu Denevce Edilmiş Sıçanlarda Retroperitoneal ve Epididimal Yağ Dokularından Salgılanan Adipokin Profillerinin İncelenmesi" başlığını taşıyan çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (28.05.2013) Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı			

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Taghi AHMADI RENDI
Doğum Tarihi	21.09.1985
Doğum Yeri	Maku-İRAN
Telefon	0 462 377 78 89-82
Medeni Hali	Bekâr
E-posta	tagi.ahmadi85@gmail.com
Adres	KTÜ SABE, Tıbbi Biyokimya AD, Trabzon

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Veterinerlik	Mohaggeg Ardabil Üniversitesi	2002-2007
Yüksek Lisans	Tıbbi Biyokimya	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2012-2015

Yabancı Dil: İngilizce