

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DAMAR İÇİ GLUKOZ UYGULAMASININ  
LATERAL HİPOTALAMİK ALANDAKİ KATEKOLAMİNLERE  
ETKİSİNİN MİKRODİYALİZ YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

HATİCE SOLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Z. İŞİK SOLAK GÖRMÜŞ

KONYA 2015

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DAMAR İÇİ GLUKOZ UYGULAMASININ  
LATERAL HİPOTALAMİK ALANDAKİ KATEKOLAMİNLERE  
ETKİSİNİN MİKRODİYALİZ YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

HATİCE SOLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Z. IŞIK SOLAK GÖRMÜŞ

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 141318007 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2015

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **HATİCE SOLAK**'ın "Sıçanlarda damar içi glukoz uygulamasının lateral hipotalamik alandaki katekolaminlere etkisinin mikrodializ yöntemiyle araştırılması" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya/ 19.08.2015

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof.Dr.Selim KUTLU

Necmettin Erbakan Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof.Dr.Neyhan ERGENE

KTO Karatay Üniversitesi



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 26.08.2015 tarih ve /18/02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "**Investigation of effect of intravenous glucose administration on noradrenaline level in lateral hypothalamic area by using microdialysis method in rat**" by "**HATİCE SOLAK**" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master* in the Department of "**Physiology**", Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

Konya, Turkey/ 19.08.2015

Principal Advisor

Yrd. Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

Necmettin Erbakan University



Examination Committee Member

Prof.Dr.Selim KUTLU

Necmettin Erbakan University



Examination Committee Member

Prof.Dr.Neyhan ERGENE

KTO Karatay University



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

## BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 19.08.2015

Öğrencinin Adı Soyadı: Hatice SOLAK

İmzası



## ÖNSÖZ

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkı sağlayan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, her türlü imkanı seferber eden, çok iyi bir eğitmen ve yönetici olan Değerli Hocamız Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Selim Kutlu'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimimin başlangıcından bu zamana kadar bana güvenen, emek veren, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tezimin her aşamasında bana destek olan, hayattaki duruşuyla örnek aldığım, etrafına ışık saçan Değerli Hocam Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Işık Solak Görmüş' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenciliğim boyunca tecrübelerini ve bilgilerini benden esirgemeyen Sayın Hocalarım Prof. Dr. Neyhan Ergene ve Prof. Dr. Hüseyin Uysal' a çok teşekkür eder, saygı ve hürmetlerimi sunarım.

Çalışmalarımız sırasında HPLC sisteminin kullanımında ve analizlerin hesaplanmasında yardımcı olan Gıda Teknolojisi Ana Bilim Dalı'nda Yrd. Doç. Dr. Ahmet Ünver' e çok teşekkür ederim.

Deney çalışmalarımda bana yardımcı olan değerli dostum Araş. Gör. Dr. Raviye Özen Koca' ya çok teşekkür ederim.

Tezimin yazım aşamasında ve düzenlemesinde, grafiklerin hazırlanmasında bana yardımcı olan canım kuzenim Arda Yılmaz' e çok teşekkür ederim.

Varlığıyla güven veren, her zaman yanımda olup bir an olsun desteğini esirgemeyen, hayattaki en büyük şansım fedakar Annem ve Babama; sevincimde üzüntümdede her an yanımda olan dünyanın en iyi kalpli kardeşleri biricik abim Emre Solak ve canım kardeşim Zeynep Solak' a çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<i>Tez Onay Sayfası</i>	ii
<i>Approval</i>	iii
<i>Beyanat</i>	iv
<i>Önsöz</i>	v
<i>İçindekiler</i>	vi
<i>Kısaltmalar ve Simgeler</i>	viii
<i>Şekiller Listesi</i>	x
<i>Tablolar Listesi</i>	xi
<i>Resimler Listesi</i>	xiii
<i>Grafiklerin Listesi</i>	xiv
<i>Özet</i>	xv
<i>Abstract</i>	xvi
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<i>1.1 Çalışmanın Amacı ve Önemi</i>	2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
<i>2.1. Ventromediyal Nükleus (VMN)</i>	3
<i>2.2. Paraventriküler Nükleus (PVN)</i>	4
<i>2.3. Dorsomediyal Nükleus (DMN)</i>	5
<i>2.4. Arkuat Nükleus (ARC)</i>	5
<i>2.5. Lateral hipotalamik Alan (LHA)</i>	6
<i>2.6. Oreksijenik Moleküller</i>	12
<i>2.6.1. Nöropeptit Y (NPY)</i>	12
<i>2.6.2. Agouti İlişkili Peptit (AgRP)</i>	12
<i>2.6.3. Ghrelin</i>	13
<i>2.6.4. Oreksin A ve B</i>	14
<i>2.6.5. Melanin-Yoğunlaştırıcı Hormon (MCH)</i>	16
<i>2.7. Anoreksijenik Moleküller</i>	16
<i>2.7.1. Leptin</i>	16
<i>2.7.2. Proopiomelanokortin (POMC)</i>	18
<i>2.7.3. Kokain Amfetamin İlişkili Peptit (CART)</i>	18
<i>2.7.4. Kolesistokinin (CCK)</i>	18
<i>2.7.5. Glukagon- Benzeri Peptid-1 (GLP-1)</i>	19

2.8. Beyindeki Katekolaminerjik Sistemler	19
2.8.1. Dopaminerjik Sistem	19
2.8.2. Dopamin Reseptörleri	20
2.8.3. Dopaminin Besin Alımı Üzerine etkisi	21
2.8.4. Noradrenerjik Sistem	22
2.8.5. Adrenerjik Reseptörler	23
2.8.6. Noradrenalinin Besin Alımı Üzerine Etkisi	24
2.9. CNS'de Glukoz Seviyesindeki Değişimler ve Besin Alımının Düzenlenmesindeki Etkileri	25
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	28
3.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	28
3.2. Deney Protokolü	28
3.2.1. Deney Grupları	28
3.2.2. Anestezi ve Hayvanların Hazırlanması	29
3.2.3. Lateral Hipotalamik Alanda Mikrodiyaliz Yöntem	29
3.3. Mikrodiyaliz	33
3.4. HPLC Sisteminde Katekolamin Analizi	34
3.5. İstatistiksel Yöntem	38
<b>4. BULGULAR</b>	
4.1. Kan Glukoz Düzeylerin Değerlendirilmesi	39
4.2. Monoamin Bulguları	42
4.3. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu NA Seviyeleri	43
4.4. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DHPG Seviyeleri	48
4.5. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DOPAC Seviyeleri	53
4.6. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DA Seviyeleri	58
<b>5. TARTIŞMA</b>	63
<b>6. SONUÇLAR</b>	67
<b>7. KAYNAKLAR</b>	68
<b>8. EK-A</b>	72
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	73

## KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AgRP	: Agouti ilişkili Peptit
ARC	: Arkuat Nükleus
CART	: Kokain ve Amfetaminle Düzenlenen Transkript
CCK	: Kolesistokinin
COMT	: Katekol-O-Metil Transferaz
CRH	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
DA	: Dopamin
DBH	: Dopamin $\beta$ Hidroksilaz
DHPG	: Dihidroksifenilglükol
DMN	: Dorsomediyal Nükleus
DOPAC	: Dihidroksifenilasetikasit
GABA	: $\gamma$ -Amino Butirik Asit
GHSR	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptid Amid
HVA	: Homovanilik Asit
HCl	: Hidroklorik asit
ICV	: İntraserebroventriküler
LC	: Lokus Seruleus
LHA	: Lateral Hipotalamik Alan
MAO-B	: Monoamin Oksidaz B
MCH	: Melanin Yoğunlaştırıcı Hormon
MCR	: Melanokortin Reseptörü
MC4R	: Melanokortin 4 Reseptörü
ME	: Median Eminens
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MSH	: Melanosit Uyarıcı Hormon
NA	: Noradrenalin
NPY	: Nöropeptit Y
NTS	: Nükleus Traktus Solitarius
$\alpha$ -MSH	: $\alpha$ - Melanosit Uyarıcı Hormon

OFC	: Orbitofrontal Korteks
OB-Ra	: Kısa Reseptörler
OB-Rb	: Uzun Reseptörler
OXA	: Oreksin A
OXB	: Oreksin B
PFC	: Prefrontal Korteks
PVN	: Paraventriküler Nükleus
POMC	: Proopiomelanokortin
SCN	: Suprakiazmatik Nükleus
SF	: Serum Fizyolojik
SN	: Substansiya Nigra
TH	: Tirozin Hidroksilaz
TRH	: Tirotropin Salgılayıcı Hormon
VMN	: Ventromediyal Nükleus
VTA	: Ventral Tegmental Alan

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<i>Şekil 2.1. Lateral hipotalamik alandaki lezyon</i>	10
<i>Şekil 2.2. Çeşitli iştah düzenleyici nöropeptitler ve onların merkezleri etki alanları arasındaki ilişki</i>	11
<i>Şekil 2.3. Dopamin içeren nöronlar hipotalamus ve orta beyindeki nükleuslarda bulunur</i>	20
<i>Şekil 2.4. Lokus seruleus (LC) 'da NA içeren nöronların projeksiyonları</i>	23
<i>Şekil 2.5. Oreksin nöronları besin alımının başlamasında ve sonlanmasında rol oynar</i>	27

## TABLULAR LİSTESİ

<i>Tablo 2.1. Beyinde besin alımını düzenleyen peptitler</i>	6
<i>Tablo 3.1. Kullanılan sıçan yeminin içeriği</i>	28
<i>Tablo 3.2. Mobil faz solüsyonu 1 lt deiyonize içinde mM/L olarak aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanmış olup ph 4.9' a ayarlanmıştır</i>	34
<i>Tablo 3.3. Katekolaminlerin farklı standart konsantrasyonlarının HPLC'de oluşturdukları pik alanları</i>	37
<i>Tablo 4.1. Aç hayvanlarda SF uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi</i>	39
<i>Tablo 4.2. Aç hayvanlarda glukoz uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi</i>	40
<i>Tablo 4.3. Tok hayvanlarda SF uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi</i>	40
<i>Tablo 4.4. Tok hayvanlarda glukoz uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi</i>	41
<i>Tablo 4.5. Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan ve 24 saat aç bırakılan hayvanlarda kan glukoz değerleri (AO±SH)</i>	41
<i>Tablo 4.6. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki NA değerleri</i>	43
<i>Tablo 4.7. Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki NA değerleri</i>	44
<i>Tablo 4.8. Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki NA değerleri</i>	44
<i>Tablo 4.9. Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki NA değerleri</i>	44
<i>Tablo 4.10. Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan grubu ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki NA değerleri (AO±SH)</i>	45
<i>Tablo 4.11. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DHPG değerleri</i>	48
<i>Tablo 4.12. Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DHPG değerleri</i>	49
<i>Tablo 4.13. Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DHPG değerleri</i>	49
<i>Tablo 4.14. Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DHPG değerleri</i>	49
<i>Tablo 4.15. Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan grubu ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DHPG değerleri (AO±SH)</i>	50
<i>Tablo 4.16. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DOPAC değerleri</i>	53
<i>Tablo 4.17. Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan DOPAC değerler</i>	54
<i>Tablo 4.18. Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DOPAC değerleri</i>	54
<i>Tablo 4.19. Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DOPAC değerleri</i>	54
<i>Tablo 4.20. Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan grubu ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DOPAC değerleri (AO±SH)</i>	55
<i>Tablo 4.21. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DA değerleri</i>	58
<i>Tablo 4.22. Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DA değerleri</i>	59

<i>Tablo 4.23. Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DA değerleri</i>	<i>59</i>
<i>Tablo 4.24. Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DA değerleri</i>	<i>59</i>
<i>Tablo 4.25. Normal beslenme şartılarında tutulan tok hayvan grubu ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DA değerleri (AO±SH)</i>	<i>60</i>

## RESİMLER LİSTESİ

<i>Resim 3.1. Bregmanın görünümü</i>	30
<i>Resim 3.2. Sağ LHA uygulanacak işlem için kafatasının dişçi turu ile açılmış görüntüsü</i>	31
<i>Resim 3.3. Sağ LHA' a mikrodializ işlemi</i>	32
<i>Resim 3.4. Kıyruk venine intraket ile girilmesi</i>	33
<i>Resim 3.5. Damar içi glukoz ve SF uygulaması</i>	33
<i>Resim 3.6. Standart katekolamin 50 ppb kompozit traseleri</i>	36
<i>Resim 3.7. Mikrodializ sonucu elde edilen numunelerin HPLC' de katekolamin traseleri</i>	37

## GRAFİKLERİN LİSTESİ

<i>Grafik 4.1. Aç Bırakılan Hayvanlarda iv SF Uygulamastıyla LHA' daki NA Konsantrasyon Değişimi</i>	43
<i>Grafik 4.2. Aç Bırakılan Hayvanlarda iv Glukoz Uygulamastıyla LHA' daki NA Konsantrasyon değişimi</i>	43
<i>Grafik 4.3. Tok Hayvanlarda iv SF Uygulamastıyla LHA' daki NA Konsantrasyon Değişimi</i>	44
<i>Grafik 4.4. Tok Hayvanlarda iv Glukoz Uygulamastıyla LHA' daki NA Konsantrasyon Değişimi</i>	44
<i>Grafik 4.5. Aç Bırakılan Hayvanlarda iv SF Uygulamastıyla LHA' daki DHPG Konsantrasyon Değişimi</i>	47
<i>Grafik 4.6. Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi</i>	47
<i>Grafik 4.7. Tok hayvanlarda iv SF uygulamastıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi</i>	48
<i>Grafik 4.8. Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi</i>	48
<i>Grafik 4.9. Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamastıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi</i>	51
<i>Grafik 4.10. Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi</i>	51
<i>Grafik 4.11. Tok hayvanlarda iv SF uygulamastıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi</i>	52
<i>Grafik 4.12. Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi</i>	52
<i>Grafik 4.13. Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamastıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi</i>	56
<i>Grafik 4.14. Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi</i>	56
<i>Grafik 4.15. Tok hayvanlarda iv SF uygulamastıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi</i>	57
<i>Grafik 4.16. Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamastıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişim</i>	57

## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### Sıçanlarda Damar İçi Glukoz Uygulamasının Lateral Hipotalamik Alandaki Katekolaminlere Etkisinin Mikrodiyaliz Yöntemiyle

Araştırılması

Hatice Solak

FİZYOLOJİ (TIP) ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA - 2015

Açık merkezi olarak bilinen lateral hipotalamik alan (LHA)'da, birçok nöroaktif molekülün beslenme süreçlerinde rol oynadığı bilinmektedir. Noradrenalin ve dopamin farklı hipotalamik bölgelerde besin alımının düzenlenmesinde etkilidir. Bununla birlikte besin alımının LHA'daki noradrenalin ve dopamin düzeyi üzerinde değişiklik oluşturup oluşturmadığı bilinmemektedir. Mevcut çalışmada damar içi glukoz infüzyonunun, sıçanlarda LHA noradrenalin ve metaboliti dihidroksi fenil glükol (DHPG), dopamin ve metaboliti dopac düzeyleri üzerindeki olası etkilerinin beyin mikrodiyaliz yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

Deneylede normal beslenen 2 grup ve 24 saat besin kısıtlanan 2 grup yetişkin erkek Wistar ırkı sıçan kullanıldı. Sıçanlar anestezisi altında sterotaksik alete yerleştirildi ve sterotaksik atlasındaki koordinatlar kullanılarak LHA'ya mikrodiyaliz işlemleri gerçekleştirildi. Mikrodiyaliz örnekleri 20 dk'lık sürelerde toplandı. İlk mikrodiyaliz örnekleri kontrol olarak kaydedildikten sonra, gruptara 1,4 ml/kg dozunda serum fizyolojik ve % 50'lik glukoz çözeltileri kuyruk veninden uygulandı. Tok ve aç hayvanlarda SF ve glukoz uygulamasından sonraki 40 dk boyunca örnekler elde edildi. Bütün mikrodiyaliz örnekleri HPLC-ECD sisteminde analiz edilerek noradrenalin ve DHPG konsantrasyonları ppb olarak belirlendi. Değerler, uygulama öncesi kontrolleriyle normalize edilerek tek yönlü varyans analizi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bazal noradrenalin konsantrasyonları karşılaştırıldığında aç bırakılan sıçanlardaki noradrenalin düzeyi tok olmaları kıyasla daha yüksekti ( $0.509 \pm 0.16$  ve  $0.384 \pm 0.12$  ppb). Bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlılık ortaya çıkmadı ( $p > 0.05$ ). Noradrenalinin normalize edilmiş 20. dk değerleri, aç ve tok hayvanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin şekilde azaldı ( $p = 0.01$ ). 40. dk değerlerinde anlamlı bir azalma yoktu. Normalize edilmiş DHPG, DA ve dopac değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi.

Bu çalışmanın bulgularına göre sistemik glukoz uygulanması hem aç bırakılmış hem de tok hayvanlardaki LHA noradrenalin düzeyini belirgin olarak azaltmıştır. Bu bulgu, LHA'daki noradrenerjik nörotransmisyonun plazma glukozuyla ilişkili bir şekilde modüle olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Lateral hipotalamik alan (LHA), Noradrenalin (NA), Dopamin (DA), HPLC, mikrodiyaliz, besin alımı

## ABSTRACT

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Investigation of effect of intravenous glucose administration on noradrenaline level in lateral hypothalamic area by using microdialysis method in rat

Hatice Solak

FİZYOLOJİ (TIP) ANA BİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA - 2015

It is known that many neuroactive molecules have role related to feeding processes in lateral hypothalamic area (LHA) known as hunger centre. Noradrenaline and dopamine are effective in regulation of food intake in different hypothalamic areas. But, it is unknown whether feeding change noradrenaline levels in LHA or not. We aimed to investigate the possible effects of intravenous glucose administration on noradrenaline and its' metabolite dihydroxy phenyl glycol (DHPG) and dopamine and its' metabolite dopac levels in LHA by using brain microdialysis method in the present study.

In the experiments we used adult male Wistar rats composed of two group normally fed and the other two group applied food restriction for 24 hours. All rats set to a stereotaxic apparatus under anaesthesia and microdialysis performed into LHA according to stereotaxic coordinates. Microdialysis samples were collected for 20 min periods. After recording first samples, 1.4ml/kg isotonic saline and glucose (%50) solutions were infused via tail vein. Then, the other microdialysis samples were collected for 40 min in fasted and satiated rats. Noradrenaline and DHPG levels were analysed by using HPLC-ECD system and determined as pictogram. All values normalised with controls before application and statistically analysed by SPSS 20.0

Noradrenaline concentration in fasted rats higher than satiated animals in baseline condition ( $0.509 \pm 0.16$  ve  $0.384 \pm 0.12$  ppb respectively). There was no statistical difference between these values ( $p > 0.05$ ). Normalized noradrenaline levels in 20<sup>th</sup> min significantly decreased both satiated and fasted groups compared to control ( $p = 0.01$  respectively). There was no difference in 40<sup>th</sup> min values. Normalized DHPH, DA, dopac levels were not differ compared to control.

According to data from this study, systemic glucose administration caused a decrease on noradrenaline concentration in LHA in both satiated and fasted rat. This result demonstrates that noradrenergic neurotransmission in LHA can be modulated by plasma glucose.

**Key Words:** Lateral hypothalamic area (LHA), noradrenaline (NA), dopamine (DA), HPLC, microdialysis, food intake

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlıların yaşamlarını devam ettirmeleri için beslenme ve metabolik olaylar büyük önem taşır (Mayer 1953). Besin alımının düzenlenmesi, organizmadaki en karmaşık regülasyon mekanizmalarından birini oluşturmaktadır (Valassi 2008). Vücuda alınacak besin miktarını ve iştahı düzenleyen en önemli sinirsel merkezler hipotalamusta bulunur. Beyin beslenme davranışının bilinen koordinatörüdür ve hipotalamus beslenmeyle ilgili süreçlerin kontrol edildiği merkezi sinir sistemi bölümüdür (Mayer 1953).

Hipotalamusta bulunan paraventriküler nükleus (PVN), ventromediyal nükleus (VMN), dorsomediyal nükleus (DMN), arkuat nükleus (ARC) ve lateral hipotalamik alan (LHA) besin alımının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Conn 2010; Meister 2007). ARC hipotalamusun besin alımı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve enerji sinyallerinin algılamak değerlendirilmesinde rol alan enerji çekirdeğidir (Debons ve ark. 1982; Meister ve ark. 1989; Bergen ve ark. 1998; Funahashi ve ark. 2000). ARC kökenli nöron grupları oreksijenik (besin alımını artıran) ve anoreksijenik (besin alımını azaltan) olarak adlandırılmaktadır. Enerji dengesi, beslenmenin santral ve periferik kontrolünde rol alan birçok oreksijenik ve anoreksijenik etkili molekül vardır. Oreksijenik peptitler nöropeptit Y (NPY), agouti ilişkili peptit (AgRP), ghrelin, oreksin A ve B, melanin yoğunlaştırıcı hormondur (MCH). Anoreksijenik peptitler ise leptin, kokain amfetamin ilişkili peptit (CART), kolesistokinin (CCK), glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1)'dir (Valassi ve ark. 2008).

LHA açlık merkezi olarak görev yapar (Guyton&Hall 2013). LHA hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış glukoz duyarlı nöronlar içeren beslenme merkezidir ve hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış hiperfajide önemli bir rol oynar (Bernardis ve ark.1996). LHA lezyonları hipofaji ve kilo kaybına neden olur. VMN tokluk merkezi olarak bilinmektedir (Guyton&Hall 2013). Besin alımını inhibe etmek için hipotalamus üzerinde rol oynayan leptin için önemli bir hedef bölge olarak tanımlanmıştır. VMN (Pauls ve ark. 1986) veya paraventriküler çekirdekteki (PVN) lezyonlar hiperfaji ve obezite sendromlarına yol açar (Satoh ve ark. 1997). Bu merkezlerin birbirleri ile olduğu kadar beynin diğer bölgeleri ile de nöronal ilişkisi vardır. Periferden nükleus traktus solitarius (NTS) yolu ile iletilen uyarılar

doğrudan merkezlerine ulaştırılabilir. Bu alanların gelişmiş kortikal nöronlarla da ilişkisi vardır (Kandel 2000).

Ventral tegmental alan ve lokus seruleus'dan kaynak alan dopamin (DA) ve noradrenalin (NA) sistemleri ön beyinle ilişkilidir. DA ve NA besin alımının düzenlenmesinde rol oynayan en önemli nörotransmitterlerdir (Ungerstedt 1971; Ahlskog 1973; Mequid 2000). DA besin alımı üzerindeki etkisi, yemek yeme isteğini oluşturmakla ilişkilidir (Meister 2007). İnsanın kendi bireysel yemek yeme isteğiyle ilişkili olarak DA salınımı tetiklenir. DA aynı zamanda besinleri temin etmek ve tüketmek için gerekli olan davranışları ortaya koyma ile de alakalıdır (Michael ve ark. 2000). Hipotalamus hattından çıkan noradrenerjik liflerde kimyasal ve elektriksel lezyonlar aşırı yemeye ve obeziteye yol açar. Sıçan perifornikal hipotalamus içine NA uygulaması besin alımını azaltır (Meister 2007). Bu sonuçlar noradrenalinin toklukta rol oynayabileceğini göstermektedir. Fakat kalıcı kanül aracılığıyla belirli beyin alanları içine eksojen NA uygulaması yemek yeme davranışına yol açar. NA'nın beyin farklı bölgelerine uygulanmasına ve bağlandığı reseptör tipine göre besin alımını artırır ya da azaltır (Wellman 2000).

### **1.1 Çalışmanın Amacı Ve Önemi**

Obezite, besinlerle alınan enerji miktarının, metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarından fazla olması durumunda ortaya çıkar ve mutlaka tedavi edilmesi gerekmektedir (WHO, 2000). Fiziksel aktivitede genel bir azalmanın yanı sıra yüksek kalorili yiyecek ve içeceklerin tüketiminin artması obezitenin gelişmesini kolaylaştırmıştır ve obezite hızla artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Kilo artışına bağlı olarak koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, tip 2 diyabet, kanser gibi hastalıklar da artmıştır (Meister 2007). Aşırı kilo kaybına bağlı (anoreksi) ise bazı kanser türleri, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ya da insanda bağışıklık sisteminin çökmesine neden olan virüsler gibi aşırı zayıflatan hastalıklar oluşur (Michael 2000).

Besin alımının düzenlenmesinde rol oynayan mekanizmaların detaylı olarak ortaya çıkarılması, obezite- anoreksi gibi hastalıkların etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için önem taşımaktadır. Özellikle hipotalamustaki bazı bölgeler beslenme davranışı ve metabolik aktivitelerde önemli rol oynamaktadır. LHA açlık

merkezi, VMN ise tokluk merkezi olarak bilinmektedir. LHA' nın elektriksel olarak uyarılması deney hayvanlarında açlık duygusu ve besin alımını indüklerken, VMN' nin uyarılması tokluk duygusu ve beslenmenin sonlandırılmasıyla sonuçlanmaktadır (Guyton&Hall 2013).

Katekolaminlerin LHA üzerindeki etkilerini konu alan mikrodializ çalışmaları oldukça sınırlıdır. Sıçanlarda LHA' ya NA uygulanması besin alımını indüklemiştir (Homrich ve ark, 1985; Shiraishi, 1991). Adrenalin ve DA uygulanması ise besin alımı davranışını etkilememiştir (Shiraishi, 1991). Besin alımının hipotalamik LHA' da katekolaminler üzerinde ne tür değişiklikler oluşturduğu bilinmemektedir. Besin alımı sırasında LHA' daki noradrenalin ve dopamin düzeyinde oluşacak konsantrasyon değişimleri, deney hayvanlarında açlık duygusunu başlatabilir veya sonlandırabilir. Tok ve aç hayvanlarda damar içi (iv) glukoz yüklemesi yoluyla besin alımı simüle edilerek, LHA' daki katekolamin düzeylerinin uygulama öncesi ve sonrası nasıl değiştiğinin ortaya konması, açlık merkezinde katekolaminerjik innervasyonun öneminin anlaşılmasına katkı yapabilmektir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Ventromediyal Nükleus (VMN)**

Beslenmeyi düzenleyen ventromediyal nükleus (VMN) nöronları çekirdeğin dorsomediyal yönünde yerleşmiştir ve bu alan dorsomediyal hipotalamik nükleusla karşılıklı olarak ilişkilidir. VMN'nin nöronları glukozu karşı hassastır ve bazıları glukozu artırarak cevap verir (Conn 2010, Freeman 2010). VMN esas olarak tokluk merkezi olarak bilinmektedir (Guyton&Hall 2013). Besin alımını inhibe etmek için hipotalamus üzerinde rol oynayan leptin için önemli bir hedef bölge olarak tanımlanmıştır. VMN (Pauls ve ark. 1986) veya paraventriküler çekirdekteki (PVN) lezyonlar hiperfaji ve obezite sendromlarına yol açar (Satoh ve ark. 1997).

VMN kan şekerinin düştüğü zaman glukagon salınımını düzenler. Bu bölge yoğun şekilde glukozu duyarlı nöronlar içermektedir (Song ve ark. 2001). VMN lezyonları hiperfaji ile birlikte morbid obeziteye sebep olmaktadır (Hetherington ve Ranson 1942; Satoh ve ark. 1997). Lezyon çalışmaları, farmakolojik ve genetik çalışmalar VMN'nin glukozu duyarlı hipotalamik çekirdek olduğunu göstermiştir.

Örneğin; VMN'ye direk 2-DG (2-deoksi-D-glukoz) enjeksiyonu ile glukagon salınımının indüklendiği bildirilmiştir (Borg ve ark. 1995).

Yeme davranışının tamamlanmasıyla birlikte ortaya çıkan hiperglisemi VMN'yi aktive ederken beslenme merkezini inhibe ettiğine inanılmaktadır (Mayer ve Thoma 1967). Bu alanın elektriksel olarak uyarılması tokluk duygusu oluşturarak, iştah açıcı çoğu gıdanın bile reddedilmesine (afaji) sebep olmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda bu alanın haraplanması ise oburluğa ve aşırı kilo alımına neden olmaktadır (Prino ve O'Rahilly 1997). VMN besin alımıyla uyarıldığında,  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler aracılığıyla tokluk hissi oluşturduğu ve besin alımını durdurduğu, lezyonlarında kilo alımını takiben obezite geliştiği bildirilmiştir (Morley 1987).

VMN' deki nöronlar insülin, leptin ve östrojen reseptörleri içerir ve böylece günlük az sayıda hormonal sinyaller alır, enerji metabolizmasını düzenlemede periferik yağ depolarında kalori depolamayı artırır ya da azaltır (Meguid ve ark. 2000).

## **2.2. Paraventriküler Nükleus (PVN)**

PVN ön hipotalamusta 3. ventrikülün üst bölümüne bitişiktir ve hipotalamusun medial alanının dorsaline yerleşmiştir (Conn MP 2010, Freeman 2010). PVN, kortikotropin salgılayıcı hormon (CRH) ve tiotropin salgılayıcı hormon (TRH) sekresyonunun ana bölümüdür. PVN' de birleşen enerji dengesinde rol oynayan çok sayıda nöronal yollar içerir. PVN, ARC' deki NPY/AgRP ve POMC/CART nöronlarından besin sinyallerini alır. POMC türevi  $\alpha$ -melanosit uyarıcı hormon ( $\alpha$ -MSH) ve iştah uyarıcı peptitler olan oreksinler, galanin, NPY nöronlarının büyük projeksiyonları buradan geçer. Böylece PVN, tiroid ve hipotalamus-hipofiz eksenini de beslenme sinyallerinin entegrasyonunda önemli bir rol oynar (Neary ve ark. 2004). PVN, gastrointestinal sistemden vagal sinir iletilerini alan nükleus traktus solitarius (NTS) gibi beyin sapında birçok bölge ile ters çaprazlamalar yaparak projekte olur (Ruggiero ve ark. 1990).

Leptin etkisiyle anoreksijenik nöronlarda yapımı ve salgısı artan en etkili hormon  $\alpha$ -MSH' dir. Bu nöronların uzantıları hipotalamusta PVN'ye ulaşır ve  $\alpha$ -MSH reseptörü olan melanokortin 4 reseptörünün (MC4R) uyarılmasıyla bir yandan

besin alımı azalırken diğer yandan enerji harcanması artar (Horvath 2005). PVN'deki lezyonlar hiperfaji ve obezite sendromlarına yol açar (Satoh et al., 1997).

PVN'ye, NPY mikroenjeksiyonu besin alımını uyarır (Rossi ve ark. 1998). Glukagon benzeri peptid amid (GLP-1) (Saba ve ark. 1998), galanin (Rasmussen ve ark. 1994), kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript (CART) gibi hipotalamusun mediobazal/ paraventriküler bölgesinde yerleşimli başka pek çok peptid de yiyecek alımının ayarlanmasında yer almaktadır. Yeme davranışı hipotalamusun mediobazal/paraventriküler bölgesindeki nöropeptidlerin karşılıklı ve/veya ortak işlevli etkileşimleri ile ayarlanıyor olabilir (McKeon ve ark. 1987).

### **2.3. Dorsomediyal Nükleus (DMN)**

Dorsomediyal nükleus 1963 yılında Bernardis ve arkadaşları tarafından yapılan elektrofizyolojik lezyon çalışmaları ile hipotalamusta tanımlanmıştır. DMN, diğer medial hipotalamik çekirdek ve lateral hipotalamusla geniş bağlantıları vardır. Bu çekirdek bilgilerin entegrasyonu ve işleme işlevi görür (Elmqvist ve ark. 1998).

Besin alımının sirkadiyen ritim ile düzenlenmesinde önemlidir. DMN, hipotalamusta sirkadiyen ritmi düzenleyen SCN'den sinyaller alır (Saper ve ark. 2005). Dorsomediyal nükleus lezyonlarının hipofaji (az yeme) ile birlikte vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Bernardis ve ark. 1963).

### **2.4. Arkuat Nükleus (ARC)**

Arkuat çekirdek (ARC) 3. ventrikül bitişik ve median eminens yukarısında bulunur (Friedman ve Halaas 1998). ARC hipotalamusun besin alımı, enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve enerji sinyallerinin algılanıp değerlendirilmesinde rol alan enerji çekirdeğidir (Debons ve ark. 1982; Meister ve ark. 1989; Bergen ve ark. 1998; Funahashi ve ark. 2000).

ARC kökenli nöron grupları oreksijenik (besin alımını artıran) ve anoreksijenik (besin alımını azaltan) olarak adlandırılmaktadır. ARC, NPY, AgRP ve iştah baskılayıcı etkisiyle bilinen  $\alpha$ -melanin uyarıcı hormon öncülü proopiomelanokortin (POMC) ifade edilen nöronların popülasyonunu içerir (Valassi ve ark. 2008). Bunlardan NPY/AgRP nöronları oreksijenik etkili iken, POMC/CART nöronları ise anoreksijenik etkilidir.

POMC nöronların uyarılması yiyecek alımını azaltır ve enerji tüketimini artırır. NPY-AgRP nöronların aktif hale getirilmesi yiyecek alımını artırır ve enerji tüketimini azaltır. Bu nöronlar leptin, insülin, kolesistokinin (CCK) ve ghrelin gibi iştah düzenleyen çeşitli hormonların etkileri için başlıca hedeflerdir (Guyton&Hall 2013). Hipotalamusta NPY/AgRP nöronları leptin hormonu tarafından baskılanırken; buna karşın POMC/CART nöronları pozitif uyarılır (Elmqvist ve ark. 1999). NPY/AgRP ve POMC/CART nöronlarının ARC' den hipotalamusun diğer bölgeleri olan PVN, DMN, VMN ve LHA'ya projeksiyon olur (Ahima ve ark. 2000).

Tablo 2.1: Beyinde besin alımını düzenleyen peptitler

Beslenmeyi azaltanlar (anoreksijenikler)	Kaynak bölgesi	Beslenmeyi arttıranlar (oreksijenikler)	Kaynak bölgesi
$\alpha$ - Melanosit uyarıcı hormon ( $\alpha$ -MSH)	PVN	Nöropeptit Y (NPY)	ARC
Leptin	ARC	Agouti ilişkili peptit (AgRP)	ARC, PVN
Kortikotropin salıcı hormon (CRH)	PVN	Melanin-yoğunlaştırıcı hormon (MCH)	LHA
Serotonin	ARC	Oreksin A ve B	LHA
Kolesistokinin (CCK)	PVN	Ghrelin	ARC
Kokain ve amfetamin ilişkili transkript (CART)	ARC	Galanin	ARC, PVN
Proopiomelanokortin (POMC)	ARC		

ARC, arkuat nükleus; PVN, paraventriküler nükleus; LHA, lateral hipotalamik alan (Shioda ve ark. 2008).

## 2.5. Lateral Hipotalamik Alan (LHA)

Hipotalamusun lateral çekirdekleri açlık merkezi olarak görev yapar (Guyton&Hall 2013). LHA hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış glikoz duyarlı nöronlar içeren beslenme merkezidir ve hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış hiperfajide önemli bir rol oynar (Bernardis ve ark.1996).

LHA ve VMN gıda alımı ve enerji metabolizması düzenlenmesinde karşılıklı olarak ilişkilidir. LHA ve VMN besin alımının düzenlenmesinin yanı sıra öğün arası

sık yemek yeme davranışı, besin alımında yemek sayısı ve yemek boyutunun ayarlanmasını da kontrol eder (Meguid ve ark. 1997; Bernardis ve Bellinger 1996).

LHA hücreleri serebral korteks, spinal kord (Funahashi ve ark. 2003) ve beyin sapının otonomik ve motor sistemlerine doğrudan projeksiyon yapar. LHA nöronlarının beslenme davranışını düzenleyen hipokreatin/oreksin ve MCH içeren iki ayrı nöronal hücre grubu vardır. İnsan beyinde ve kemirgenlerde MCH ve oreksinler perifornikal alan, LHA ve zona inserta'da bulunur (Bernardis ve Bellinger 1993).

Nörokimyasal peptitler, ARC ve VMN'de nöronlar boyunca projekte olan besin alımı ve vücut ağırlığını azaltan etkiye yol açan leptinin keşfiyle daha çok dikkat çekmiştir (Baskın ve ark. 1999). Leptin, ARC, VMN ve LHA'dan izole edilmiş basit bir nöronda, sitozolik  $Ca^{+2}$  yoğunluğunu direk olarak etkilemiştir. Leptin glukozaya duyarlı ARC ve LHA nöronlarını inhibe eder ve bu hücrelerde leptin reseptörlerinin artmasıyla glukozaya duyarlı VMN nöronlarını uyarır (Funahashi ve ark. 2003). Açlık durumunda leptin seviyesi hızla düştüğü zaman (Elmqvist ve ark. 1999) ve MCH'nin intraserebroventriküler uygulaması sırasında artmış MCH mRNA seviyeleri besin alımını artırır (Meister 2007). CART gibi peptitlerin LHA'da artması ya da merkeze uygulanması besin alımını azaltır (Elmqvist ve ark. 1999).

Preprooreksin mRNA'sı hipotalamusun özellikle lateral ve posterior hipotalamik alanlarında lokalize olmuştur. Oreksinler LHA'da protein kinaz-C aracılı  $Ca^{+2}$  girişine neden olur, spinal nöronlarda  $Ca^{+2}$  azalmasıyla uyarılır, A10 dopaminerjik nöronlarda  $Ca^{+2}$  artar (Smarta ve Jerman 2002). Ghrelin'e duyarlı LHA'daki oreksin nöronların aracılığıyla ventral tegmental alan (VTA) dopamin hücreleri innerve eder ve ghrelin DA salınımını direk olarak artırır (Abizaïd 2009).

Gastrointestinal alan ve yağ depolarını etkileyen periferik alanlardaki nöroendokrin mediatörlerin değişikliği besin alımının düzenlenmesinde rol oynar. Gastrointestinal sistem içinden gelen vagal lifler NTS ve LHA üzerinden projeksiyonlarla birleşerek ve besin alımı üzerinde birlikte etki gösterirler (Meguid ve ark. 2000).

Kan şekeri düzeyinde meydana gelen bir düşüş gıda alımının başlamasını işaret edebilir. LHA glukopeni aracılığıyla aktive olan glikoza duyarlı nöronlar içerir ve

böylece kısa sürede beslenme ve enerji tüketimde olumlu bir düzenleme yapar. Oreksin nöronlarının hepsi ya da bazıları glikoza duyarlı nöron olabilir ya da glikoza duyarlı nöronlardan uyarıyı projeksiyonları aracılığıyla alabilir (Sakurai ve ark. 1998).

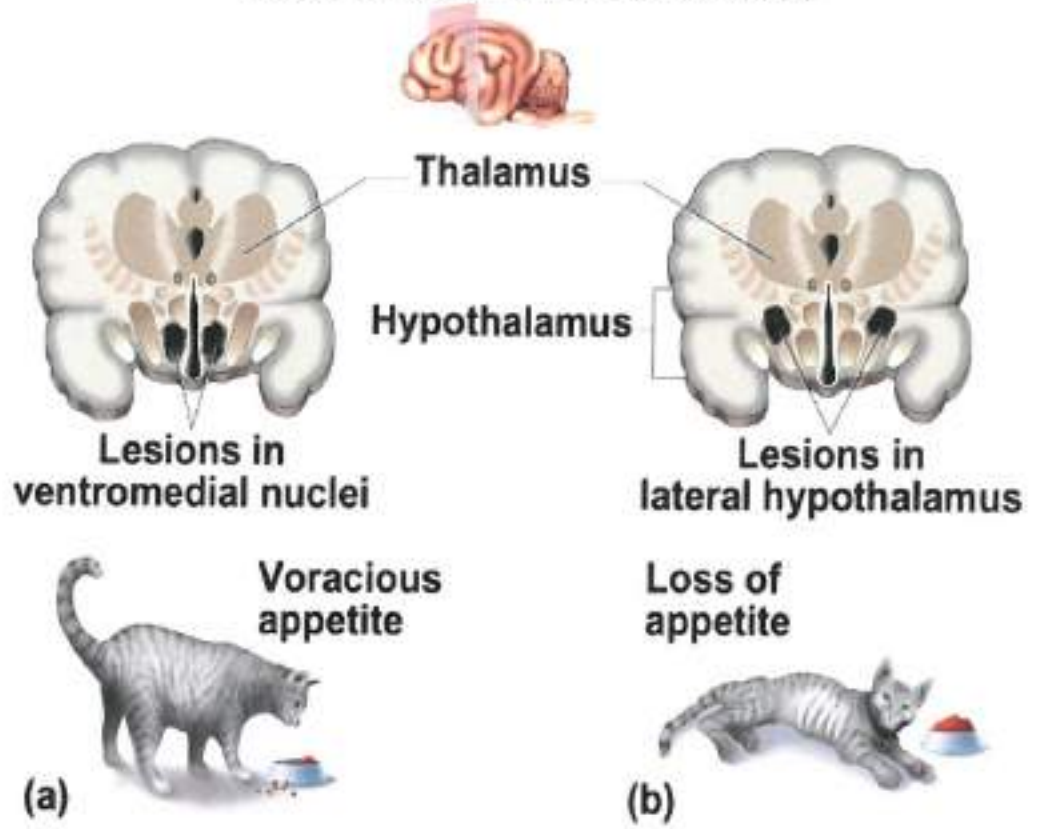
LHA' da katekolaminlerin aracılığıyla besin alımı değişir. LHA' ya doza bağlı NA ve DA uygulanmasıyla sıçanlarda besin alımı artmıştır (Takemasa 1991). Mediyal hipotalamik nükleusdaki NA ve DA salınımındaki artış besin alımını uyarır. Monoamin salınımındaki bu etki özellikle besin alımı, yemek boyutu ve yemek sayısı ile ilgili olan lateral ve mediyal hipotalamik alanlar arasında koordinasyon olduğunu gösterir (Meguid ve ark 2000).

Sıçanlarda da insanlarda olduğu gibi, gıda alımında bir sirkadiyen (günlük) ritim vardır. Sıçanlar yiyeceklerin % 70' den fazlasını karalılık fazda tüketir. Suprakiazmatik çekirdek (SCN) günlük ritim oluşumunda önemli rol oynar (Moore 1983). SCN, VMN içine monosinaptik eferent nöronları gönderir. SCN, VMN' de glukoreseptör nöronları üzerinde eksitatör (uyarıcı) bir etki ortaya çıkarır. SCN, LHA' daki glukoz-duyarlı nöronlar üzerinde multisinaptik engelleyici etkiye sahiptir. Böylece, SCN' nin ışık (aydınlık) uyarısıyla beslenmeyi baskılamaya yol açan VMN' yi uyarır ve LHA aktivesini inhibe eder. SNC gece-gündüz oluşturmada birinci senkronize ajandır. Bilateral SCN lezyonları sonucu sürekli ışığa maruz kalan ratlarda günlük toplam gıda ve su alımını azaldığı için sirkadiyen ritimdeki bozukluk beslenme davranışını etkiler (Peschke ve ark. 2000).

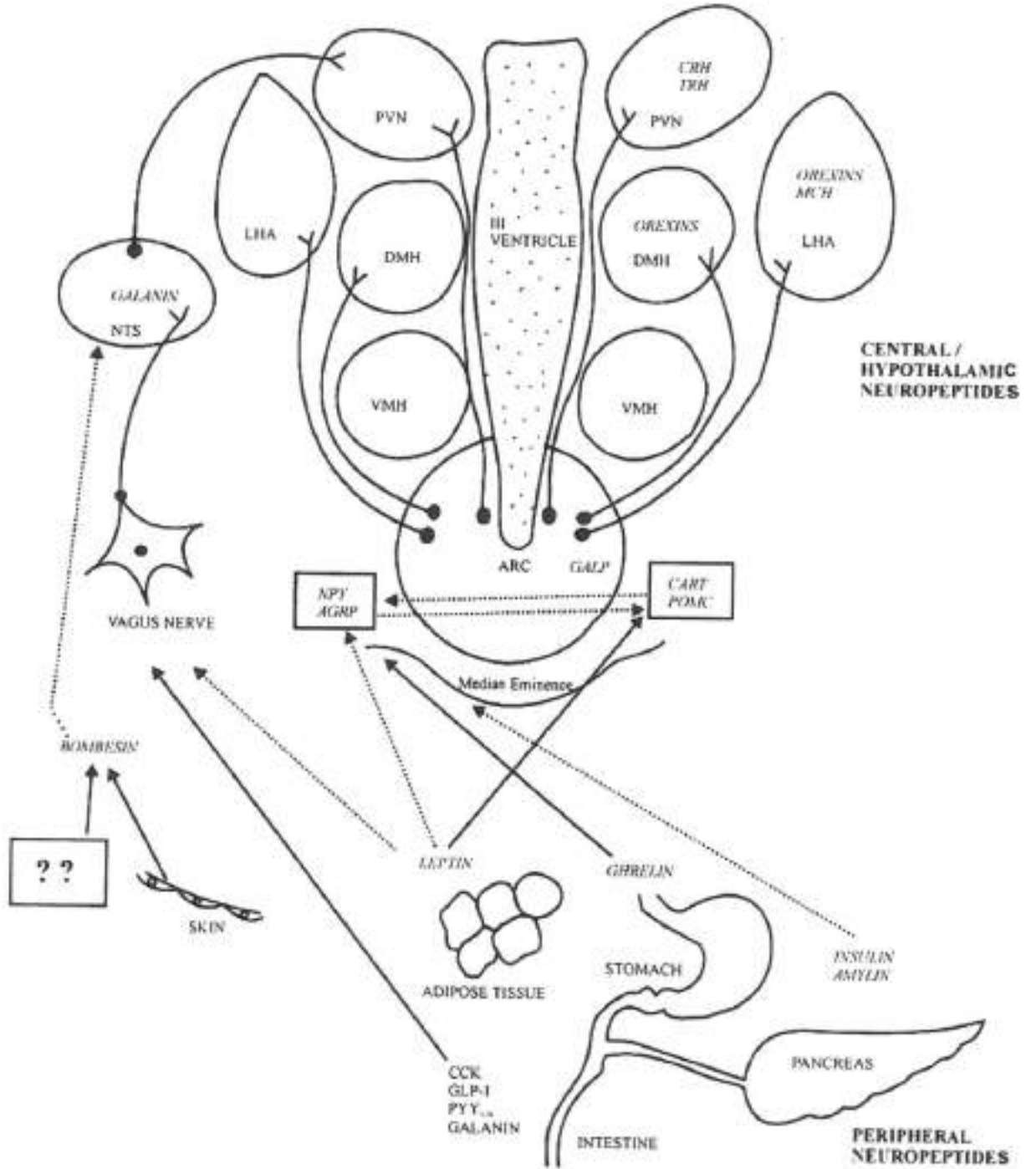
LHA 'daki lezyonlara benzer dopamin genindeki herhangi bir mutasyon ya da eksiklik besin alımını önler. NPY,  $\alpha$ -MSH, AgRP, oreksin ve MCH gibi hipotalamik peptidler nükleus akkumbensdeki dopaminerjik hücrelerin aktivitesini düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. ARC' de leptin ve ghrelin gibi sinyallerden gelen metabolik bilginin nükleus akkumbense direk projeksiyonları aracılığıyla mezolimbik dopaminerjik sistemin etkisini değiştirir. VTA ve nükleus akkumbens projekte olan hipokreatin/oreksin veya MCH hücrelerinin dolaylı aktivasyonu ile değişir. VTA leptin, insülin ve ghreline en az duyarlı alandır ve VTA içinde dopaminerjik hücre aktivesi bu sinyaller aracılığıyla düzenlenebilir. Metabolik sinyaller, besin alımını azaltmak ya da arttırmak için beslenmede motivasyonel yönü olan ödül sistemi ile beraber hareket eder (Abizaid ve Horvath 2008).

LHA ve VMN aynı zamanda beyindeki ödül-ceza merkezidir (Guyton&Hall 2013). Beyindeki ödüllendirme mekanizmasında DA reseptörlerinden D2R aracılık eder. Striatumdaki D2R azlığı prefrontal korteks (PFC), orbitofrontal korteks (OFC) deki metabolik aktivasyon azalmasıyla ilişkilidir. OFC besinlerin fark edilmesi ve dürtülerin kontrolünde rol oynar. OFC'nin fonksiyon gösterememesi sonucunda baskın dürtüleri kontrol edemez ve yiyecek istemedeki hırçın davranışlara sebep olur. İnsanlarda hoşça giden yiyecekleri yemenin, yemekten aldığı zevke göre dorsal striatumba DA seviyesi azalmıştır. Striatumba az sayıda D2R olması hiperfajiye sebep olur. D2R reseptör eksikliği nükleus akkumbensde meydana gelen tatmin duygusunun hassasiyetini azaltır ve bunun sonucunda obez bireyler DA sinyalleri eksikliğiyle baş etmek için daha çok besin tüketmektedir (Volkow ve ark. 2011).

LHA'dan beslenme öncesi ve sonrası mikrodiyaliz yöntemiyle alınan örneklerde toklukla ilişkili DA azalmıştır. DA' nın metabolitleri dihidroksifenilasetikasit (DOPAC) ve homovanilik asit (HVA) artmıştır (Bernardis ve Bellinger 1996).



Şekil 2.1. Lateral hipotalamik alandaki lezyon afaji ve kilo kaybına neden olur. Ventromediyal çekirdekdeki lezyon hiperfaji ve obeziteye neden olur. (<http://www.oytunerbas.com.tr/wpcontent/uploads/2014/05/H%2525C4%2525Hıpotalamus1.jpg&imgrefurl> (22.07.2015)).



**Şekil 2.2:** Çeşitli iştah düzenleyici nöropeptitler, onların merkezleri ve etki alanları arasındaki ilişki; Hipotalamusun koronal bölümünde görüldüğü gibi diyagramın üst kısmı iştah düzenlenmesinde rol oynayan hipotalamik çekirdeklerin yerini gösterir. Diyagramın altı periferik organlar ve bunlardan salınan nöropeptitleri göstermektedir. Kısaltmalar: PVN- Paraventriküler çekirdek, LHA- Lateral Hipotalamik Alan, DMH- Dorsamediyal hipotalamus, VMH- Ventromediyal hipotalamus, ARC- Arkuat çekirdek, NTS- Traktus Solitarius çekirdek (Arora 2006).

## **2.6. Oreksijenik Moleküller**

### **2.6.1. Nöropeptit Y (NPY)**

NPY, 1982 yılında ilk defa domuz beyinde Tatemoto ve Mutt tarafından keşfedilmiş 36 aminoasit içeren ve merkezi sinir sisteminde üretilen nörotransmitterdir (Williams ve ark. 2000). NPY; hipokampus, amigdala, hipotalamusun 3. ventriküle komşu kısmında yerleşen ARC, PVN, SCN, median eminens (ME), VMN ve LHA bölgelerine de yerleşmişlerdir (White ve Kershaw 1990, Rossi ve ark. 1998; Schwartz ve ark. 2000). ARC' de NPY nöronları hipotalamusun PVN, LHA bölgelerine projeksiyon olur (Inui 2000).

NPY, G protein eşikli reseptörlerin aracılığı ile birçok sinyal yollarında işlev göstermektedir. NPY' nin G-proteinine bağlı altı tane reseptörü vardır; Y1, Y2, Y3, Y4, Y5 ve Y6. Tüm bu reseptörler G proteinine bağlanıp adenil siklazı inhibe ederler (Aramakis ve ark.1996, O'Shea D ve ark. Gehlert 2004). NPY1 ve NPY5 reseptörleri iştah uyarımı ile ilişkilidir (Conn 2010). Oysa NPY2 ve NPY4 reseptörleri iştahın baskılanmasına yol açar (Kaye ve ark. 1990). NPY'nin besin alımını teşvik etmek için bağlandığı Y5 reseptörleri diğer alanlara göre LHA' da yüksek seviyelerde bulunur (Williams ve ark. 2000).

NPY besin alımını uyaran güçlü bir oreksijenik peptittir. Deneysel hayvanlarında kronik uygulanması hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile beraber obeziteye yol açmaktadır (Conn 2010). NPY'nin santral yolla uygulanması besin alınmasını artırırken, endojen NPY düzeylerindeki azalma ise besin alımını azaltmaktadır (Inui A. 1999). Bu bulgular, endojen NPY' nin beslenme davranışı üzerindeki düzenleyici rolünü göstermektedir (Bivens ve ark. 1998).

### **2.6.2. Agouti İlişkili Peptit (AgRP)**

AgRP, beslenme ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan 132 amino asitli oreksijenik bir peptittir (Arora 2006). AgRP sadece beyinde hipotalamusun ARC' sinden salınır ve AgRP üreten nöronların tümü NPY ile birlikte salgılanır. Çeşitli hipotalamik alanlara; PVN, DMN ve LHA projekte olur (Rossi ve ark. 1998; Arora 2006). Hipotalamusta AgRP besin alımı ve besin arama davranışında ARC' de önemli bir işleve sahiptir (Flier 2006). Leptin AgRP' nin salınımını engeller. AgRP

enerji dengesi kontrolünü içeren melanokortin reseptörlerin (MC-3 ve MC-4) etkili bir antagonistidir ve besin alımını etkiler (Arora 2006; Valassi ve ark. 2008). AgRP miktarının artmasının obeziteye neden olduğu gösterilmiştir (Graham ve ark. 1997).

### 2.6.3. Ghrelin

Ghrelin öncelikle büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHSR) için endojen ligand olarak tespit edilmiş olan, midenin enteroendokrininden (Wren ve ark. 2001; Lee ve ark 2002) salınan 28 aminoasitli oreksijenik bir peptittir ( Kojima 1999; Valassi ve ark. 2008). Ghrelin hipotalamusta LHA, ARC, VMN, DMN ve PVN arasında bulunan bir takım nöronlardan salınır. Hipotalamustaki bu bölge, SCN'den gelen uzantılarla içiçe girer (Horvath ve ark. 2001).

Ghrelin ayrıca plasenta, böbrek, kalp, tiroid ve leyding hücrelerinden sentezlenmektedir. GHSR ve oreksijenik etkiler, adrenokortikotropik hormonun (ACTH) kontrolünde prolaktin sekresyonu, glukoz ve lipit metabolizması, gastrik motilite asit sekresyonu, kalp fonksiyonu, uyku ve üremede dikkat çekici rol oynar (Valassi ve ark. 2008).

Ghrelin hormonunun, hem insanda hem de bazı kemirgenlerde beslenme davranışının büyük bir düzenleyicisi olduğu ortaya konmuştur. İştah açıcı etkisini hipotalamusta ARC' de bulunan NPY ve AgRP üzerinden yapar (Kojima ve ark. 1999).

Ghrelin hormonun plazmadaki seviyesi açlık anında artarken, yemek sonrası zamanlarda azalma gösterir. Dolayısıyla ghrelin iştah artırıcı veya besin alımını tetikleyici hormon olarak gösterilmektedir. Ghrelinin diğer fizyolojik etkilerinde olduğu gibi, iştah artırıcı etkisinde de GHSR'leri kullanmaktadır. Hormon, bu iştah artırıcı etkisini hipotalamusta bulunan NPY molekülü aracılığı ile gerçekleştirmektedir. GHSR, hipotalamus-hipofiz bölgesinde özellikle NPY ve GHRH nöronlarının üzerinde yer alır. Ghrelinin etkisi, leptine zıt bir şekilde POMC nöronlarını engelleme ve NPY/AGRP yollarının geliştirilmesine yöneliktir (Valassi ve ark. 2008).

Kemirgenlerde sürekli ghrelin verilmesi, azalmış lipit oksidasyonunun bir sonucu olarak vücut ağırlığı ve yağ kütlesinde artışa sebep olur. Ghrelin

antagonistleri obezitede yağ kütlesini azaltmak ve besin alımını sınırlandırmak için kullanılır (Valassi ve ark. 2008). İnsanlarda ghrelinin fizyolojik dozlarda intravenöz infüzyonu açlığa ve besin alımında kısa süreli artışa neden olur. Ghrelin dolaşımında yemek öncesi hemen hemen iki kat artar ve yemek sonrası hızla düşer (Kojima ve ark. 1999).

#### 2.6.4. Oreksin A ve B

1998'de oreksinin öncü iki peptidi olan oreksin A (OXA) ve oreksin B (OXB) tanımlanmıştır. 33 ve 28 amino asit uzunluğundaki bu iki küçük peptid olan oreksin A ve B, Hipokretin 1 ve 2 olarak da adlandırılır ve preprooreksin adlı aynı öncül proteinden köken alırlar (Sakurai 1998 ; Arora 2006). Oreksinler etkilerini OX1R ve OX2R adlı G protein-bağlı reseptörler aracılığıyla gösterir (Arora 2006; Nicholls ve ark. 2012). Aç bırakılan sıçanlarda hipotalamustaki oreksin reseptörlerinin Gq, Gs ve Go proteinleriyle eşleşmeleri artarken, Gi ile eşleşmelerini azaltmaktadır (Karteris ve ark. 2005).

OXA birçok belirgin oreksijenik etkiyi OXB ile birleşerek ortaya çıkarır. PFA, LHA ve DMN nöronları, NTS dahil hipotalamik alan ve hipotalamik çekirdek bitişiğindeki projeksiyonlarla ifade edilmiştir (Arora 2006; Gareth ve ark. 2000). Bu reseptörler özgül olarak LHA etrafında lokalize olan nöronlarda eksprese edilmektedirler (Alsobrook ve ark. 1999). Preprooreksin en yoğun olarak lateral ve posterior hipotalamusta bulunmaktadır (Smart 1999). Aç kalmada preprooreksin, oreksin A ve B mRNA miktarlarını artırmaktadır. Oreksin-A'nın intraserebroventriküler (icv) enjeksiyonu ya da LHA'ya uygulanması besin alımında hızlı bir artışa neden olur (Williams ve ark. 2000). LHA'da preprooreksin eksprese eden nöronların, korteksten omuriliğin üst kısmına kadar geniş bir alanda projeksiyonları bulunmaktadır. Bu projeksiyonlar hipotalamus ve diğer yapıların beslenme ile ilgili düzenlemelere katılımını sağlar. ARC ve NTS bu alanlardan bazılarıdır. NTS bağırsaktan vagal yolla gelen afferent uyarıları alır ve LHA'ya iletir (Cai ve ark. 2002).

LHA'nın besin alımıyla ilgili beynin çok değişik yerleri ile karşılıklı ilişkide olması yeme davranışı ile ilgili bilgilerin toplandığı yer olarak gösterilmesini sağlar. Bu nedenle memelilerin LHA nöronlarının tahribi hipofaji ile sonuçlanarak yeme

davranışı dengesini sağlayan nöronal yolları bozar. Oreksin sinir sonlanmalarının hipotalamusta ARC ve PVN' de gözlenmesi, yeme davranışının ayarlanmasının bu bölgelerde de olduğunu düşündürmektedir. Oreksin sinir sonlanmaları hipotalamus dışında serebral kortekste talamusun mediyal yapılarında, sirkumventriküler organlarda (subfornikal organ ve area postrema), limbik sistem (hipokampus, amigdala, septum, indusium griseum) ve beyin sapında (LC ve raphe nükleusu) görülmektedir (Valassi ve ark. 2008).

Karanlık dönemin aksine aydınlık dönemde intraserebroventriküler yolla verilen tek bir OXA enjeksiyonu beslenmeyi artırmaktadır. Bu da oreksin duyarlılığının günlük değişimlerden etkilendiğini gösterir. Benzer şekilde, ratlarda 8 günlük kronik OXA verilmesi gündüz besin alımını artırırken, gece besin alımını azaltarak, toplamda besin alımı ve vücut ağırlığının aynı kalmasını sağlar. Obez hastalarda iştah azaltmak için OXA antagonistleri olası kullanımı üzerine çalışmalar sürdürülmektedir. Antagonistlerin merkeze verilmesi ratlarda beslenmeyi azaltmış ve tokluk duygusunun oluşumunu hızlandırmıştır (Valassi ve ark. 2008).

Oreksijenik nöronlar kan glukozu düştüğünde ve mide boşaldığında uyarılmaktadır. İnsüline veya besin kısıtlamasına bağlı gelişen hipoglisemide hipotalamik preprooreksinin mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Glukoza duyarlı sinirlerin hipoglisemiye bağlı beslenmeye aracılık ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Bir elektrofizyolojik çalışmada, düşük glukozla veya yüksek glukozla uyarılan glukoza duyarlı sinirlerden bazılarının oreksijenik sinirlerle sinaps yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca OXA'nın LHA' daki glukoza duyarlı sinirleri uyardığı, VMN' deki glukoza duyarlı sinirleri ise baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle hipogliseminin kısmen, oreksijenik sinirleri aktive ederek beslenmeyi uyardığı iddia edilmektedir (Gültekin ve Şahin 2005).

Ayrıca oreksin nöronlarının %30'u insulinin oluşturduğu hipoglisemi ile aktive olması, plazma glukoz seviyesinin oreksin nöronlarının aktivitesini etkilediğini göstermektedir (Williams ve ark. 2000). Oreksin peptitler ve onların reseptörleri enerji, homeostazis ve besim alımının düzenlenmesinin yanısıra nöroendokrin, sıcaklık kontrolü ve kardiyovasküler mekanizmalar da dahil olmak üzere çeşitli düzenleyici sistemlerde rol oynayabilir (Sakurai ve ark. 1998; Sutcliffe DeLecea 2000; Hervieu ve ark. 2001).

### 2.6.5. Melanin-Yoğunlaştırıcı Hormon (MCH)

MCH 19 aminoasit içeren siklik yapıda bir nöropeptittir. MCH içeren nöronların hücre gövdeleri esasen beslenme merkezi olarak bilinen LHA ve zona insertadan çıkar. Beyinde MCH sinyallerinin G proteine bağlı melanin yoğunlaştırıcı hormon 1 reseptör (MCH-1R) ve melanin yoğunlaştırıcı hormon 2 reseptör (MCH-2R) olarak adlandırılan iki tip reseptörü vardır. Bu reseptörler özellikle beyin bölgelerinden hipokampus, amigdala ve serebral kortekste yaygın bir şekilde projekte olur (Arora 2006).

Ratlarda MCH' in infüzyonuyla önemli bir hiperfaji başlar ve vücut ağırlığı artar. MCH zarar verilmiş rat, enerji harcama ve lokomotif aktive artması nedeniyle diyet ile uyarılmış obezite için dirençlidir. Ob/Ob leptin eksik farelerde MCH mRNA seviyeleri ve besin alımı artmıştır. Leptinin verilmesi MCH ekspresyonunu azaltır ve böylece besin alımı azalır ( Valassi ve ark. 2008).

## 2.7. Anoreksijenik Moleküller

### 2.7.1. Leptin

1994 yılında Friedman ve ekibi tarafından keşfedilen leptin 16 kDa ağırlığında polipeptid bir hormondur (Zhang ve ark. 1994). İlk çalışmalarda beyaz yağ dokudan sentezlendiği düşünülürken; bugün plasenta, iskelet kası, mide, memeli epitel hücreleri ve ön hipofizden de sentezlendiği bulunmuştur (Arora 2006; Galic ve ark. 2010).

Leptinin vücuttaki başlıca rolü; beyin (özellikle hipotalamus) üzerine "negatif feedback" etki ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir (Pellemounter ve ark. 1995). Ayrıca metabolizmanın düzenlenmesi ve vücut ağırlığının korunması (Robert ve ark. 2011), cinsel gelişim ve üreme (Magni ve ark. 1999), gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi (Bado ve ark. 1998), sempatik sinir sistemi aktivasyonu (Pellemounter ve ark. 1995) gibi çok önemli rolleri olduğu saptanmıştır.

Leptin vücut yağ kütlesi ile orantılı olarak dolaşımda bulunur ve santral sinir sistemine de plazma seviyesine orantılı olarak geçer (Valassi 2008). Leptin reseptörleri, uzun reseptörler (OB-Rb) ve kısa reseptörler (OB-Ra) olmak üzere iki

gruba ayrılmıştır (Frühbeck 2006). OB-Rb çoğunlukla hipotalamusun ARC, PVN, DMN ve LHA' da bulunur ve beslenme üzerinde önemli bir görevi vardır (Arora 2006).

Yağ dokusunun miktarı arttığında, yağ hücreleri leptin yapımını artırır, kana geçen leptin beyne gider, kan-beyin bariyerini kolaylaştırılmış difüzyonla geçer ve hipotalamusta çeşitli bölgelerde özellikle ARC ve PVN' nin POMC nöronlarında OB-Rb'ye bağlanır. Bu hipotalamik çekirdeklerde OB-Rb'nin uyarılması yağ depolanmasını azaltan çeşitli etkileri başlatır. Leptin enerji alımı veya harcanmasını, nöroendokrin fonksiyonu düzenleyen birkaç nöropeptidin ifadesini değiştirmek için hipotalamustaki spesifik reseptörlerine bağlanarak düzenler (Marik 2000). Leptin ARC' de bulunan iki önemli nöronu direk olarak etkiler: Besin alımını azaltan anoreksijenik CART/POMC ve besin alımını arttıran oreksijenik NPY/AgRP nöropeptitlerini etkiler. Leptin açlıkta CART/POMC nöronlarını baskılar ve NPY/AgRP ekspresyonunu tekrar artırır (Lewis ve ark. 1993).

Leptin ayrıca, enerji dengesindeki değişikliklere göre kısa süreli enerji alımını ve yemek boyutunun modülasyonunu düzenleyebilir. Negatif enerji dengesiyle düşük leptin sinyali enerji tüketiminde azalma ve yemek boyutunda artma ile POMC/CART nöronlarının etkisini engeller ve NPY/AgRP salınımını artırır, anabolik döngüyü aktive eder ve katabolik döngüyü engeller. Leptin ya da leptin reseptörünün genetik yokluğu hiperfaji ve birçok obezite türü ile ilişkilidir (Valassi 2008).

Leptin aynı zamanda beyindeki NA projeksiyonları ile birleşerek besin alımını azaltabilir. Leptin aktivitesi ve NA arasında ters bir ilişki ortaya çıkar. Artan leptin yemek yeme davranışını bastırmak için NA aktivitesini azaltır, halbuki leptinin yokluğunda NA salınımında artış sonucunda besin alımı da artar. Brunetti ve arkadaşları leptinin azalmasıyla fare sinaptozomundan NA ve DA salınımının uyarıldığını yazmıştır. Leptinin lateral ventriküle verilmesi, nükleus akkübensde DA salınımında önemli bir azalmaya yol açmaktadır (Krügel ve ark. 2003). Leptin üreten gen eksikliği olan obez (ob/ob) farelerin hipotalamusunda NA seviyelerinde artış gözlenmiştir (Paul ve Wellman 2000).

### 2.7.2. Proopiomelanokortin (POMC)

POMC enerji dengesinin esas düzenleyicisi  $\alpha$ -MSH içeren birkaç molekülün öncüsüdür. Melanokortinin anoreksijenik etkisini beyinde ve özellikle ARC' de çok görülen MC3R ve MC4R denilen iki reseptörle gösterir (Arora 2006). Bu reseptörler hipotalamusun DMN, LHA, ARC' sinde yoğun bulunur (Roselli-Reh fuss ve ark.1993).

Ratlarda istemsiz aşırı yemek yeme davranışı nedeniyle vücut ağırlığında %5' ten fazla artış POMC ekspresyonunun arttığını gösterir. Anoreksijenik sinyalleşmenin bir aracı olarak melanokortinerjik sistemin anahtar rolü, yeme hastalığının tedavisi için agonist ya da antagonist moleküllerin deneylerde kullanımınıdır. Bu moleküllerin uzun süreli anoreksijenik etkilerinden dolayı MC4R analogları antiobezite ilaçları olarak uygun adaylardır (Arora 2006).

### 2.7.3. Kokain Amfetamin İlişkili Peptit (CART)

CART anoreksijenik etki gösteren 102 aminoasitten oluşmuş nispeten yeni bir nöropeptittir (Arora 2006). CART peptitleri PVN, DMN, ARC, LHA ve perifornikal bölgeler de dahil olmak üzere hipotalamusun belirli alanlarında lokalize olmuştur.

PVN' deki CART mRNA'sı vazopressin ve kortikotropin salgılatıcı faktör içeren nöronlar ile kontrol edilir. CART' ın iev doza bağlı verilisinin besin alımını belirgin şekilde azalttığı tespit edilmiştir (Valassi ve ark. 2008). ARC' de CART nöronları POMC nöronları ile neredeyse tamamen beraber bulunur (Stanley ve ark. 2001; Zheng ve ark. 2002). Aç bırakılan hayvanlarda ARC' de CART mRNA'sında bir azalma söz konusudur (Arora ve ark. 2006).

### 2.7.4. Kolesistokinin (CCK)

Mide bağırsak sisteminde ve beyinde bulunan önemli bir endojen peptittir (Arora 2006). Kolesistokinin pankreas salgılanması ve uyarılması, safra kesesi kasılması, bağırsak motilitesi, hafıza geliştirme ve gastrik motilite engelleme gibi birçok fizyolojik fonksiyonlarda önemli rol oynar (Morley 1982; Moran ve Schwartz 1994; Morgan 2000; Morgan 2004). CCK reseptörleri G-proteini ile bağlanmış reseptörlerdir (Valassi 2008).

CCK vagal afferent nöronlar üzerinde bulunan CCK-A reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla gıda alımı üzerine doğrudan etkisi vardır. Ayrıca, endojen CCK farklı türlerde besinin alımındaki yemek boyutunu azaltır (Arora 2006; Valassi 2008). Nitekim CCK-33' ün intravenöz infüzyonu insanda tek bir gıda öğünü boyutunu azaltmasının yanısıra, yemekten sonra açlık derecesini de azaltmıştır (Valassi 2008).

### **2.7.5. Glukagon- Benzeri Peptid-1 (GLP-1)**

GLP-1 gıda alımına yanıt olarak salınan diğer bir bağırsak hormonudur. Glukagon salgılanmasını bastırır ve mide boşalmasını geciktirirken, glukoz kaynaklı insülin sentez ve sekresyonunun uyarımını artırır (Arora 2006). Ayrıca, glukagon infüzyonu ratlarda besin alımı ve vücut ağırlığını azaltır. Preproglukagon geni sentezleme NTS, beyin sapı çekirdeğindeki nöronlar ve pankreas  $\alpha$ -hücreleri, bağırsak L hücreleri ile sınırlıdır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda istenildiği kadar kalori alımında hem zayıflarda hem de obez kişilerde GLP-1 miktarı doza bağlı anlamlı bir azalma göstermiştir. Sağlıklı gönüllülerde uzun süreli etkili GLP' nin agonisti eksendin-4' ün intravenöz infüzyonu açlık ve yemek sonrasında glikoz seviyesini düşürmesinin yanısıra, günlük yemek alımında %21 bir azalma göstermiştir. Bilinen oral antidiyabetik ilaçlarla tip 2 diyabetes mellitus tedavisi yapılan hastalarda glisemik kontrolü iyileştirmek için birleşik tedavi olarak piyasada mevcuttur (Valassi ve ark. 2008).

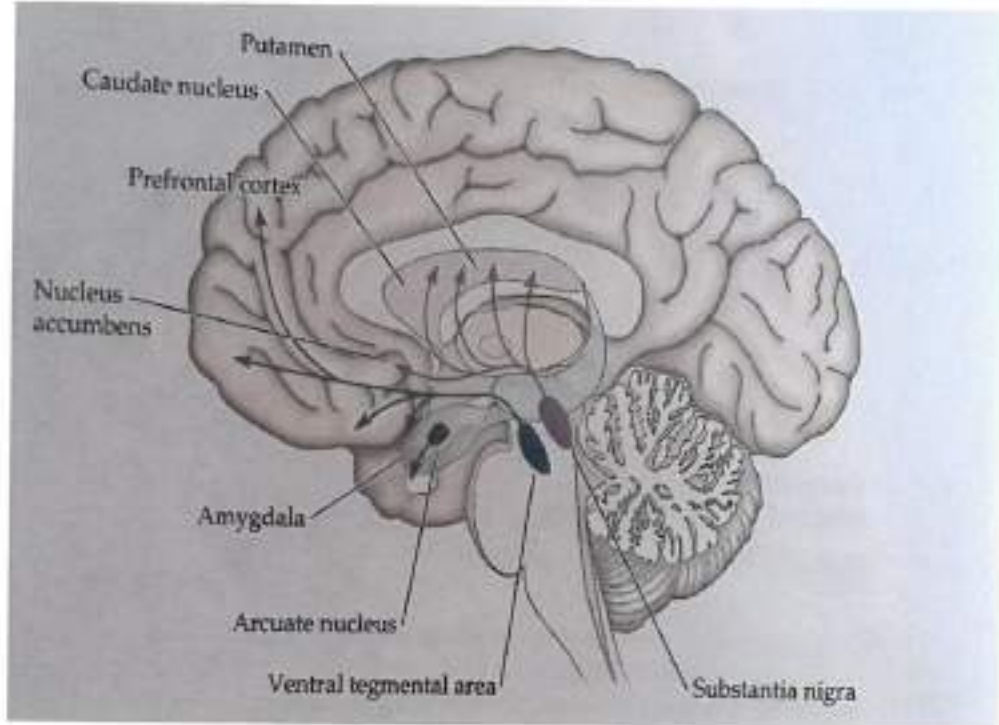
## **2.8. Beyindeki Katekolaminerjik Sistemler**

### **2.8.1. Dopaminerjik Sistem**

DA, tirozin hidroksilaz (TH) ve aromatik L-aminoasit dekarboksilazın ardışık etkisi aracılığıyla L-tirozinden sentezlenen bir katekolamindir. DA, DA-hidroksilaz aracılığıyla NA'ya, monoamin oksidaz B (MAO-B) ve katekol-O-metil transferaz (COMT) aracılığıyla homovanilik asite (HVA) metabolize edilir (Trillo ve ark., 2013).

DA içeren nöronlar başlıca orta beyinde bulunur. DA'nın orta beyinde bulunduğu alanlar A8, A9, A10 alanları olarak belirlenmiştir. A8, retrorubral alana;

A9, substansiya nigraya (SN) ve A10 ise VTA'ya karşılık gelmektedir. Her alan farklı beyin bölgelerini projekte eder ve farklı işlevleri bulunmaktadır (Martorana ve Koch, 2014). Bu çekirdeklerden köken alan dopaminerjik nöronlar birlikte mezensefalik dopaminerjik sistemi oluşturur. Dopaminerjik yolak nigrostriatal, mezolimbik ve mezokortikal olmak üzere üç alt sisteme bölünmüştür. A9, striatumu hedefleyen asendan dopaminerjik terminallerin (kaudat-putamen) istemli hareketlerde kritik bir rolü olan nigrostriatal yolu oluşturmasına neden olur. Grup A10, klasik olarak ödül ile ilişkili olan medial PFC'yi içeren kortikal ve limbik bölgeleri (nucleus accumbens) projekte eden mezolimbik ve mezokortikal yolların kaynağıdır. Orta beyin DA-erjik nöronların bir alt kümesi cezaya karşı ödül kazandıracak bir eylem seçmeye yardımcı olan ödül odaklı davranışlarda merkezi bir rol oynar (Trillo ve ark., 2013).



Şekil 2.3: Dopamin içeren nöronlar hipotalamus ve orta beyindeki nükleuslarda bulunur (Nicholls ve ark. 2012).

### 2.8.2. Dopamin Reseptörleri

Dopaminerjik reseptörler G protein bağlı reseptör ailesindedir (GPCR) ve motivasyon, kognisyon, öğrenme gibi pek çok nörolojik süreçlere katılmaktadır. D1 benzeri ve D2 benzeri olmak üzere iki farklı sınıf dopamin reseptörü ve bunların da

D1, D2, D3, D4, D5 olmak üzere 5 alt birimi vardır (Xu ve ark. 2012). D-1 benzeri reseptörlerin iki alt tipi vardır: D1 ve D5 reseptörleri. D1 reseptörleri, beyin substansiya nigra, striatum, nükleus akkumbens ve olfaktor tüberkül gibi dopaminden zengin bölümlerinde yüksek düzeylerde bulunur. D5 reseptörleri; hipokampus, talamus ve serebral kortekste düşük düzeylerde bulunmaktadır (Hall ve ark. 1994; Joyce ve Muray 1994).

D2-benzeri reseptörler D2, D3 ve D4 reseptör alt tiplerinden oluşmaktadır. D2 reseptörleri özellikle striatum ve nükleus akkumbens gibi dopaminden zengin beyin bölgelerinde yüksek düzeyde bulunur (Hall ve ark. 1996). Buna karşın D3 reseptörleri nükleus akkumbens, olfaktor tüberkül ve serebral kortekste yer alır. D4 reseptörleri ise amigdala, hipokampus, hipotalamus ve frontal kortekste dağılım gösterir (Tupala ve Tiihonen 2004).

### **2.8.3. Dopaminin Besin Alımı Üzerine Etkisi**

Dopamin besin alımının düzenlenmesinde (Meister 2007), tatmin ve istek duygusunu düzenleyen en önemli nörotransmitterdir. DA'nın besin alımı üzerindeki etkisi, yemek yeme istek duygusunu oluşturmakla ilişkilidir. İnsan kendi bireysel yemek isteme oranıyla ilişkili olarak DA salınımı tetiklenir. DA aynı zamanda besinleri temin etmek ve tüketmek için gerekli olan davranışları ortaya koyma ile de alakalıdır (Michael ve ark. 2000). Mezo limbik yolda dopaminerjik nöronlar VTA'dan köken alır. Ventral striatum, hipokampus, amigdala arasında projekte olur ve haz duygusu, motivasyon, ödül, istek duygusu ile ilişkilidir (Nora ve ark 2011). Dopamin salınımının besin alımı düzenlenmesinde nükleus akkumbens gibi belli bir alana özgü etkiye sahip olduğu görünüyor ve onun bu etkisi beslenmeyi teşvik ile ilişkilidir. Hipotalamusta dopamin salınımı beslenme modeli belirlemede bir faktör olan öğün tüketiminin uzunluğuyla ilişkilidir. Bu yüzden dopamin öğün başlatmak için gereklidir ve öğün sayısı, süresi ve miktarı ile ilişkilidir ( Meguid ve ark. 2000; Michael ve ark. 2000 ).

DA nöronları algısal (insula ya da tad alma korteksi), homeostatik (hipotalamus), tatmin (NAc), duygusal (amigdala ve hipokampus) ve çok şekilli (OFC) bölgelerle ilgili yaygın glutamaterjik iletenlerin projeksiyonunu ödüllere ve şartlı ipuçlarına göre düzenlerler (Geisler ve Wise 2008). Özellikle, DA nöronlarının

amigdala ve OFC'den NAc'ye giden projeksiyonları yiyeceklere verilen şartlı tepkilerle ilişkilendirilmiştir. Bu DA nöronları striatum, limbik bölgelere ve açlık merkezi olan LHA' ya projekte olur (Nora ve ark 2011). Tirozin hidroksilaz geni olmayan farelerde dopamin üretimi olmaz, bunun sonucunda beslenmenin başlaması için bir yetersizliğe neden olur. Bu yetersizlik striatum içine tirozin hidroksilaz enzim gen aktarımı ile dopaminin sentezlenmesiyle düzenlenebilir (Michael ve ark. 2000).

#### **2.8.4. Noradrenerjik Sistem**

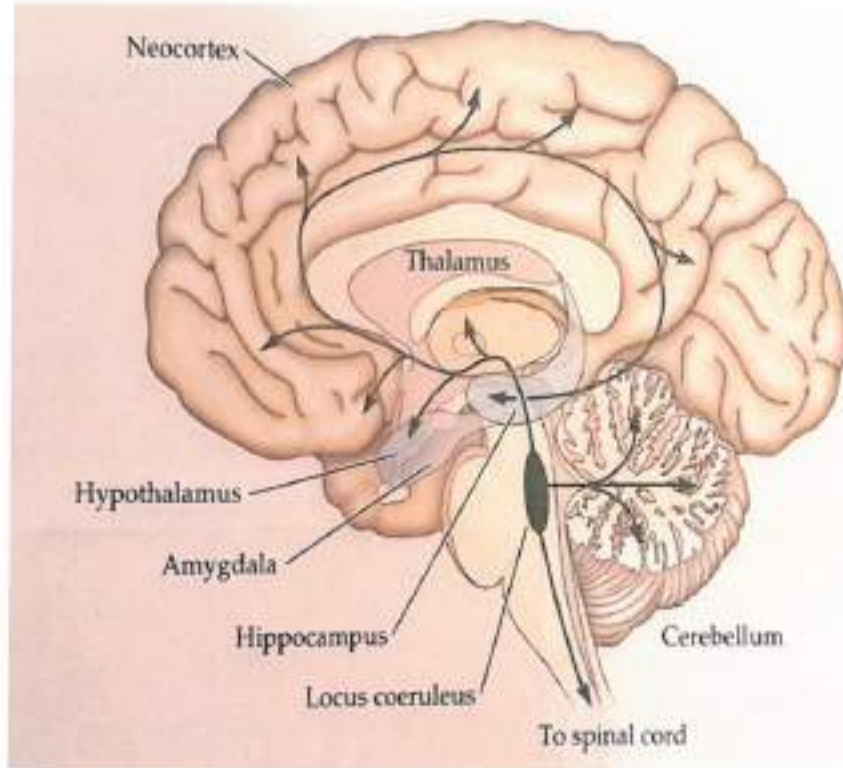
NA, dopamin  $\beta$  hidroksilaz (DBH) aracılığıyla DA' dan üretilir ve MAO-A ve COMT'un dahil olduğu çeşitli yollar aracılığıyla vanilmandelik asit (VMA) ve 3-metoksi-4-hidroksifenilglükole (MHPG) metabolize edilir (Trillo ve ark., 2013).

Lokus seruleus (LC), pons ve mezensefalon arasındaki kavşakta çift taraflı olarak bulunan ve arkaya doğru yerleşim gösteren küçük bir alandır (Guyton&Hall 2013). Beyindeki noradrenerjik hücreler LC'de, periakuaduktal gri alan (A6), nükleus subseruleusdaki dağınık hücreler, LC'nin subependimal uzantısı (A4), paragigantosellüler nükleus (A5) ve lateral lemniskusun ventral nükleusunda (A7) bulunur (Trillo ve ark., 2013). Noradrenerjik sistemden çıkan liflerin çoğunluğu LC'de başlar. LC A6 hücre grupları ve kaudal A4 hücreler; neokorteks, hipokampus, talamus, striatum, bazal ön beyin, preoptik alan ve hipotalamusu innerve eder (Paul ve Wellman 2000).

LC, NA'nın beyindeki ana kaynağıdır. Sinaptik ve ekstrasinaptik olarak bazıları dorsal noradrenerjik demetten (DNB) hipotalamusa doğru yönelir ve periformikal/ medial LHA'yı innerve eder. Ventral noradrenerjik demetler A5, A7 ve A1 hücre gruplarından oluşmaktadır ve bu nöronlar VMN'yi innerve eder. Bu ventral noradrenerjik demetlerin (VNB) kimyasal lezyonları fazla yemek yeme ve obeziteyle sonuçlanır (Paul ve Wellman 2000). Hipokampus LC'den gelen noradrenerjik innervasyonu alan bölgedir (Szot, 2014). LC'den çıkan nöronlar, hipokampusa 3 yol aracılığıyla ulaşmaktadır. Bunlar; bütün hipokampusu innerve eden ventral amigdaloid demet, ventral dentat girus (DG), amon boynuzunun moleküler tabakası lakunosum ve subikulumdan hipokampusa ulaşan singulum demet, DG'nin hilusunu ve CA3 alanını innerve eden fimbria-fornikstir. DG'de noradrenerjik terminaller, en

yüksek sayıda moleküler tabaka tarafından takip edilen hilusta bulunmaktadır (Oleskevich ve ark. 1989).

NA sistemi dikkat, stres, öğrenme gibi davranışsal yanıtlar ve besin alımının düzenlenmesinde (Paul ve Wellman 2000) önemli rol oynamaktadır (Trillo ve ark., 2013). NA'nın in vitro ortamda oksidatif stresi azaltarak kolinerjik (Traver ve ark. 2005) ve dopaminerjik nöronları (Troadeç ve ark., 2001) koruduğu gösterilmiştir. NA ayrıca beyinde hem dopamin hem glutamat salınımını stimule etmektedir (Robertson, 2012).



**Şekil 2.4:** Lokus seruleus'da (LC) NA içeren nöronların projeksiyonları. LC dördüncü ventrikül altında ponda bulunur. LC' den çıkan nöronlar beyin ve omuriliğin yaygın bölgelerini innerve eder (Nicholls ve ark. 2012).

### 2.8.5. Adrenerjik Reseptörler

Adrenerjik reseptörler noradrenalin ve adrenalin gibi katekolaminlere duyarlı GPCR sınıfının üyesidir. Adrenerjik reseptörler başlıca  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki gruptur. Bunların da  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  ve  $\beta 3$  gibi çeşitli alt grupları vardır (Xu ve ark. 2012).

LC terminalinden salıverilen NA, adreno reseptörler (AR) aracılığıyla çeşitli etkilere neden olur. Ön beyin bölgelerine geniş çaplı LC innervasyonu ve AR'nin geniş çaplı yayılımı nedeniyle noradrenerjik sistem birçok davranışsal ve fizyolojik süreçte yer alır (Szot, 2014).

#### **2.8.6. Noradrenalinin Besin Alımı Üzerine Etkisi**

Hipotalamus hattından çıkan noradrenerjik liflerde kimyasal ve elektriksel lezyonlar aşırı yemeye ve obeziteye yol açar. Sıçan perifornikal hipotalamus içine NA uygulaması besin alımını azaltır (Meister 2007). Bu sonuçlar noradrenalinin toklukta rol oynayabileceğini göstermektedir. Fakat kalıcı kanül aracılığıyla belirli beyin alanları içine eksojen NA uygulaması yemek yeme davranışına yol açar. NA'nın beynin farklı bölgelerine uygulanması ve bağlandığı reseptör tipine göre besin alımını artırır ya da azaltır (Wellman 2000).

Sıçan hipotalamusunun açlık ve tokluk merkezi alanlarında  $\alpha$  ve  $\beta$  adrenerjik reseptörleri bulunmaktadır. Perifornikal lateral hipotalamusta  $\alpha$ - agonistler besin alımını artırır ve  $\beta$ - agonistler besin alımını azaltır. LHA' da, medial hipotalamik alanlardan daha düşük yoğunlukta  $\alpha$ - adrenerjik reseptörler bulunur. LHA' da  $\beta$ - adrenerjik reseptör oldukça yoğun olarak yer almaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, ratlarda LHA' da besin alımının baskılanmasında hem  $\beta_2$  adrenerjik reseptörün hem de dopaminerjik reseptörlerin rol oynadığı bulunmuştur (Bernardis ve Bellinger 1996). Aç bırakılan ratlarda LHA içine mikroenjeksiyon yoluyla NA uygulanması besin alımını azaltmıştır (Bernardis ve Bellinger 1996).

PVN' ye düşük dozlarda NA infüzyonu, beslenme davranışını uyarmaktadır. PVN beslenmenin uyarılmasında  $\alpha$ - agonistik etki için son derece hassas bir alandır (Bernardis ve Bellinger 1996; Paul ve Wellman 2000). PVN' deki  $\alpha$ - adrenerjik reseptörlerin 2 alt türü farelerde yeme davranışı üzerinde zıt etkiler oluşturmuştur.  $\alpha_2$ - adreno reseptörler yemek yeme isteğini artırırken,  $\alpha_1$ - adreno reseptörler yemek yeme isteğini baskılamıştır (Paul ve Wellman 2000).

Beyindeki merkezi NA seviyeleri leptin salınımını düzenler. Leptin, NA ters bir ilişki içindedir. Leptin besin alımını azaltmak için NA etkisini azaltır. Beyinde NA seviyesinin azalmasıyla besin alımını azaltabilir. NPY yemek yeme davranışını uyaran nörotransmitterdir. NPY ve NA beyindeki nöronlarda beraber bulunur ve

beyin sapından birlikte salgılanırlar. Birçok çalışmada NPY etkisiyle beyindeki NA salınımını artırdığını göstermiştir (Wellman 2000).

### **2.9. CNS' de Glukoz Seviyesindeki Değişimler ve Besin Alımının Düzenlenmesindeki Etkileri**

1950'de Jean Mayer' in kabul edilmiş glukostatik hipotezine göre; hipotalamusta glukoz reseptörleri vardır ve muhtemelen bilinen diğer merkezler ve periferik bölgelerde besin alımının düzenlenmesinde rol oynarlar (Mayer 1958). Dolaşımdaki peptitler ve homeostazi sağlayan hormonların verdiği yanıtta ek olarak, beyin de kan glukoz seviyelerindeki değişikliklere duyarlıdır ve tepki verir (Vanessa 2010). Plazma glukoz seviyeleri beyinde bulunan glukoz reseptörleri tarafından algılanır ve glukoz kullanımındaki bir artış besin alımının başlatılmasını tetikler. Glukoz algılayıcıları (sensörler) ilk defa VMN ve LHA' da keşfedildi. Ayrıca VMN ve LHA' da interstisyel glukoz düzeyleri kan glukoz konsantrasyonu ile değişir. VMN kan şekerinin düştüğü zaman glukagon salınımını düzenler. Bu bölgeler yoğun şekilde glukoz duyarlı nöronlar içermektedir (Song ve ark. 2001).

Kan şekeri düzeyinde meydana gelen bir düşüş gıda alımının başlamasını işaret edebilir. LHA hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış glukoz duyarlı nöronlar içeren beslenme merkezidir ve hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış hiperfajide önemli bir rol oynar ( Bernardis ve ark. 1996; Sakurai ve ark. 1998). Levin ve arkadaşları insülin-bağlı hipoglisemiye yanıtta besin alımının artmasıyla birlikte VMN' de glukoz konsantrasyonu düşer (Vanessa 2010). Yeme davranışının tamamlanmasıyla birlikte ortaya çıkan hiperglisemi VMN' yi aktive ederken beslenme merkezini inhibe ettiğine inanılmaktadır (Mayer ve Thoma 1967). Kan glikoz düzeyindeki bu artış sonucunda hipotalamusun VMN, PVN' deki tokluk merkezinde bulunan glikoza duyarlı nöronların uyarılması artarken, LHA açlık merkezinde glikoza duyarlı nöronların uyarılması azalır (Guyton&Hall 2013).

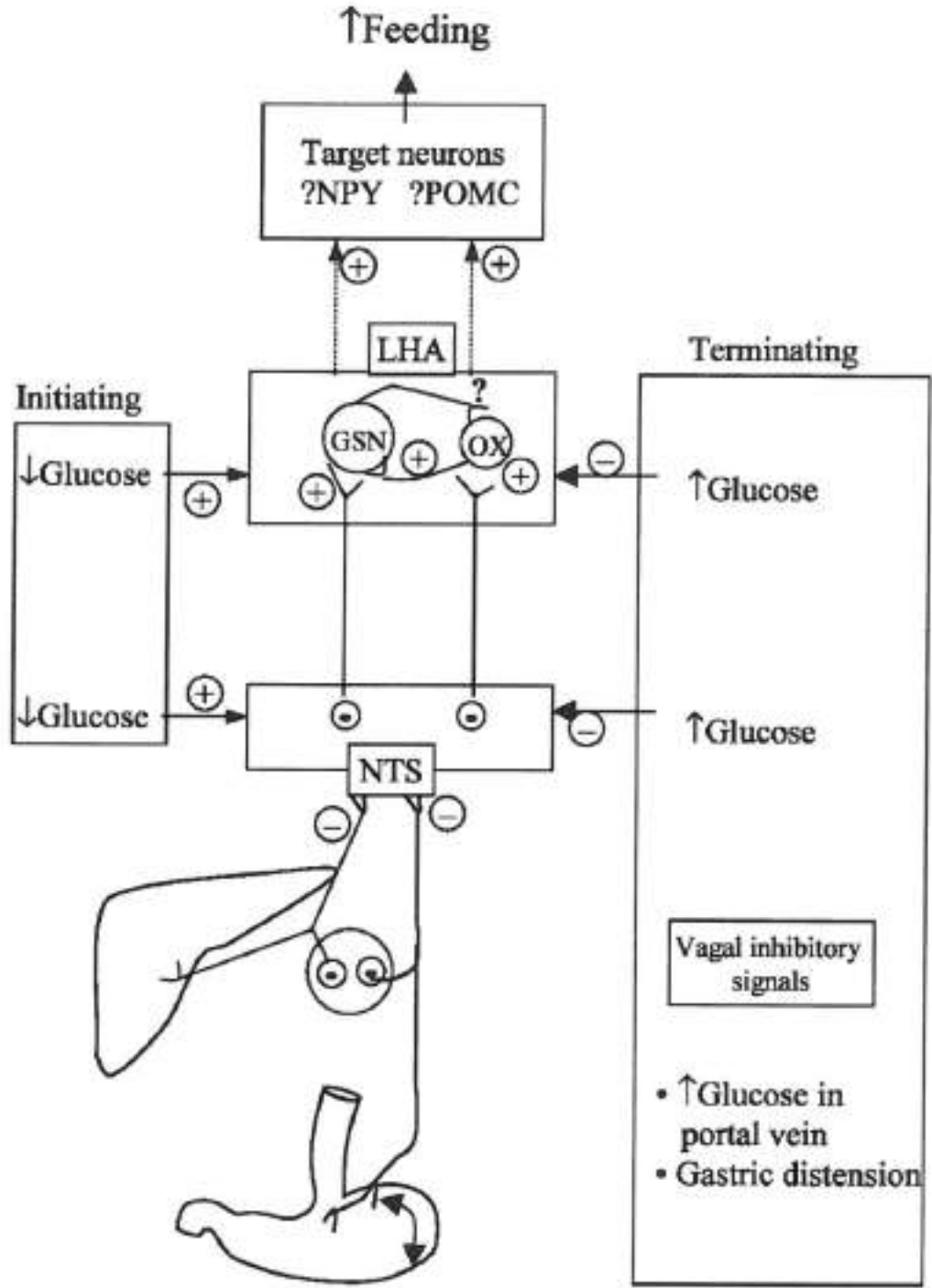
LHA' dan projeksiyon alan oreksin nöronlarının hepsi ya da bazıları glukoz duyarlı nöron olabilir, ya da glukoz duyarlı nöronlardan uyarıcı projeksiyonlar alabilir (Sakurai ve ark. 1998). Oreksijenik nöronlar kan glukozu düştüğünde ve mide boşaldığında uyarılmaktadır. İnsüline veya besin kısıtlamasına bağlı gelişen hipoglisemide hipotalamik preproreksinin mRNA ekspresyonunu arttırdığı

gözlendi. Glukoza duyarlı sinirlerin hipoglisemiye bağı beslenmeye aracılık ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Bir elektrofizyolojik çalışmada, düşük glikozla veya yüksek glikozla uyarılan glikoza duyarlı sinirlerden bazılarının oreksijenik sinirlerle sinaps yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca OXA' nın LHA' daki glikoza duyarlı sinirleri uyardığı, VMN' deki glikoza duyarlı sinirleri ise baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle hipogliseminin kısmen, oreksijenik sinirleri aktive ederek beslenmeyi uyardığı iddia edilmektedir (Gültekin ve Şahin 2005). Ayrıca oreksin nöronlarının %30'unun insulinin oluşturduğu hipoglisemi ile aktive olması, plazma glukoz seviyesinin oreksin nöronlarının aktivitesini etkilediğini göstermektedir (Williams ve ark. 2000).

Lezyon çalışmaları, farmakolojik ve genetik çalışmalar VMN'nin glukoza duyarlı hipotalamik çekirdek olduğunu göstermiştir. Örneğin; VMN'ye direk 2-DG (2-deoksi-D-glukoz) enjeksiyonu ile glukagon salınımının indüklendiği bildirilmiştir (Borg ve ark. 1995).

Anoreksijenik bir peptid olan leptin glukoza duyarlı ARC ve LHA nöronları inhibe eder. Bu hücrelerde leptin reseptörlerinin artmasıyla glukoza duyarlı VMN nöronlarını uyarır (Funahashi ve ark. 2003).

SCN, VMN' de glukoreseptör nöronları üzerinde bir eksitator etki ortaya çıkarır. SCN, LHA' daki glukoz duyarlı nöronlar üzerinde multisinaptik engelleyici etkiye sahiptir. Böylece, SCN' nin ışık uyarısıyla beslenmeyi baskılamaya yol açan VMN' yi uyarır ve LHA' yı inhibe eder.



**Şekil 2.5:** Oreksin nöronları besin alımının başlamasında ve sonlanmasında rol oynar. Kan şekeri düştüğünde Nükleus Traktus Solitarius'da (NTS) glukoza duyarlı nöronlarının (GSN) yanısıra LHA'da oreksin ve GSN uyarılır. Oreksin nöronlar ARC'nin NPY ve POMC nöronları dahil yollar aracılığıyla GSN uyarır. NTS'den çıkan vagal afferent yollarla LHA'a iletilen tokluk sinyalleri GSN ve oreksin nöronlarını inhibe ederek besin alımının durmasına yardımcı olabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmada Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen, 350- 450 gr ağırlığında 40 adet Wistar intak erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, 21°C oda sıcaklığında, plastik kafeslerde tutuldu. Cam şişelerdeki çeşme suyuyla ve pelet halindeki özel sıçan yemleriyle beslendi (Tablo 1).

**Tablo 3.1:** Kullanılan sıçan yeminin içeriği (g/kg).

Sıçan Beslenmesinde Kullanılan Yemin İçeriği	
Buğday	150 gr.
Mısır	100 gr
Arpa	270 gr
Kepek	80 gr
Soya	294 gr
Balık Unu	80 gr
Tuz	6 gr
*Kavimix VM 23-Z	2 gr
Methionin	2 gr
**DCP	16 gr
*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D3, 12 mg E, 0.8 mg K3, 0.8 mg B1, 2.4 mg B2, 1.2 mg B6, 0.006 mg B12 vitaminleri, 16 mg Nikotin amid, 3.2 mg Cal. D. Panth., 0.32 mg Folik asid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0.8 mg I, 0.2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.	
***% 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0.2 flor'dan oluşur.	

#### 3.2. Deney Protokolü

##### 3.2.1. Deney Grupları

Deneylerimizde 40 adet Wistar albino erkek sıçan rastgele örnekleme yöntemi ile seçildi. Her grupta 10 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Deney grupları ve her bir gruptaki hayvan sayısı aşağıdaki gibidir:

**Grup 1 (n=10):** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara anestezi altında beyin mikrodializi uygulandı. Ratların ağırlıklarına göre kuyruk veni

yoluyla iv olarak 0.5/0.8 ml serum fizyolojik uygulandı. Uygulama sonrası 1 saat süreyle 20' şer dakikalık periyotlar halinde mikrodiyaliz süpernatantları toplandı.

**Grup 2 (n=10):** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara anestezi altında beyin mikrodiyalizi uygulandı. Ratların ağırlıklarına göre kuyruk veni yoluyla iv olarak % 50' lik 0.5/0.8 ml uygulandı. Hayvanlara 1 saat süreyle 20' şer dakikalık periyotlar halinde mikrodiyaliz süpernatantları toplandı.

**Grup 3 (n=10):** Bir gece boyunca aç bırakılan hayvanlara (su verildi), ratların ağırlıklarına göre 0.5/0.8 ml serum fizyolojik kuyruk veni yoluyla iv olarak uygulandı. Uygulama sonrası 1 saat süreyle 20'şer dakikalık periyotlar halinde mikrodiyaliz süpernatantları toplandı.

**Grup 4 (n=10):** Bir gece boyunca aç bırakılan hayvanlara (su verildi), ratların ağırlıklarına göre sonra % 50' lik 0.5 ml hiperozmolar glukoz çözeltisi kuyruk veninden uygulandı. Uygulama sonrası 1 saat süreyle aynı mikrodiyaliz işlemleri tekrarlandı.

Bu gruplarda, LHA' daki NA ve NA metaboliti olan dihidroksifenilglükol (DHPG), DA ve DA metaboliti olan dihidroksifenilasetik asit (DOPAC) düzeyleri tayin edildi.

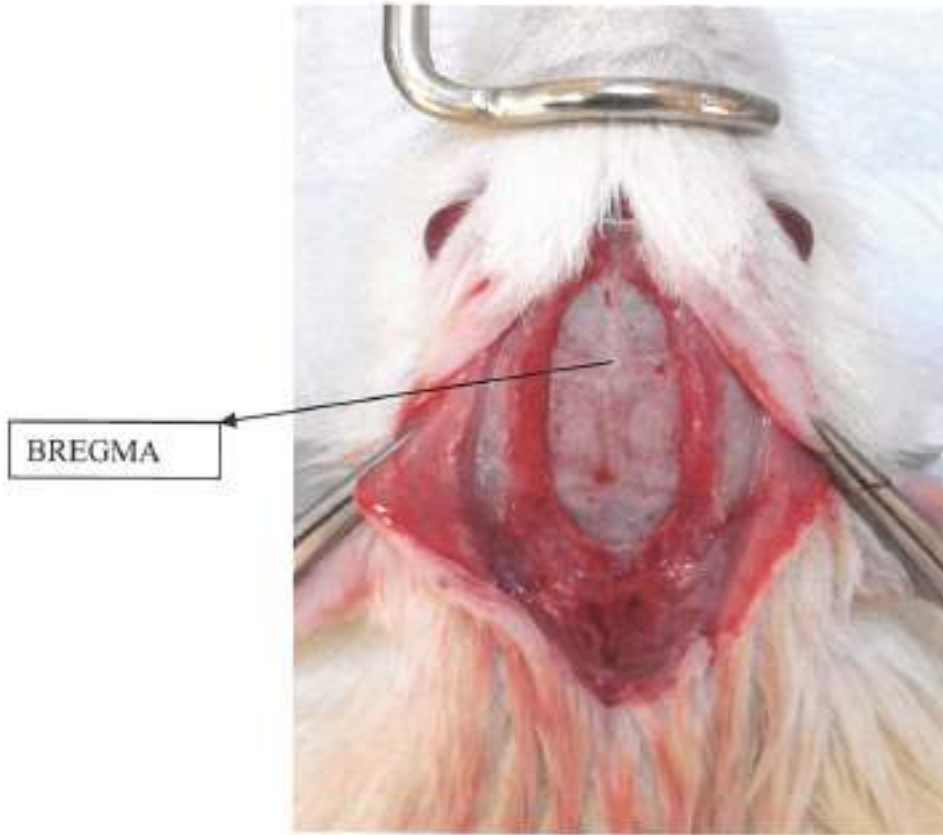
### **3.2.2. Anestezi ve Hayvanların Hazırlanması**

Çalışmamızda deney hayvanlarına anestezi için intraperitoneal ketamin (ketamin hidroklorür 50 mg/ml: Ketalar, Pfizer) 50 mg/kg verilmiştir. Anestezi derinliği, refleks tepkileri ağırlı bir uyarana tepkisine bakılarak kontrol edildi ve gerektiğinde ek doz anestezik madde verildi.

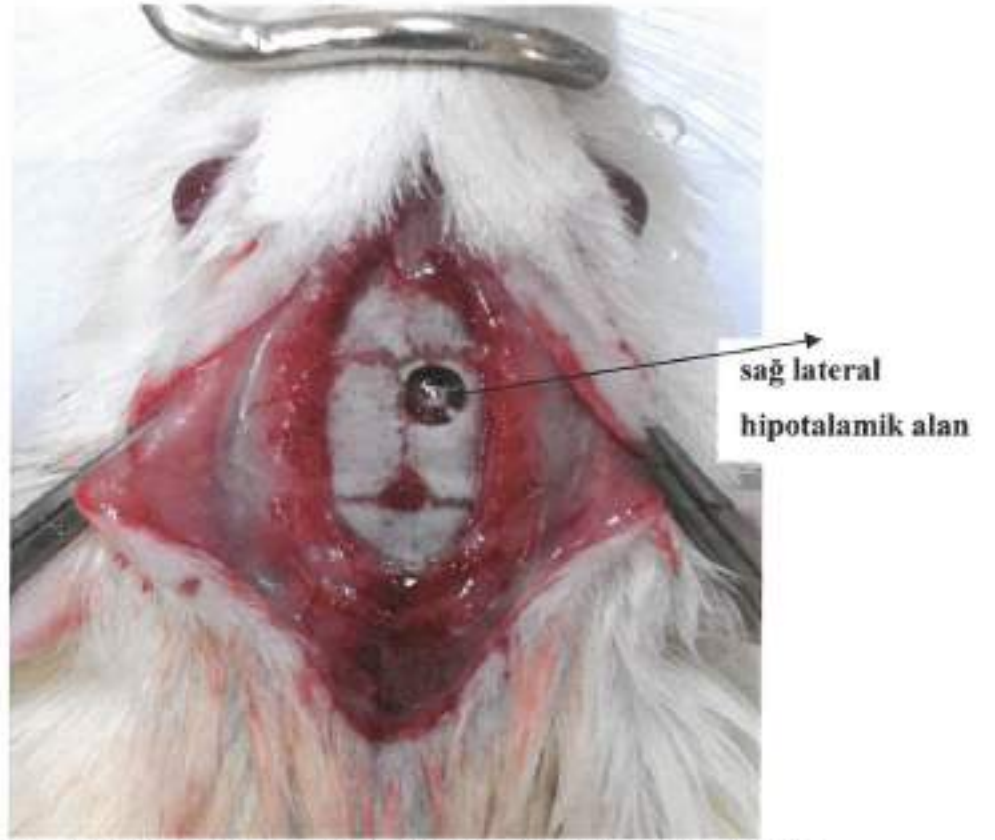
### **3.2.3. Lateral Hipotalamik Alanda Mikrodiyaliz Yöntem**

Anestezi sonrası deney hayvanının kafa derisindeki kıllar tıraşlanıp, sterotaksi aletine (RWD Life Science CHINA ) kafası dış kulak yolundan sabitlendi, üst çene dişleri bara takılarak sıkıştırıldı. Kafanın en küçük hareketi bile engellenecek şekilde sıçanlar yerleştirildi. Hayvanların kafa bölgelerinin fronto-okspital doğru boyunca yere tam olarak paralel bir şekilde lokalize olmaları sağlandı. Kafası iyice sabitlenen deney hayvanlarının tıraşlı bölgesi bistüri kullanılarak kafa derisi, gözler hizasından

enseye kadar frontal-okspital orta hattın kesildi. Daha sonra bisturi ile sıyrılıp kafatasındaki bregma ve lambda noktaları açığa çıkarıldı (Resim 3.1). Mikrodiyaliz probu (CMA 12, CMA microdialysis, İsveç) vertikal olarak sterotaksik cihazın sol holderine (CMA microdialysis, İsveç) implante edildi. Holderin lateral, antero-posterior ve vertikal hareketleriyle mikrodiyaliz prob ucu kafanın bregma noktasına değecek kadar yaklaştırıldı. İşaretlenen bregma noktasının, antero-posterior ve medio-lateral koordinatları belirlendi. Bregma noktası referans alınarak sıçan beyin atlasından elde edilen (-1.90 mm) antero-posterior, (1.80 mm) mediyo-lateral koordinatlarla sağ lateral hipotalamik alan sağ temporal kemik üzerinde işaretlendi. Kemik doku aynı şekilde kılavuz kanülün kolayca geçebileceği büyüklükte, bir dişçi turu (Strong 210) kullanılarak beyin dokusuna temas etmeden delindi (Şekil 3.2).



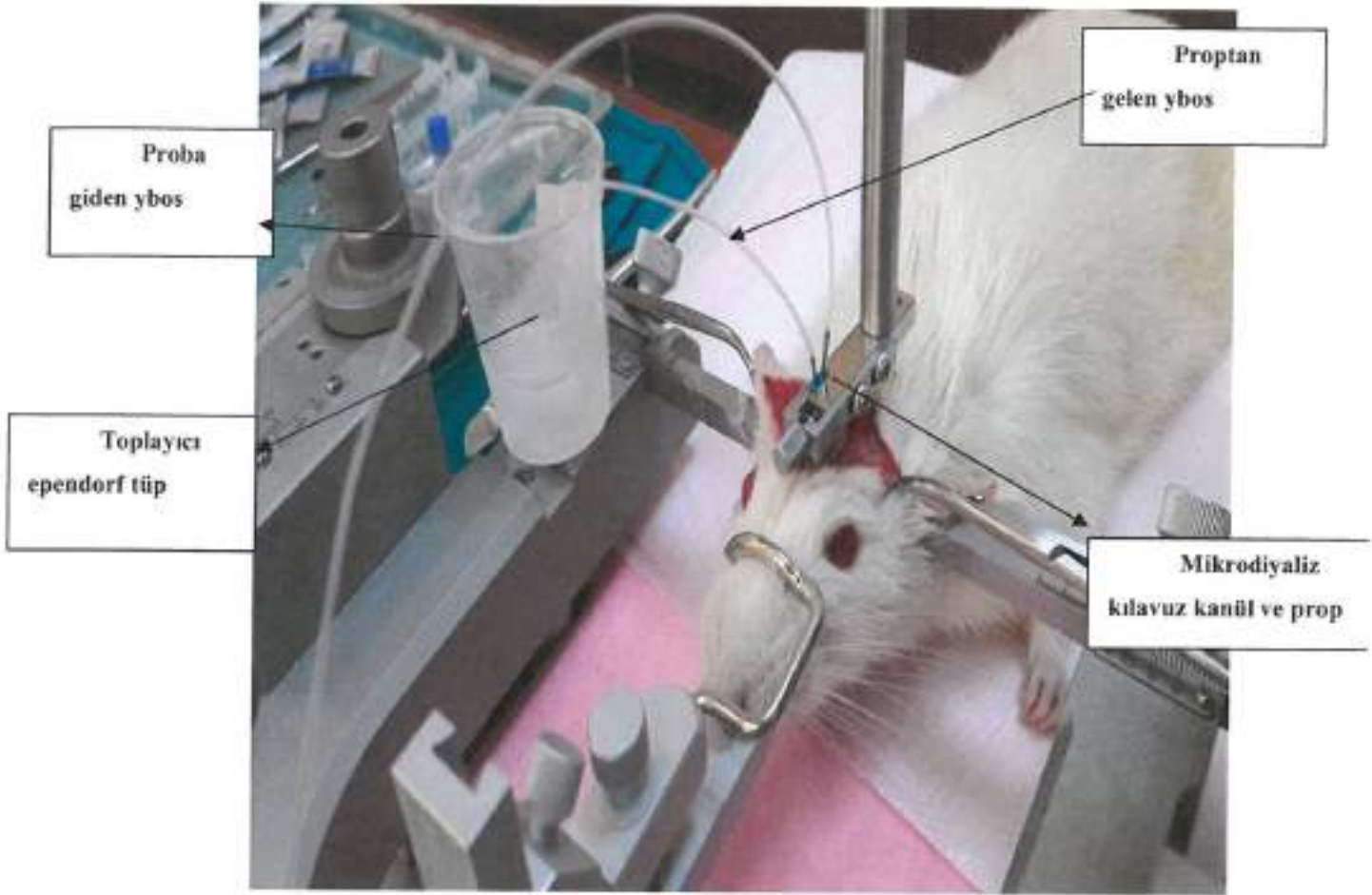
Resim 3.1: Bregmanın görünümü



**Resim 3.2:** Sağ LHA'ya uygulanacak işlem için kafatasının dişçi turu ile açılmış görüntüsü

Mikrodiyaliz probu kılavuz kanül içine yerleştirildi ve 1 mm' lik perfüzyon membranlı prob ucunun LHA'ya temas etmesi tahmini olarak sağlandı. Sterotaksik cihazın sağ holderinde mikrodiyaliz probu beyin dokusuna temas edinceye kadar vertikal yönde ilerletildi. Atlastaki koordinatlara göre sağ LHA noktasından (koruyucu kanül referans alınırsa 8.2 mm, prob referans alınırsa 9.2 mm ) vertikal yönde beyin dokusu içine girildi ve sağ lateral hipotalamik alana ulaşıldı. Bu işlemler sırasında mikrodiyaliz pompasına (RWD 302 CHINA) bağlı 10 ul (Hamilton) enjektörde yapay beyin omurilik sıvısı 1,5 ul/dk hızla sirküle edildi. Probdan geçen sıvı, içinde 3 ul 1M HCl çözeltisine karışarak birikti ve toplam hacim yaklaşık 30 ul' ye ulaştı. Bu toplam hacim içindeki HCl asit konsantrasyonunda 0.1 M oldu (Şekil 3.3).

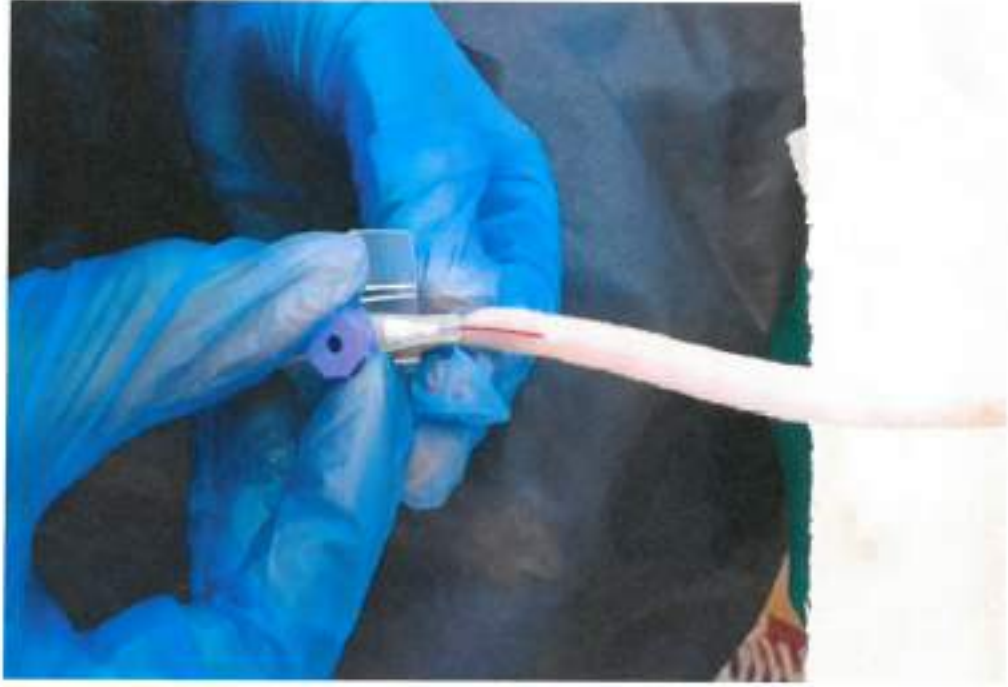
Katekolamin metabolizmasında monoamin oksidaz enzimi rol oynamaktadır. Bazı asitler ve HCl monoamin oksidaz aktivitesini engellemektedir. Uyguladığımız deney düzeneği sayesinde ependorf tüpte biriken süpernatant içindeki katekolaminlerin metabolize edilmesi engellendi. Süpernatantın 0°C'ye yakın bir sıcaklıkta tutulması da katekolaminlerin metabolize edilmeden kalmasına olanak sağladı.



**Resim 3.3:** Sağ LHA' ya mikrodiyaliz işlemi

Mikrodiyaliz işlemi kılavuz kanül ve içine probun yerleştirilmesiyle başladı ve bütün deney periyodu boyunca sürdürüldü. Probun yerleştirildiği andan itibaren elde edilen süpernatantlar 20'şer dakikalık periyotlar halinde analiz edildi ve piklerin dengelenme süresinden, yaklaşık 1 saat sonrasına kadar takip edildi. Bu süreçten sonraki uygulamalar ve elde edilen bulgular deney protokolu olarak değerlendirildi. Tüm hayvanlara iv SF ve glukoz uygulamalarından hemen önce ve uygulama sonrası 20. ve 40. dakikalarda birer damla kan alınarak manuel glukometre (Optium Xceed) kan glukoz değerleri belirlendi. 60. dakikadan sonraki ilk 20 dakikalık sürede toplanan süpernatant 0. örnek olarak kabul edildi. Sonraki 40 dakikalık periyotta toplanan süpernatantlar kontrol grubu olarak kabul edildikten sonra 40. dakika kuyruk veninden intraketle girilerek (Şekil 3.4) glukoz grubuna % 50' lik glukoz çözeltisi ve diğer gruba ise 1,4 ml/kg dozunda serum fizyolojik (SF) infüzyonu yapıldı (Şekil 3.5). Sonraki mikrodiyaliz periyotları da 20'şer dakikalık sürelerle 1.,

2. ve 3. örnekler olarak yine HPLC sistemine enjekte edilerek katekolamin analizleri yapıldı.



Resim 3.4: Kuyruk venine intraket ile girilmesi



Resim 3.5: Damar içi glukoz ve SF uygulaması

### 3.3. Mikrodiyaliz

Mikrodiyaliz yöntemi ile beynin ve diğer bazı organların çeşitli bölgelerinde ekstrasellüler ortamda endojen madde miktarları ölçülebilir. Mikrodiyaliz basit difüzyon kuralına dayanan bir yöntemdir. In vivo beyin mikrodiyalizinde, beyinde bulunan, ancak kullanılan diyaliz sıvısında olmayan maddeler yarı geçirgen membranı difüzyon ile geçerek toplanan örnekler (diyalizat) geçerler. Elde edilen örneklerde ölçülmek istenen endojen moleküller HPLC gibi son derece hassas ölçüm sistemi kullanılarak değerlendirilir. Beyin bölgesine enjektörle ilaç veya madde verilmesiyle nörotransmitter ve metabolitleri üzerindeki etkileri gözlenebilir.

### 3.4. HPLC Sisteminde Katekolamin Analizi

Katekolamin analizi için Agilent Technologies 1260 marka yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanıldı (250x4,6 mm'lik C18 ODS analitik HPLC kolonu). HPLC analiz range'i 5 olarak ayarlandı. Kolon fırınının sıcaklığı 40°C olarak sabitlendi. Analiz yapılmayan sürelerde HPLC'deki akım hızı 0.2 ml/dk iken, analizlere başlanmadan önce 1 ml/dk'ya çıkarıldı. Elektrokimyasal dedektörünün (Waters 2465 elektrochemical) cell (hücre) bölümü açık pozisyondayken en az 1 saat süreyle, analiz referans hattının 0'a gelmesi için (dengelenme süreci) beklendi. Enjeksiyonlar 20 µl (Hamilton) hacimde gerçekleştirildi.

**Tablo 3.2** Mobil faz solüsyonu 1 lt deiyonize içinde mM/L olarak aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanmış olup ph 4.9' a ayarlanmıştır

Mobil Faz	
Sitrik asit (Sigma- Aldrich)	32 mM
Sodyum sitrat (Sigma Aldrich, ABD)	16 mM
Sodyum 1- heptanosülfonik asit (Sigma Aldrich, ABD)	0,9 mM
EDTA (Sigma Aldrich, ABD)	0,16 mM
Tetrahidrofur (VNR)	36 mM
Glasiyal asetik asit (Merc, Almanya)	0,02 mM
Methanol (Sigma Aldrich, ABD)	0,616 mM

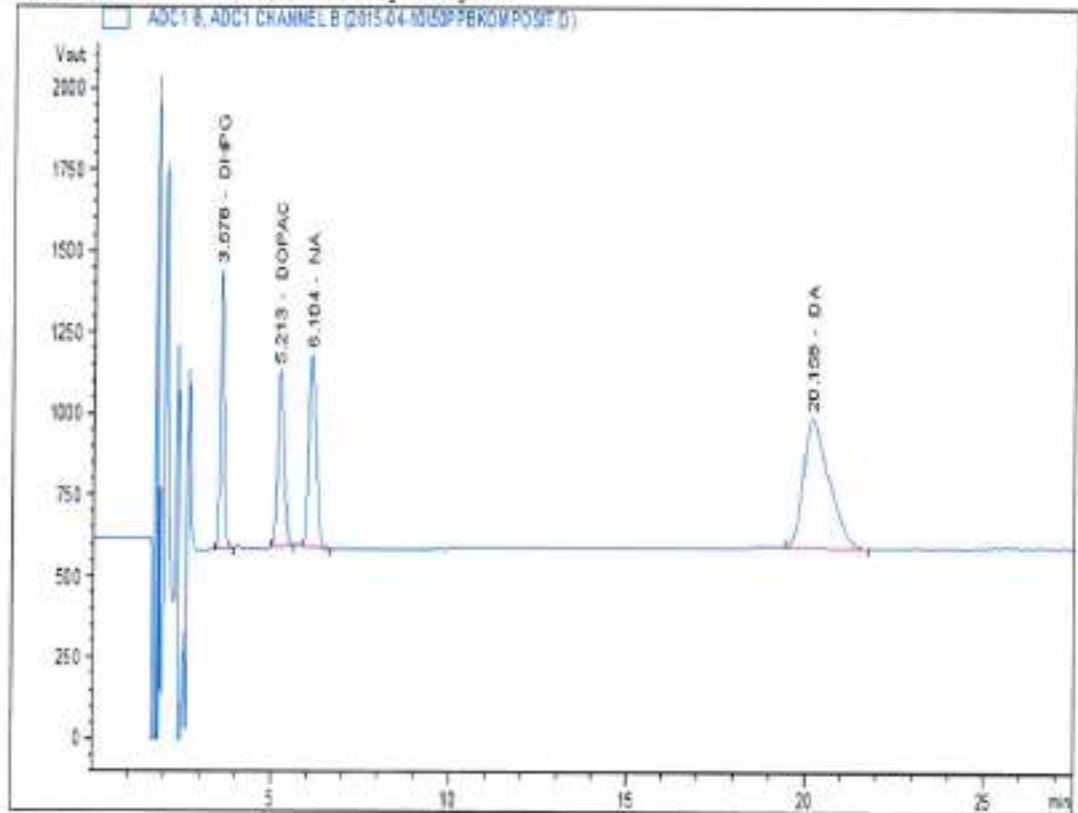
Katekolamin piklerinin üst üste gelmemesi için analiz edilmek üzere gereken dozlarda katekolamin mobil fazı ve pH ayarlandı. Bu kimyasallar 100 ml deiyonize su içinde çözüldü ve çözelti bir litreye deiyonize su ile tamamlandı. Çözeltiye NaOH (Aldrich Chem. Co., Steinheim, Almanya) ilave edilerek ve pH metre (Termo Orion, Beverly, MA, USA) kullanılarak mobil fazın pH'sı 4.9'a ayarlandı. Mobil faz çözeltisi por çapı 0.20 µ'luk mikrofiltrelerden süzüldü.

Katekolamin standartları tek tek enjekte edilerek pik geliş süreleri (retention time) belirlendi. NA ve metaboliti DHPG ile DA ve metaboliti DOPAC'ın pik geliş süreleri sırasıyla dakika olarak 3.578 dak. DHPG, 5.213 dak. DOPAC, 6.104 dak. NA ve 20.158 dak. DA kaydedildi. Ayrıca her gün mikrodiyaliz süpernatantlarından önce ve sonra, araştırılan katekolaminlerin standart çözelti konsantrasyonları birlikte enjekte edilerek piklerin geliş sürelerindeki değişiklikler takip edildi. Numunelerin analizlerindeki katekolamin pik geliş süreleriyle, standart katekolamin pik geliş sürelerinin uyumlu olması sağlandı.

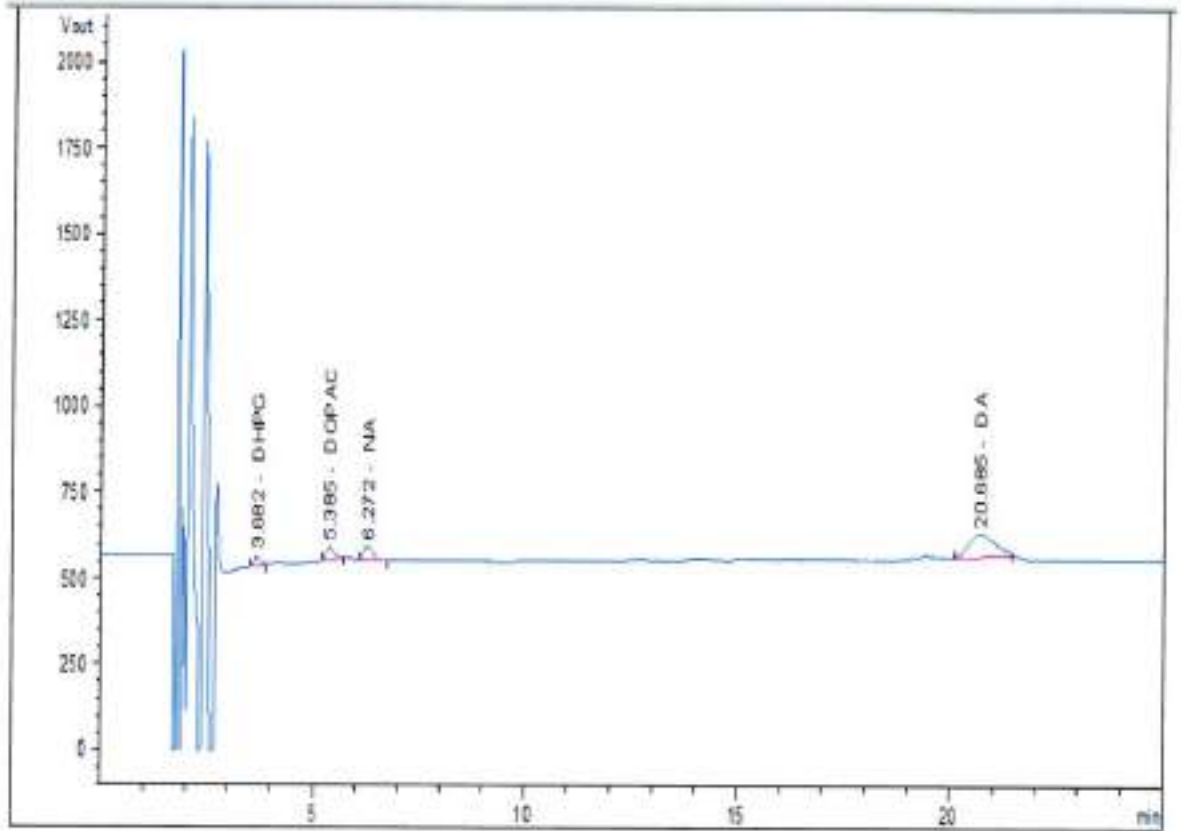
Deneylerde mikrodiyaliz örnekleri analiz edilmeden önce, her bir katekolamin için standart eğriler (curve) hazırlandı. DHPG 0.1-10 ppb/20µl, NA 0.1-10 ppb/20µl, DOPAC 0.1-10 ppb/20µl, DA 0.1-10 ppb/20µl arasında 5 farklı doz uygulanarak eğriler çizildi.

Tüm standartlar için tabloda belirtilen dozlarda uygulamalar yapılarak HPLC' de çıkan alanlar Agilent HPLC software programı ile hesaplandı. Alanları hesaplanan numunelerin  $y = 90,976x - 16,471$  formülü ile her bir katekolamin için ppb cinsinden konsantrasyonu bulundu. Alan değerleri y değerinin bulunduğu yere yazılarak x konsantrasyon miktarı hesaplandı.

Acq. Operator : Selim  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : -  
Injection Date : 4/10/2015 10:13:19 AM  
Inj Volume : Manually  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\BATICE.M  
Last changed : 4/10/2015 10:12:11 AM by Selim  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\HR.M  
Last changed : 8/3/2015 6:24:38 PM by Selim  
(modified after loading)  
Additional Info : Peak(s) manually integrated



**Resim 3.6.** Standart katekolamin 50 ppb komposit traseleri. 2-4. dak. arasındaki solvent front, 3.578 dak. DHPG, 5.213 dak. DOPAC, 6.104 dak. NA ve 20.158 dak. DA ait pikler.



Resim 3.7. Mikrodializ sonucu elde edilen numunelerin HPLC' deki katekolamin traseleri.

Tablo 3.3. Katekolaminlerin farklı standart konsantrasyonlarının HPLC' de oluşturdıkları pik alanları.

NA		DHPG	
DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN	DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN
0,1	363,26	0,1	31,898
0,5	464,63	0,5	54,834
1	640,32	1	83,134
5	1117,8	5	296,06
10	1841,2	10	961,91
DOPAC		DA	
DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN	DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN
0,1	88,651	0,1	9,107
0,5	128,64	0,5	69,255
1	210,47	1	130,66
5	799,2	5	332,58
10	1882	10	661,78

### 3.5. İstatistiksel Yöntem:

İv uygulama öncesi herbir hayvanın DHPG, NA, DOPAC, DA düzeyleri 0. değer olarak ölçüldü ve 0. değerlerin ortalama %100 olarak kabul edildi. Numunelerin iv yolla glukoz ve SF infüzyonlarından sonra katekolamin değerleri, kendi grubundaki 0. değerlere göre normalize edilerek istatistiksel analiz yapıldı. Analizler sırasında SPSS 20.0 paket programı kullanıldı ve değişkenlere ait tanımlayıcı ölçüler  $AO \pm SEM$  şeklinde verildi. Gözlem sayıları az olduğu için normal dağılım kontrolü yapılmadı; analizler için parametrik olmayan yöntemler tercih edildi. Bağımsız iki grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi, tekrarlı ölçümlü çoklu grupların karşılaştırması için Friedmanın iki yönlü varyans analizi kullanıldı. Genel sonucun anlamlı olduğu durumlarda ikili karşılaştırmalar yapıldı. Anlamlı sonuçlar tablo ve ilgili grafikler ile görselleştirildi. Analizlerin tamamında  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kan Glukoz Düzeylerin Değerlendirilmesi

Sıçanların kan glukoz seviyeleri kuyruklarından alınan kandan glukometre (Optium Xceed) ile ölçülerek değerlendirildi. Deney süresince aç ve tok hayvanların kan glukozları hiçbir işlem yapılmadan uygulamadan önce 0. dakikada ve glukoz ve SF uygulaması sonucu 20. dakikada ve 40. dakikada ölçülerek karşılaştırıldı. Kan glukoz düzeyleri SF uygulanan grupta değişmezken, glukoz uygulanan grupta artmıştır.

**Tablo 4.1** Aç hayvanlarda SF uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi

Aç SF Kan Glukoz Seviyesi			
N	Kontrol	20 dakika	40. dakika
1	100	64	66
2	67	37	44
3	89	58	73
4	78	64	61
5	81	59	39
6	73	62	85
7	69	57	73
8	85	79	70
9	94	68	63
10	63	51	67

**Tablo 4.2.** Aç hayvanlarda glukoz uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi

Aç Glukoz Kan Glukoz Seviyesi			
N	Kontrol	20 dakika	40. dakika
1	81	135	113
2	108	151	332
3	94	243	182
4	61	197	215
5	77	184	179
6	84	239	272
7	97	207	235
8	85	191	237
9	68	178	160
10	103	253	312

**Tablo 4.3.** Tok hayvanlarda SF uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi

Tok SF Kan Glukoz Seviyesi			
N	Kontrol	20 dakika	40. dakika
1	123	109	105
2	142	131	138
3	155	149	127
4	134	128	140
5	127	120	118
6	142	134	130
7	170	140	159
8	128	125	110
9	140	115	122
10	161	143	141

**Tablo 4.4.** Tok hayvanlarda glukoz uygulaması sonucu kan glukoz seviyesi

Tok Glukoz Kan Glukoz Seviyesi			
N	Kontrol	20 dakika	40. dakika
1	146	179	230
2	124	264	214
3	136	249	208
4	140	294	245
5	165	308	253
6	131	263	224
7	129	256	203
8	145	271	242
9	126	268	237
10	152	203	274

**Tablo 4.5.** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan ve 24 saat aç bırakılan hayvanlarda kan glukoz değerleri (AO±SH)

Gruplar	Kontrol
Aç SF AO±SH	67.96±2.69
Aç Glukoz AO±SH	173.43±13.98
Tok SF AO±SH	133.53±2.85
Tok Glukoz AO±SH	209.30±10.45

## 4.2. Monoamin Bulguları

Deneylerden elde edilen mikrodializ süpernatantlarının HPLC'de analizi sonucu hesaplanan 0., 20. ve 40. dakikalardaki mutlak katekolamin değerleri aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (Mean  $\pm$  SEM) olarak tabloda gösterilmiştir. Aç ve tok hayvanlarda SF ve glukoz uygulaması sonucu, kendi grubundaki 0. değerlere göre normalize edilerek belirlenen yüzde değişim oranları belirtilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı değişiklikler sadece NA değerlerinde ortaya çıkmıştır. HPLC analizlerinde ppb (parts per billion) olarak bütün NA değerleri, metaboliti olan DHPG'den oldukça yüksek düzeylerde dir. Bu bulgu, uyguladığımız deney prosedürü sayesinde NA'nın çok az oranda metabolize olarak, mikrodializ süpernatantlarında yer aldığını göstermektedir. Mikrodializ süpernatantlarının toplandığı ependorf tüplerin buzlu su bulunan küçük beherler içinde bulunmasının yanında, süpernatantların HCl çözeltisi içine birikmesinin, monoamin oksidaz NA metabolizmasında etkili olan diğer bazı enzimlerin aktivitesini engelleyerek yüksek NA düzeylerinin korunmasını sağladığı söylenebilir. DA metaboliti DOPAC'ın düşük seviyelerde olması da DA'ın az miktarda metabolize olduğunu gösterir.

Katekolaminlerin yüzde değişim değerleriyle yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, 24 saat aç bırakılan ratlarda LHA'ya iv SF uygulanmasıyla ilk 20. dakika ve 40. dakika NA değerleri ve kontrol grubundaki NA değeri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). 24 saat aç bırakılan ratlarda LHA'da kontrol NA değerleri ve kuyruk veninden %50'lik glukoz uygulandıktan sonraki ilk 20. dakika ve 40. dakika NA değerleri karşılaştırıldığında glukoz uygulamasını takiben ilk 20. dakikada NA seviyesinde istatistiksel olarak önemli derecede azalma gözlemlendi ( $p>0.01$ ). Tok hayvanlarda istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır. Bu sonuca göre aç hayvanlarda iv yolla glukoz verilmesi LHA'daki NA seviyesini etkilemektedir. Aç ve tok hayvanlardaki DHPG değerlerinde ise istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). DA seviyelerinde ise aç hayvanlarda tok hayvanlara göre çok az azalma gözlenirse de, istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

### 4.3. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu NA Seviyeleri.

24 saat boyunca aç bırakılan hayvanlara sabah saat 09.30' da anestezi altında LHA' ya beyin mikrodializ uygulandı. Kuyruk veninden iv SF uygulamasıyla ilk 20. dakika ve 40. dakika NA değerleri ve kontrol grubundaki NA değeri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p= 0.325$ ). Iv glukoz uygulanan grupta glukoz uygulandıktan sonraki ilk 20. dakika ve 40. dakika NA değerleri karşılaştırıldığında glukoz uygulamasını takiben ilk 20. dakikada NA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma gözlemlendi ( $p=0,01$ ). Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara aynı işlem uygulandığında SF grubunda NA seviyeleri ( $p=0.8$ ), glukoz grubunda NA seviyeleri ( $p=0.06$ ) istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Bu sonuca göre aç hayvanlarda iv yolla glukoz verilmesi LHA' daki NA seviyesini etkilemektedir.

**Tablo 4.6.** Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki NA değerleri

N	Aç SF NA (ppb/ $\mu$ l)		
	Kontrol	1	2
1	0,185362	0,059012	0,008006
2	0,0075245	0,006906	0,00762
3	0,0182665	0,006407	0,008528
4	0,97847		0,559953
5	0,2933	0,00816	0,028052
6	0,36567	0,008133	
7	0,00818	0,004605	0,005389
8	0,8749	1,400759	1,330523
9	1,3361	1,272696	1,863025
10	1,02188	3,471539	0,780116

**Tablo 4.7 . Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki NA değerleri**

Aç Glukoz NA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,273079	0,166446	0,619313
2	3,232029	1,068557	1,223925
3	0,037734	0,007795	0,00742
4	0,5284	0,730997	0,399018
5	0,41757	0,007731	0,008128
6	0,537	0,007706	0,006179
7	0,21786	0,00743	0,008217
8	0,5929	0,264544	0,592434
9	1,4386	1,284554	1,421793

**Tablo 4. 8. Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki NA değerleri**

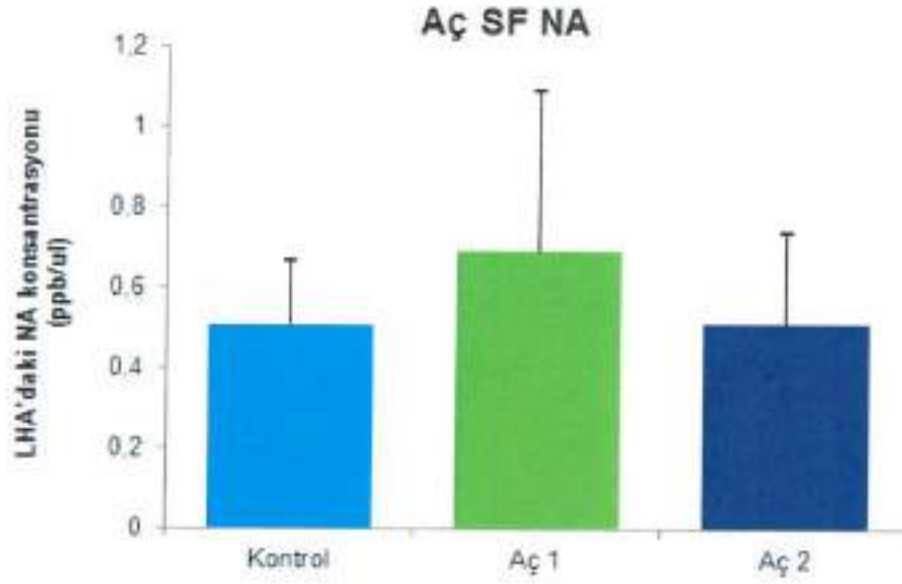
Tok SF NA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,008079	0,007912	
2	0,0245645	0,007872	0,09315
3	0,006654	0,008134	0,006725
4	0,6015815	0,152372	0,007606
5	0,8748465	0,124754	0,146729
6	0,636456	1,861771	
7	0,5183515	0,008306	0,52874
8	0,4049325	1,353515	0,208827

**Tablo 4. 9. Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki NA değerleri**

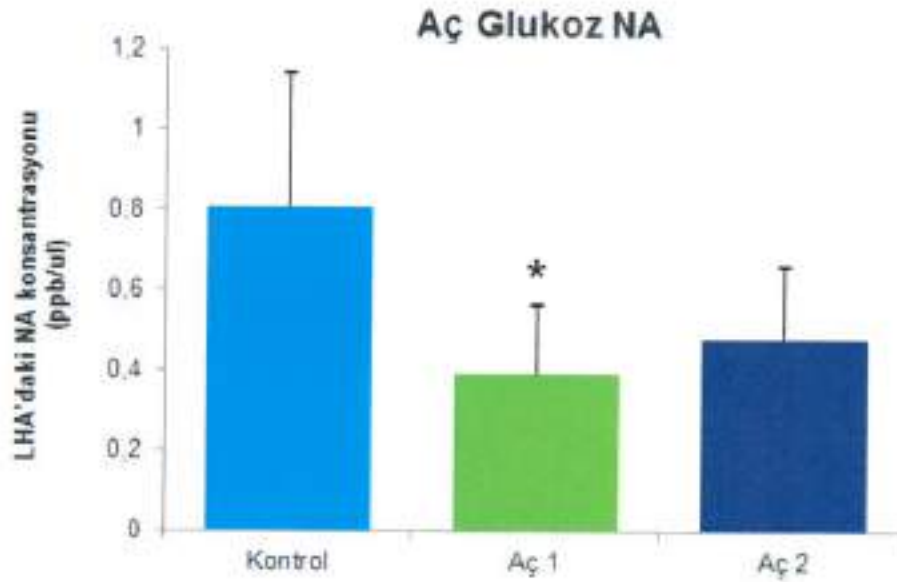
Tok Glikoz NA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,888107	1,385564	0,272368
2	0,298509	0,008008	0,007848
3	0,198519	0,007206	0,008995
4	0,094709	0,006021	
5	0,125464	0,008133	0,007892
6	0,336467	0,006898	0,007331
7	1,081203	0,00534	0,007621
8	0,062381	0,015049	0,187417

**Tablo 4. 10:** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki NA değerleri (AO±SH)

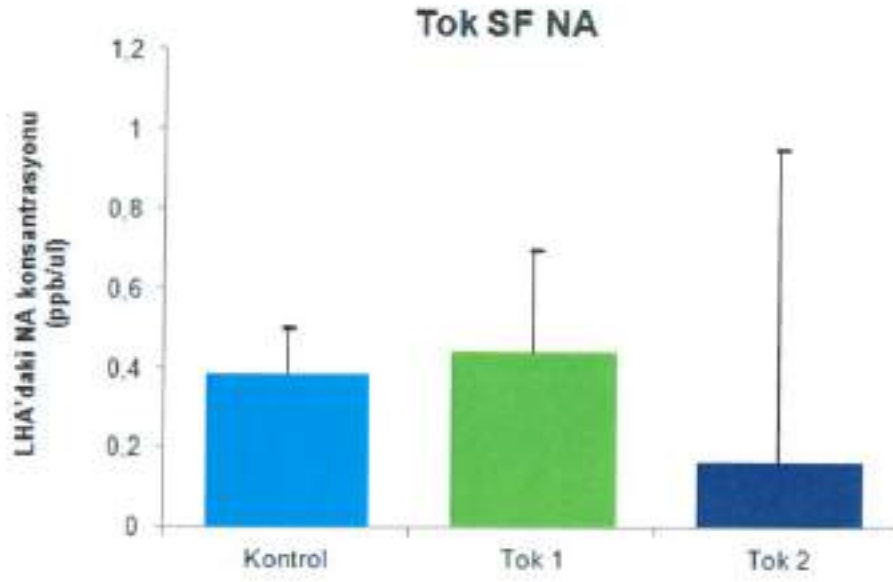
Gruplar	Kontrol	1	2
Aç SF NA AO±SH	0.509±0.16	0.693±0.40	0.510±0.23
Aç Glukoz NA AO±SH	0.808±0.33	0.393±0.17	0.48±0.18
Tok SF NA AO±SH	0.384±0.12	0.44±0.26	0.165±0.79
Tok Glukoz NA AO±SH	0.38±0.14	0.18±0.17	0.07±0.04



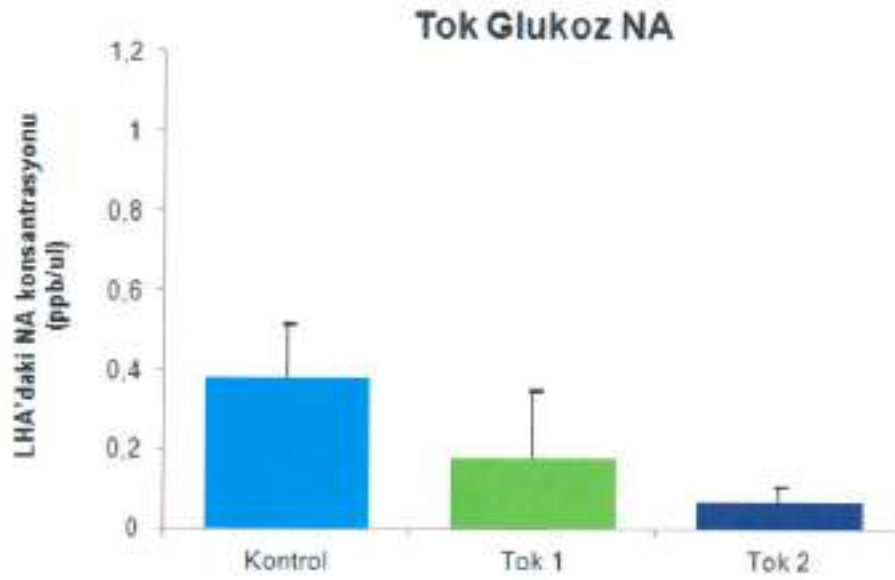
**Grafik 4.1.** Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki NA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.325$ ).



**Grafik 4.2.** Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki NA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.013$ ).



**Grafik 4.3.** Tok hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki NA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.846$ ).



**Grafik 4.4.** Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki NA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.06$ ).

#### 4.4. Aç Ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DHPG Seviyeleri

24 saat boyunca aç bırakılan hayvanlara sabah saat 09.30' da anestezi altında LHA' ya beyin mikrodializ uygulandı. Kuyruk veninden iv SF uygulamasıyla ilk 20. dakika ve 40. dakika DHPG değerleri ve kontrol grubundaki DHPG değeri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p=1.00$ ). Iv glukoz uygulanan grupta glukoz uygulandıktan sonraki ilk 20. dakika ve 40. dakika DHPG değerleri karşılaştırıldığında glukoz uygulamasını takiben istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p=0.71$ ). Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara aynı işlem uygulandığında SF grubunda DHPG seviyeleri ( $p=0.68$ ), glukoz grubunda DHPG seviyeleri ( $p=0.71$ ) istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Tablo 4. 11. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DHPG değerleri

N	Aç SF DHPG (ppb/ $\mu$ l)		
	Kontrol	1	2
1	0,313445	0,355489	0,488601
2	0,32048	0,40858	0,43584
3	0,361645	0,297672	0,364503
4	0,260574	0,309653	0,285911
5	0,24579	0,219849	0,237326
6	0,26618	0,263817	0,24634
7	0,24645	0,274479	0,2809
8	0,224631	0,240404	0,221718
9	0,321195	0,295803	0,288219
10	0,268433	0,2609	0,248098

**Tablo 4. 12.** Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DHPG değerleri

Aç Glukoz DHPG (ppb/μl)			
N	Kontrol	1	2
1	0,400721	0,285581	0,492998
2	0,376924	0,457714	0,365822
3	0,309104	0,306465	0,354148
4	0,3207	0,336034	0,396929
5	0,3002	0,253594	0,349993
6	0,34884	0,277886	
7	0,27327	0,247712	0,215825
8	0,264586	0,285691	0,265466
9	0,229412	0,282173	0,241503
10	0,277942	0,460682	0,229412

**Tablo 4. 13.** Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DHPG değerleri

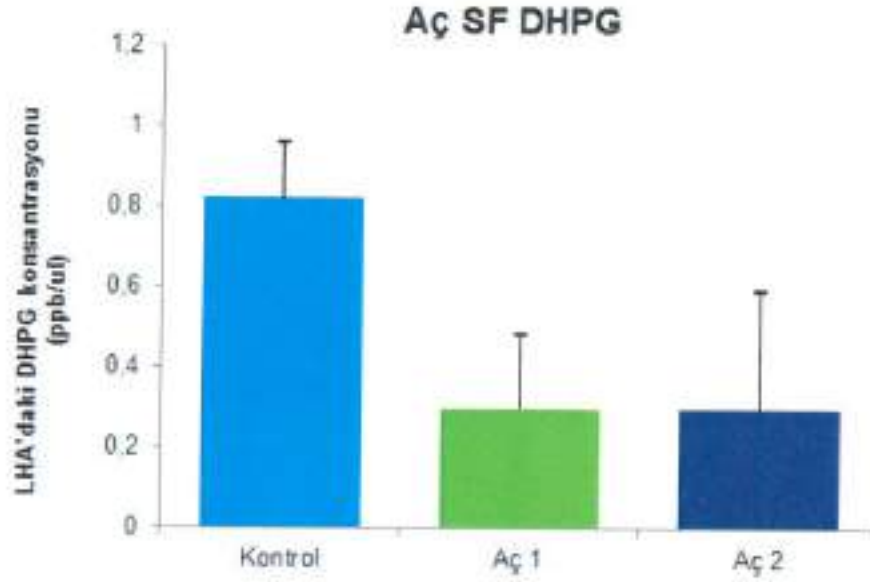
Tok SF DHPG (ppb/μl)			
N	Kontrol	1	2
1	0,429465	0,424519	
2	0,270247	0,296463	0,377803
3	0,400612	0,307455	0,452548
4	0,378408	0,382859	0,369229
5	0,280909	0,452768	0,322514
6	0,280909	0,452768	0,322514
7	0,30009	0,260299	0,339771
8	0,352033	0,364942	0,261069
9	0,354171	0,282173	0,29976

**Tablo 4.14.** Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DHPG değerleri

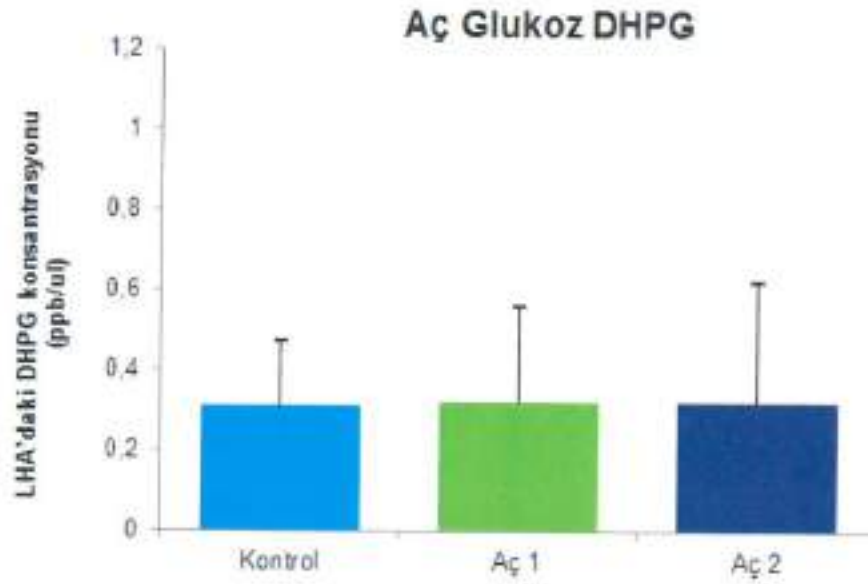
Tok glukoz DHPG (ppb/μl)			
N	Kontrol	1	2
1	0,256398	0,292066	0,310752
2	0,255243	0,394291	0,215123
3	0,343673	0,406052	0,534218
4	0,369669	0,27106	0,363733
5	0,382035	0,427706	0,328669
6	0,488162	0,472004	0,26019
7	0,333616	0,269752	0,266235
8	0,230748	0,254144	0,248318
9	0,248098	0,257991	0,35472

**Tablo 4.15.** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DHPG değerleri (AO±SH)

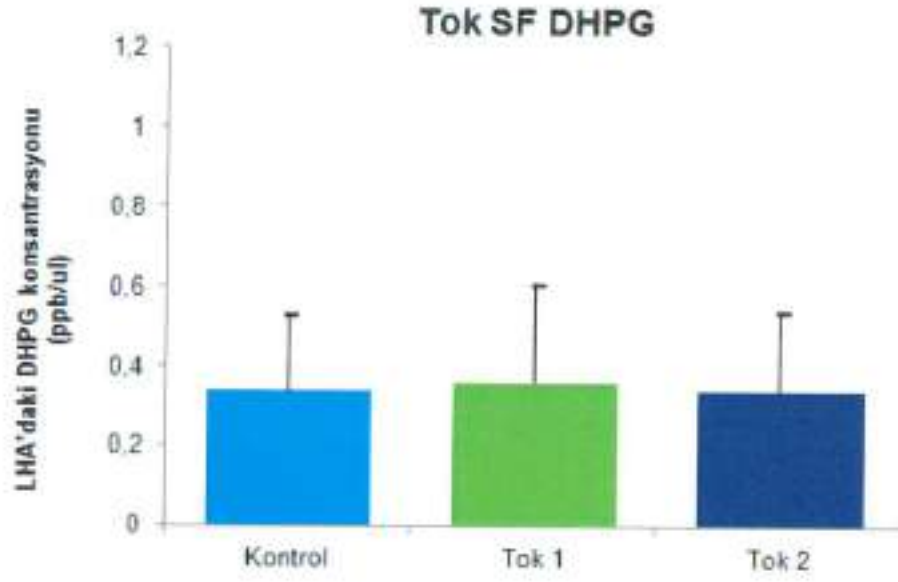
Gruplar	Kontrol	1	2
Aç SF DHPG AO±SH	0.82±0.14	0.30±0.18	0.3±0.29
Aç Glukoz DHPG AO±SH	0.31±0.16	0.32±0.24	0.32±0.30
Tok SF DHPG AO±SH	0.34±0.19	0.36±0.25	0.34±0.20
Tok Glukoz DHPG AO±SH	0.32±0.03	0.34±0.28	0.32±0.32



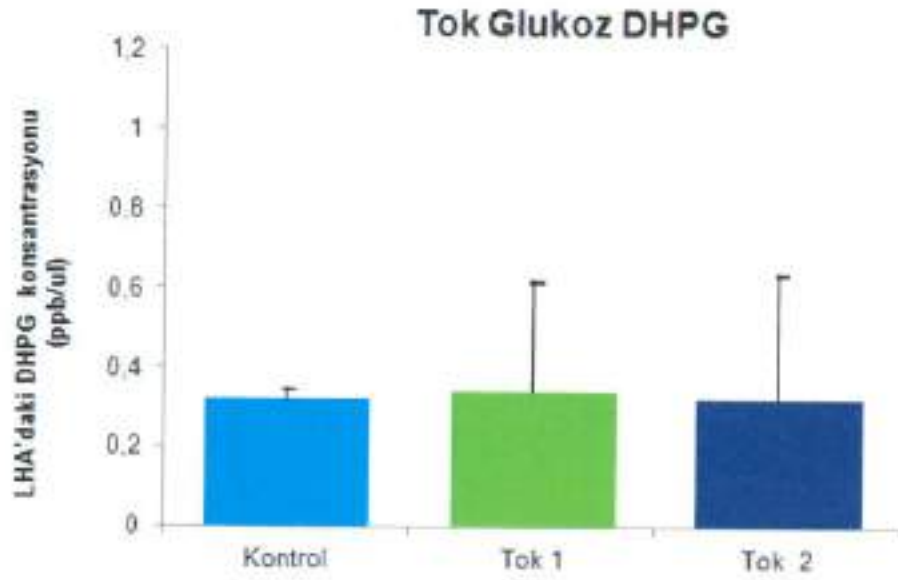
**Grafik 4.5.** Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=1.00$ ).



**Grafik 4.6.** Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.71$ ).



**Grafik 4.7.** Tok hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.68$ ).



**Grafik 4.8.** Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DHPG konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.71$ ).

#### 4.5. Aç Ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DOPAC Seviyeleri

24 saat boyunca aç bırakılan hayvanlara sabah saat 9.30' da anestezi altında LHA' ya beyin mikrodializ uygulandı. Kuyruk veninden iv SF uygulamasıyla ilk 20. dakika ve 40. dakika DOPAC değerleri ve kontrol grubundaki DOPAC değeri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p=0.67$ ). Iv glukoz uygulanan grupta glukoz uygulandıktan sonraki ilk 20. dakika ve 40. dakika DOPAC değerleri karşılaştırıldığında glukoz uygulamasını takiben istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p=0.49$ ). Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara aynı işlem uygulandığında SF grubunda DOPAC seviyeleri ( $p=0.68$ ), glukoz grubunda DOPAC seviyeleri ( $p=0.36$ ) istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Tablo 4. 16. Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DOPAC değerleri

Aç SF DOPAC (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,126983	0,197533	0,258057
2	0,001151	0,001853	0,001963
3	0,46625	0,227934	0,001801
4	0,381581	0,012288	0,893
5	0,252935	0,252656	0,698586
6	0,421504	0,327767	0,147199
7	0,540072	0,101932	0,081553
8	0,188327	0,915329	0,437344
9	0,454605	0,0344	0,327099
10	0,2298	0,477433	0,718246

**Tablo 4. 17.** Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DOPAC değerleri

Aç glukoz DOPAC (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,014151	0,23005	0,300874
2	0,168942	0,363736	0,371086
3	2,922876	0,248202	6,167021
4	0,354271	0,506219	0,259616
5	0,402664	0,308502	0,34397
6	0,36691	0,01819	0,138625
7	0,47517	0,051598	0,018302
8	0,431776	0,01201	0,535596
9	0,543505	2,869092	3,065908
10	0,53188	0,826153	0,624427

**Tablo 4. 18.** Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DOPAC değerleri

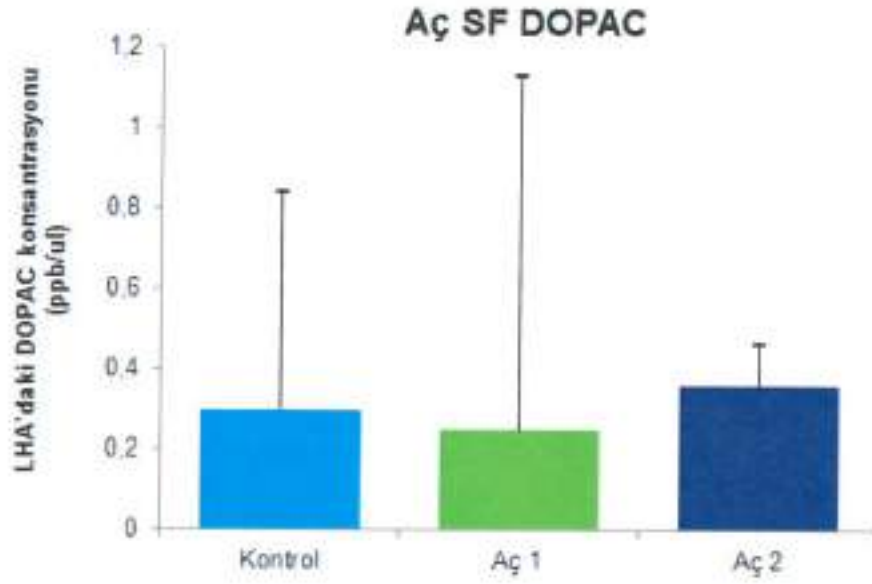
Tok SF DOPAC (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,063096	0,078769	
2	0,031865	0,098257	0,143636
3	0,203672	0,2124	0,173424
4	0,306192	0,286509	0,193469
5	0,292467	0,336231	0,099259
6	0,292467	0,336231	0,099259
7	0,318747	0,311231	0,164516
8	0,188152	0,0727	0,262901
9	0,773369	0,726876	1,423424

**Tablo 4. 19.** Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DOPAC değerleri

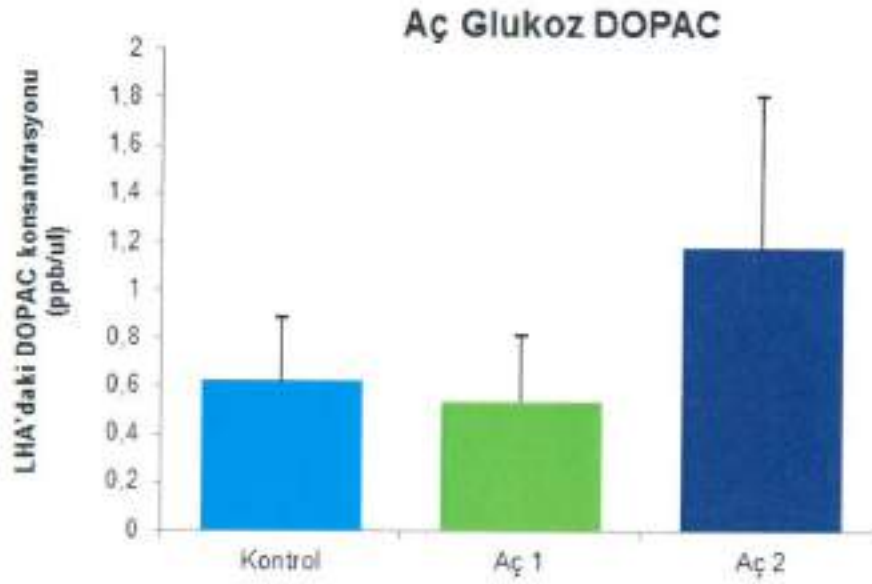
Tok Glukoz DOPAC (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,077071	0,042021	0,167634
2	0,11666	0,001316	0,132333
3	0,062207	0,167745	0,23946
4	0,042109	0,206331	0,002043
5	0,151014	0,16289	0,252934
6	0,301849	0,049259	0,090072
7	0,380969	0,170473	0,090262
8	0,297617	0,413625	1,267082
9	0,855774	0,685117	0,848814

**Tablo 4.20.** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DOPAC değerleri (AO±SH)

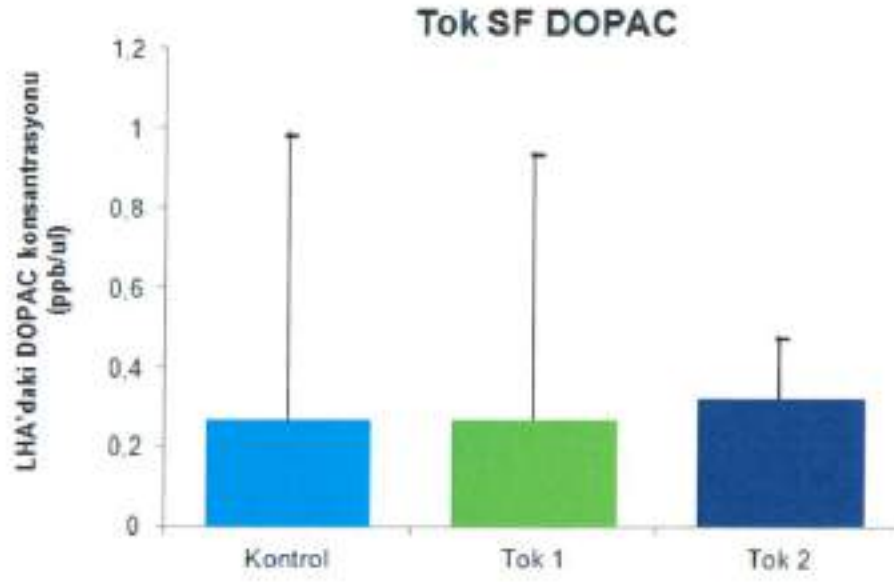
Gruplar	Kontrol	1	2
Aç SF DOPAC AO±SH	0.30±0.54	0.25±0.88	0.36±0.10
Aç Glukoz DOPAC AO±SH	0.62±0.26	0.54±0.27	1.18±0.62
Tok SF DOPAC AO±SH	0.27±0.72	0.27±0.67	0.32±0.16
Tok Glukoz DOPAC AO±SH	0.25±0.85	0.21±0.71	0.34±0.14



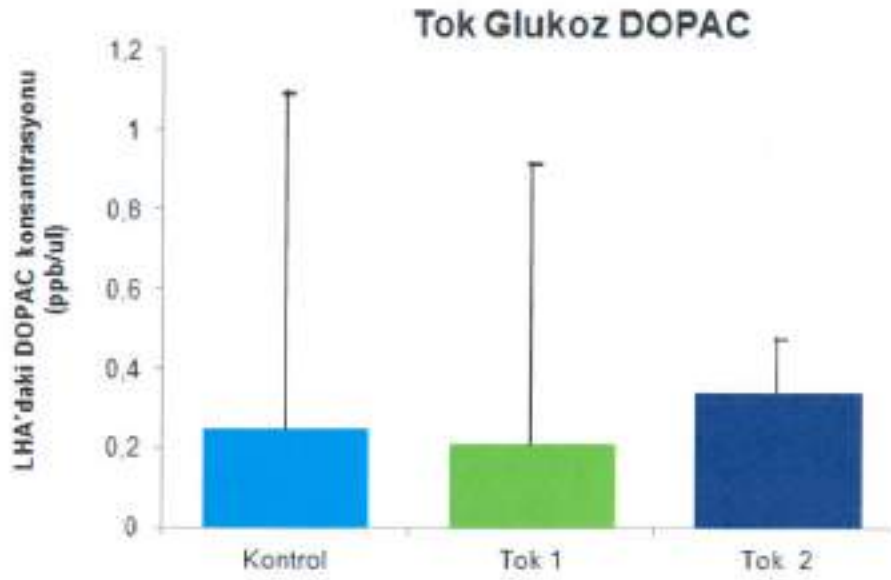
**Grafik 4.9.** Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.67$ ).



**Grafik 4.10.** Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.49$ ).



**Grafik 4.11.** Tok hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.68$ ).



**Grafik 4.12.** Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DOPAC konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.36$ ).

#### 4.6. Aç ve Tok Hayvanlarda SF ve Glukoz Uygulaması Sonucu DA Seviyeleri

24 saat boyunca aç bırakılan hayvanlara sabah saat 09.30' da anestezi altında LHA' ya beyin mikrodializ uygulandı. Kuyruk veninden iv SF uygulamasıyla ilk 20. dakika ve 40. dakika DA değerleri ve kontrol grubundaki DA değeri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p= 0.74$ ). Iv glukoz uygulanan grupta glukoz uygulandıktan sonraki ilk 20. dakika ve 40. dakika DA değerleri karşılaştırıldığında glukoz uygulamasını takiben istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p=0.15$ ). Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvanlara aynı işlem uygulandığında SF grubunda DA seviyeleri ( $p=0.36$ ), glukoz grubunda DA seviyeleri ( $p=0.89$ ) istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. DA seviyeleri aç hayvanlarda glukoz enjekte edilen grupta tok hayvanlara göre çok az azalma gözlenirse de, istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4. 21.** Aç bırakılan hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DA değerleri

Aç SF DA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,006875	0,004847	0,002604
2	0,004532	0,004548	0,003404
3	0,002032	0,003425	0,002161
4	0,062782	0,004216	0,006042
5	0,006591	0,004541	0,007628
6	0,006149	0,00616	0,002456
7	0,005891	0,005383	0,00657
8	0,2032	0,709402	0,155888
9	0,20304	0,006235	0,663848
10	0,364831	1,097324	0,008488

**Tablo 4. 22.** Aç bırakılan hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DA değerleri

Aç glukoz DA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,004528	0,332508	0,149335
2	0,003479	0,005657	0,008316
3	0,212412	0,698852	0,219823
4	0,005033	0,004393	0,006295
5	0,007181	1,05305	0,008839
6	0,015021	0,005813	0,13447
7	0,412586	0,008673	0,002768
8	0,002955	0,005084	0,00353
9	0,145529	1,208379	0,616856
10	0,209593	0,053753	0,985918

**Tablo 4. 23.** Tok hayvanlarda SF uygulanan gruptaki DA değerleri

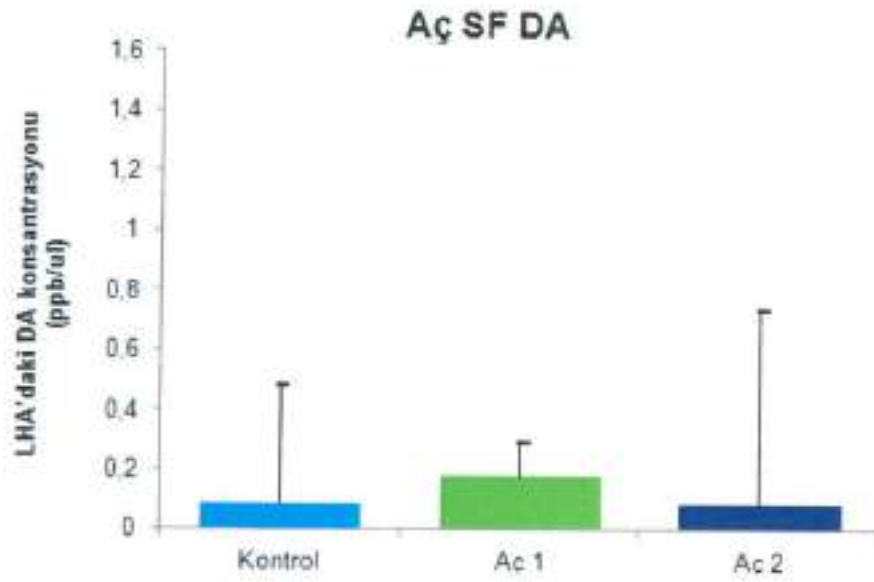
Tok SF DA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,004476	0,006649	
2	0,00535	0,00285	0,004206
3	0,011506	0,005211	0,003641
4	0,004566	0,058388	0,004016
5	0,01625	0,004976	0,006026
6	0,007528	0,007071	2,531056
7	0,006285	0,004274	0,006216
8	0,005593	0,317163	0,006543

**Tablo 4. 24.** Tok hayvanlarda glukoz uygulanan gruptaki DA değerleri

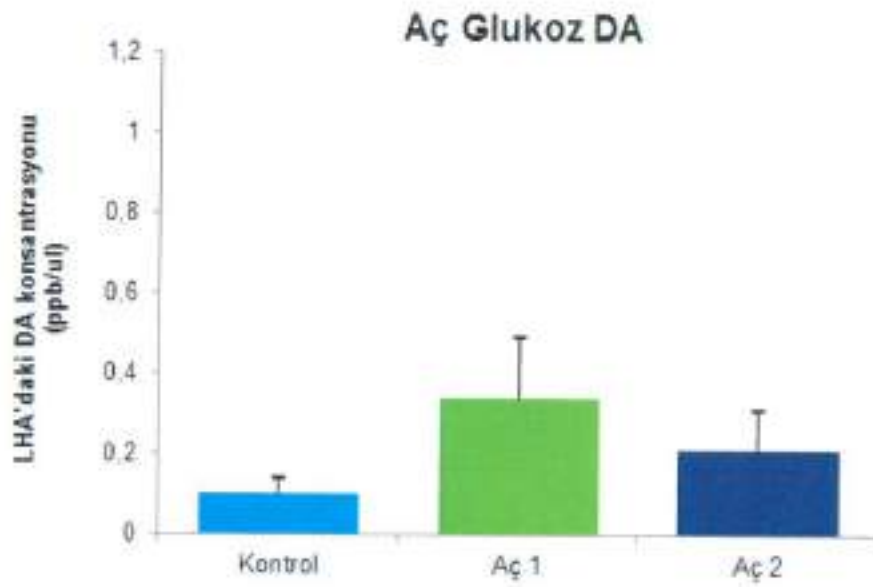
Tok glukoz DA (ppb/ $\mu$ l)			
N	Kontrol	1	2
1	0,56995	0,003137	0,005166
2	0,008078	0,170593	0,003617
3	0,003958	0,001839	0,003008
4	0,003444	0,002	0,024503
5	0,005802	0,295266	0,28152
6	0,251548	0,088278	0,044642
7	0,141294	0,008206	0,006987
8	0,004368	0,004422	0,007607
9	0,003509	0,004274	0,006293

**Tablo 4. 25:** Normal beslenme şartlarında tutulan tok hayvan grubu ve 24 saat aç bırakılan hayvan grubunda LHA' daki DA değerleri (AO±SH)

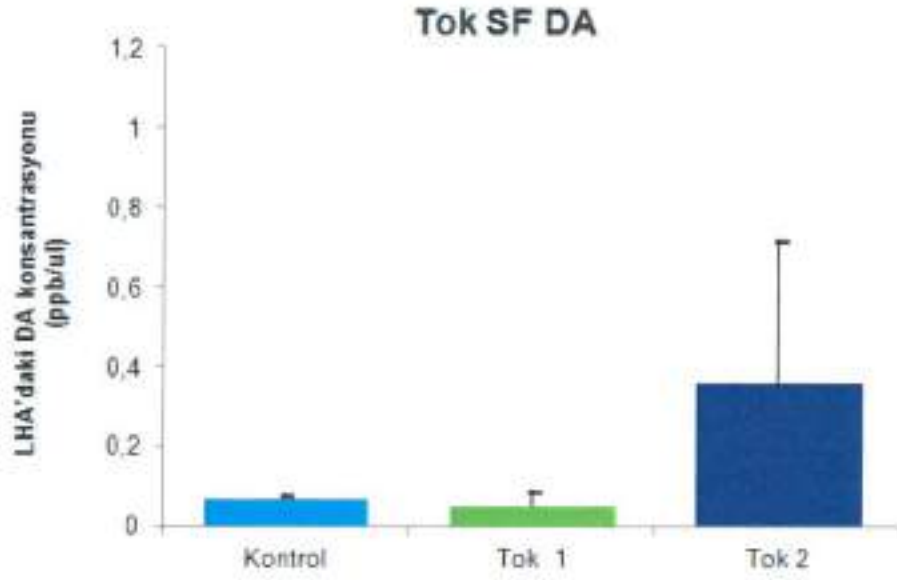
Gruplar	Kontrol	1	2
Aç SF DA AO±SH	0.087±0.4	0.18±0.12	0.086±0.66
Aç Glukoz DA AO±SH	0.10±0.04	0.34±0.15	0.21±0.10
Tok SF DA AO±SH	0.07±0.01	0.05±0.04	0.36±0.36
Tok Glukoz DA AO±SH	0.11±0.06	0.06±0.03	0.04±0.03



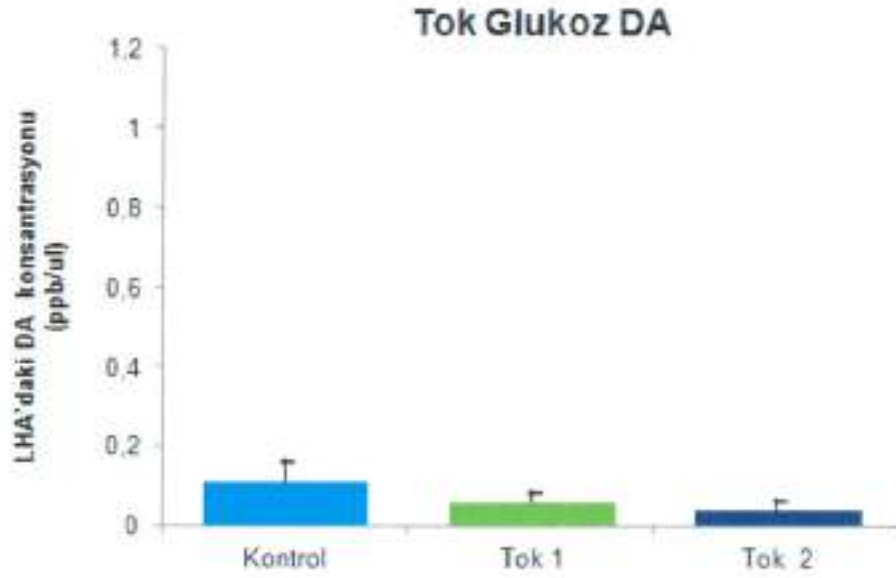
**Grafik 4.13.** Aç bırakılan hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.07$ ).



**Grafik 4.14.** Aç bırakılan hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Aç 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Aç 2: 40. dak), ( $p=0.15$ ).



**Grafik 4.15.** Tok hayvanlarda iv SF uygulamasıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv SF uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.36$ ).



**Grafik 4.16.** Tok hayvanlarda iv glukoz uygulamasıyla LHA' daki DA konsantrasyon değişimi (Kontrol: 0.dak, Tok 1: iv glukoz uygulamasını takiben 20. dak, Tok 2: 40. dak), ( $p=0.89$ ).

## 5. TARTIŞMA

Vücuda alınacak besin miktarını ve iştahı düzenleyen en önemli sinirsel merkezler hipotalamusta bulunur. Beyin beslenme davranışının bilinen koordinatörüdür ve hipotalamus beslenmeyle ilgili süreçlerin kontrol edildiği merkezi sinir sistemi bölümüdür (Mayer 1953). İnsan ve hayvanlarda ventromediyal nükleus tokluk, lateral hipotalamik alan ise açlık sinyallerini alan merkez olarak bilinmektedir (Guyton&Hall 2013). ARC hipotalamusun besin alımı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve enerji sinyallerinin algılanıp değerlendirilmesinde rol alan enerji çekirdeğidir (Debons ve ark. 1982; Meister ve ark. 1989; Bergen ve ark. 1998; Funahashi ve ark. 2000). ARC, NPY, AgRP ve iştah baskılayıcı etkisiyle bilinen  $\alpha$ -melanin uyarıcı hormon öncülü proopiomelanokortin (POMC) ifade edilen nöronların popülasyonunu içerir (Valassi ve ark. 2008). Bunlardan NPY/AgRP nöronları oreksijenik etkili iken, POMC/CART nöronları ise anoreksijenik etkilidir. NPY/AgRP ve POMC/CART nöronlarının ARC'den hipotalamusun diğer bölgeleri olan PVN, DMN, VMN ve LHA'ya projeksiyon olur (Ahima ve ark. 2000).

LHA hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış glukoz duyarlı nöronlar içeren beslenme merkezidir ve hipoglisemi aracılığıyla uyarılmış hiperfajide önemli bir rol oynar (Bernardis ve ark.1996). Kan şekeri düzeyinde meydana gelen bir düşüş gıda alımının başlamasını işaret edebilir. LHA glukopeni aracılığıyla aktive olan glukoz duyarlı nöronlar içerir ve böylece kısa sürede beslenme ve enerji tüketimde olumlu bir düzenleme yapar. Oreksin nöronlarının hepsi ya da bazıları glukoz duyarlı nöron olabilir ya da glukoz duyarlı nöronlardan uyarılan projeksiyonlar alabilir (Sakurai ve ark. 1998).

Oreksijenik nöronlar kan glukozu düştüğünde ve mide boşaldığında uyarılmaktadır. İnsüline veya besin kısıtlamasına bağlı gelişen hipoglisemide hipotalamik preprooreksinin mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Glukoz duyarlı sinirlerin hipoglisemiye bağlı beslenmeye aracılık ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Bir elektrofizyolojik çalışmada, düşük glukozla veya yüksek glukozla uyarılan glukoz duyarlı sinirlerden bazılarının oreksijenik sinirlerle sinaps yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca OXA'nın LHA' daki glukoz duyarlı sinirleri uyardığı, VMN'deki glukoz duyarlı sinirleri ise baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle

hipogliseminin kısmen, oreksijenik sinirleri aktive ederek beslenmeyi uyardığı iddia edilmektedir (Gültekin ve Şahin 2005).

LHA'da katekolaminlerin aracılığıyla besin alımı değişir. LHA'ya doza bağlı NA ve DA uygulantısı sıçanlarda besin alımını arttırmıştır (Takemasa 1991). Mediyal hipotalamik nükleusdaki NA ve DA salınımındaki artış besin alımını uyarır. Monoamin salınımındaki bu etki özellikle besin alımı, yemek boyutu ve yemek sayısı ile ilgili olan lateral ve mediyal hipotalamik alanlar arasında koordinasyon olduğunu gösterir (Meguid ve ark 2000).

Çalışmamızda besin alımı üzerinde düzenleyici etkisi bilinen LHA' da mikrodializ yöntemi kullanılarak 24 saat aç bırakılan hayvanlar ve normal beslenen hayvanlarda kan glukoz seviyesini arttırdığımız zaman katekolamin seviyelerinde nasıl bir değişim olduğunu gözlemledik. 24 saat aç bırakılan hayvanlarda kuyruk veninden iv yolla %50'lik 0.5/0.8 cc glukoz uyguladığımız zaman ilk 20. dakika LHA' daki NA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ( $p < 0.001$ ). NA değerleri, metaboliti olan DHPG'den oldukça yüksek düzeylerdeydi. Bu bulgu, uyguladığımız deney prosedürü sayesinde NA'nın çok az oranda metabolize olarak, mikrodializ süpernatantlarında yer aldığını göstermektedir. Mikrodializ süpernatantlarının toplandığı ependorf tüplerinin buzlu su bulunan küçük beherler içinde bulunmasının yanında, süpernatantların HCl çözeltisi içine birikmesinin, monoamin oksidaz NA metabolizmasında etkili olan diğer bazı enzimlerin aktivitesini engelleyerek yüksek NA düzeylerinin korunmasını sağladığı söylenebilir. DA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi ( $p > 0.05$ ).

Kalra ve arkadaşları NPY' nin besin alımındaki teşvik edici etkisini ve leptinin besin alımını azaltan etkisini ekstrasellüler NA seviyesini artırarak ya da azaltarak değiştirebildiğini araştırmışlardır (Wellman 2000). Beyindeki merkezi NA seviyeleri leptin salınımını düzenler. Leptin ve NA ters bir ilişki içindedir. Leptin besin alımını azaltmak için NA etkisini azaltır, beyinde NA seviyesinin azalmasıyla besin alımını azaltabilir. Çalışmamızda aç hayvanlarda iv glukoz uygulandığı zaman NA seviyesinde bir azalma gözlemlendi. Kan glukoz seviyesinin artması sonucu anoreksijenik bir peptit olan leptin glukozu duyarlı ARC ve LHA nöronlarını inhibe eder. Bu hücrelerde leptin reseptörlerinin artmasıyla glukozu duyarlı VMN

nöronlarını uyarır. Tokluk merkezinin uyarılması ile besin alımı durur (Funahashi ve ark. 2003).

Benzer bir çalışmada eksojen glukoz verilmesiyle besin alımını artıran oreksijenik bir peptit olan ghrelinin düzeyinde azalma tespit edilmiştir (Schwarz 2011; Broglio ve ark. 2004). Ghrelin iştah açıcı etkisini hipotalamusta ARC' de bulunan NPY ve AgRP üzerinden yapar (Kojima ve ark. 1999). NPY' de yemek yeme davranışını uyarıcı nörotransmitterdir. NPY ve NA beyindeki nöronlarda beraber bulunur ve beyin sapından birlikte salgılanırlar. Birçok çalışma NPY etkisiyle beyindeki NA salınımını artırdığını göstermiştir (Wellman 2000). NPY, genç ve yaşlı farelerde K<sup>+</sup>'nin teşvik ettiği NA salınımını artırır (Hastings ve ark. 1997; Matos ve ark.1996).

Brunetti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise leptinin azalmasıyla fare sinaptozomundan NA ve DA salınımının arttığını yazmıştır. Leptinin lateral ventriküle uygulanışı nükleus akkübensde DA salıverilmesinde önemli bir azalmaya yol açmaktadır (Krügel ve ark. 2003). Artan leptin yemek yeme davranışını bastırmak için NA aktivitesini azaltır, halbuki leptinin yokluğunda NA salınımında artış sonucunda besin alımı da artar. Leptin üreten gen eksikliği olan obez (ob/ob) farelerin hipotalamusunda NA seviyelerinde artış gözlenmiştir (Paul ve Wellman 2000).

Morien ve arkadaşlarının PVN' de yaptığı çalışmada farelerde 24 saatlik bir sürede, PVN'deki ekstrasellüler NA seviyesini belirlemiş ve besin alımını kaydetmiştir. Yiyeceklerin % 70' den fazlasını karanlık fazda tüketen sıçanlarda (Moore 1983) PVN'deki ekstrasellüler NA seviyesi, karanlık fazın başlangıcından hemen önce zirveye çıkmıştır (Stanley ve ark.1989). Mikrodializ çalışmaları, karanlık fazın başlangıcında PVN' deki endojen NA salınımında ani bir artış olduğunu gösterir. Eksojen NA' nın beslenmeyi tetikleyen etkilere olan hassasiyeti karanlık fazın başlangıcında artar (Bhakhavatsalam ve ark. 1986) ve  $\alpha_2$ -adrenoreseptör sayısında da bir artış olur (Jhanwar ve ark. 1986; Kow ve ark. 1989).

Berlan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada  $\alpha_2$ -adrenoreseptör antagonistleri yohimbin ve atipamezole'nin oral verilisinin köpeklerde besin alımını bastırdığını söylemiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, beslenme üzerindeki benzer

yasaklayıcı etkiler  $\alpha_2$ . adreno reseptör antagonisti idozoxanın düzenli uygulaması ile besin alımını bastırmıştır (Alexander ve ark. 1992). Antiobezite ilaçlarının kısmen  $\alpha_1$ . adreno reseptörlerinin aktivasyonu ile yemeyi azaltabileceği gösterilmiştir. (Mitchell ve ark.1998)

Abizaid ve arkadaşları LHA' daki lezyonlara benzer dopamin genindeki herhangi bir mutasyon ya da eksikliğin besin alımını engellediğini belirtmiştir. NPY,  $\alpha$ -MSH, AgRP, oreksin ve MCH gibi hipotalamik peptitler nükleus akkumbensdeki dopaminerjik hücrelerin aktivitesini düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. ARC'de leptin ve ghrelin gibi sinyallerden gelen metabolik bilginin nükleus akkumbense direk projeksiyonları aracılığıyla mezolimbik dopaminerjik sistemin etkisini değiştirir. Ghrelin'e duyarlı LHA' daki oreksin nöronların aracılığıyla VTA dopamin hücreleri innerve eder ve ghrelin DA salınımını direk olarak artırır (Abizaid 2009).

Blum ve arkadaşları yaptığı çalışmada SN ve striatum içine mikrodializ probolar yerleştirmiştir. 50 mM glukoz infüzyonu sırasında ilk 40 dakika SN' den striatuma DA akışında % 50 artış gözlenmiştir ve 60 dakika sonra ana hatta dönmüştür. Değişen SN glukoz seviyeleri striatal dopamin salınımını etkiler. Bizim çalışmamızda iv glukoz uyguladığımız zaman DA ve DA metaboliti olan DOPAC seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç çıkmadı.

Yapılan çalışmalar gösteriyor ki, insanlarda besin ipuçlarına maruz kalmak, striatumdaki DA artışlarına sebep oluyor; bu da yemek yeme isteği ile alakalıdır (Volkow ve ark. 2002). Şartlanmayla ilişkisine ek olarak DA aynı zamanda besinleri temin etmek ve tüketmek için gerekli olan davranışları ortaya koyma motivasyonu ile de alakalıdır. Aslında, DA' nın besin tatmini ile olan ilişkisi bir yiyeceği "beğenme"nin zıttına, güdüsel dikkat çekme ya da yiyeceği "isteme" ile ilişkilendirilmiştir (Berridge 2009). LHA' dan beslenme öncesi ve sonrası mikrodializ yöntemiyle alınan örneklerde toklukla ilişkili DA azalmıştır. DA' nın metabolitleri dihidroksifenilasetikasit (DOPAC) ve homovanilik asit (HVA) artmıştır (Bernardis ve Bellinger 1996).

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışmanın bulgularına göre sistemik glukoz uygulanması hem aç bırakılmış, hem de tok hayvanlardaki LHA' daki noradrenalin düzeyini belirgin olarak azaltmıştır. Bu bulgu, LHA'daki noradrenerjik nörotransmisyonun plazma glukozuyla ilişkili bir şekilde modüle olabileceğini göstermektedir. LHA' daki NA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ( $p= 0.01$ ). NA değerleri, metaboliti olan DHPG' den oldukça yüksek düzeylerde dir. Bu bulgu, uyguladığımız deney prosedürü sayesinde NA 'nın çok az oranda metabolize olarak mikrodializ süpernatantlarında yer aldığını göstermektedir. Aç ve tok hayvanlardaki DHPG değerlerinde ise istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Çalışmamızda DA seviyeleri aç hayvanlarda tok hayvanlara göre çok az azalma gözlemlense de, istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p=0.15$ ). Bunun sebebi HPLC-ECD sisteminin analiz edebileceği konsantrasyondan daha düşük düzeyde DA bulunması olabilir. Uyguladığımız yöntemle göre glukoz uygulamasının DA konsantrasyonunda meydana getirdiği olası değişiklikleri analiz edemedik. Daha ileri yıllarda daha düşük konsantrasyonlarda DA analiz edebileceğimiz sistemler geliştiği zaman olası değişiklikler varsa bu şekilde ortaya çıkarılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Abe K, Kuo L, Zukowska Z. Neuropeptide Y is a mediator of chronic vascular and metabolic maladaptations to stress and hypernutrition. *Exp Biol Med* (Maywood). (2010). 235:1179-1184.
2. Abizaid A, Horvath T. Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regulatory Peptides* 149 (2008): 3-10
3. Abizaid A. Ghrelin and Dexamethasone: New Insights on the Peripheral Regulation of Appetite. *Journal of Neuroendocrinology* 21, 2009:787-793
4. Ahima R.S., Saper C.B., Flier J.S. ve Elmquist J.K., 2000. Leptin Regulation of Neuroendocrine Systems. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21 (3): 263-307
5. Ahlskog JE, Hoebel BG. Overeating and obesity from damage to a noradrenergic system in the brain. *Science* 1973;182:166-9.
6. Alsobrook II JP, Leckman JF, Goodman WK, Rasmussen SA, Pauls DL. Segregation analysis of obsessive compulsive disorder using symptom-based factor scores. *Am J Med Genet* 1999; 15,88:669-75
7. Antin J, Gibbs J, Smith GP. Cholecystokinin interacts with pregastric food stimulation to elicit satiety in the rat. *Physiol Behav* 1978; 20: 67-70.
8. Aramakis VB, Stanley BG and Ashe JH: (1996). Neuropeptide Y receptor agonists: Multiple effects on spontaneous activity in the paraventricular hypothalamus. *Peptides* 17(8):1349-57.
9. Arom S. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity. *Neuropeptides*. 2006;40:375-401.
10. Arthur C. Guyton & John E. Hall. *Textbook of Medical Physiology* 12 th edition. 2014.
11. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394: 790-793.
12. Baskin DG, Figlewicz Lattemann D, Seeley RJ, et al. Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res* 1999;848:114
13. Bergen H, Mizuno T., Taylor J. ve Mobbs C., 1998. Hyperphagia and Weight Gain After Gold-Thioglucose: Relation to Hypothalamic Neuropeptide Y and Elmquist J.K., Elias C.F. ve Saper C.B., 1999. From Lesions to Leptin. *Hypothalamic Control of Food Intake and Body Weight. Neuron*, 22 (2): 221-232.
14. Bernardis L.L., Box B.M. ve Stevenson J.A. Growth Following Hypothalamic Lesions in the Weanling Rat. *Endocrinology*, 72: 684-692,1963
15. Bernardis L, Bellinger L. The lateral hypothalamic area revisited: neuroanatomy, body weight regulation, neuroendocrinology and metabolism. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, Vol.17, pp. 141-193,1993
16. Bernardis L, Bellinger L. The Lateral Hypothalamic Area Revisited: Ingestive Behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. 20, No. 2, pp. 189-217,1996
17. Bivens LM, Thomas WJ, Stanley BG: (1998). Similar feeding patterns are induced by perifornical neuropeptide Y injection and by food deprivation. *Brain Research* 782:271-280.
18. Borg W.P., Sberwin R.S., Daring M.J, Borg M.A. ve Shulman G.I., 1995. Local Ventromedial Hypothalamus Glucopenia Triggers Counterregulatory Hormone Release. *Diabetes*, 44: 180-184.
19. Cai XJ, Liu XH, Evans M, Clapham JC, Wilson S, Arch JR, Morris R, Williams G. Orexins and feeding: special occasions or everyday occurrence? *Regul Pept*. 2002 Mar 15;104(1-3):1-9.
20. Chiesi M, Huppertz C, Hofbauer KG. Pharmacotherapy of obesity: targets and perspectives. *Trends in Pharmacological Sciences* 2001; 22: 247-254.
21. Conn MP. , Freeman ME. *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press. Inc. 2010. Totowa, New Jersey. p:344-349
22. Debons A., Siclari E., Das K. ve Fuhr B., 1982. Gold Thioglucose-Induced Hypothalamic Damage, Hyperphagia, and Obesity: Dependence on the Adrenal Gland. *Endocrinology*, 110: 2024-2049.
23. Elmquist J, Elias C, Saper C. From Lesions to Leptin: Hypothalamic Control of Food Intake and Body Weight. *Neuron*, Vol. 22, 221-232, February, 1999.
24. Flier J.S. 2006. AgRP in Energy Balance: Will the Real AgRP Please Stand Up? *Cell Metab.*, 3: 83-85.
25. Frihbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochemical Society* 2006; 393: 7- 20.
26. Funahashi H, Yamada S, Kageyama H, Takenoya F, Guana J, Shiota S. Co-existence of leptin and orexin receptors in feeding regulating neurons in the hypothalamic arcuate nucleus: a triple labeling study. *Peptides* 24 (2003) 687-694.
27. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316: 129-39.
28. Barrett K, Barman S, Boitano S, Brooks H. *Garong's Tibbi Fizyolojisi*, 23rd edition, 2011
29. Gareth Williams, Joanne A. Harrold and David J. Cutler. The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box. *Proc Nutr Soc*. 2000. Aug;59 (3):385-96.
30. Gehlert DR: (1999). Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding, and obesity. *Neuropeptides* 33(5):329-338.

31. Gehlert, D.R., 2004. Introduction to the reviews on Neuropeptide Y. *Neuropeptides* 38 (4), 135–140.
32. Geisler, S. and Wise, R. (2008) Functional implications of glutamatergic projections to the ventral tegmental area. *Rev.Neurosci.* 19, 227–244
33. Glucosensing Neurons in the Ventromedial Hypothalamic Nucleus. *Diabetes*, 50: 2673–2681.
34. Graham M., Shutter J.R., Sarmiento U., Sárosi I. ve Stark K.L., 1997. Overexpression of *Agrt* Leads to Obesity in Transgenic Mice. *Nat. Genet.*, 17: 273–4.
35. Gropp E, Shanabrough M, Borok E, Xu AW, Janoschek R, Buch T, Plum L, Balhazar N, Hampel B, Waisman A, Barsh GS, Horvath TL, Brüning JC. *Nat Neurosci.* 2005 Oct;8(10):1289-91. Epub 2005 Sep 11.
36. Guyton & Hall. *Tıbbi Fizyoloji Kitabı*. Editör: Yeğen BÇ, Nobel Tıp Kitabevi, 2013, 12. Baskı, İstanbul, s: 843-851
37. Gültekin H, Şahin S. Oreksinler (bipokretinler): Obezite tedavisinde yeni hedef moleküller. *EÜ Tıp Fak Derg.* 2005;15 (2): 85-90
38. Hall H, Halldin C, Dijkstra D, Wikström H, Wise LD, Pugsley TA, Sokoloff P, Pauli S, Farde L, Sedvall G. Autoradiographic localisation of D3-dopamine receptors in the human brain using the selective D3-dopamine receptor agonist (+)-3H/DPD 128907. *Psychopharmacology (Berl)* 1996;128: 240-247.
39. Hall H, Sedvall G, Magnusson O, Kopp J, Halldin C, Farde L. Distribution of D1- and D2-dopamine receptors, and dopamine and its metabolites in the human brain. *Neuropsychopharmacology*, 1994; 11:245-256.
40. Hervieu, G. J., Cluderay, J. E., Harrison, D. C., Roberts, J. C., & Leslie, R. A. (2001). Gene expression and protein distribution of the orexin-1 receptor in the rat brain and spinal cord. *Neuroscience* 103, 777– 797.
41. Hetherington A.W. ve Ranson S.W., 1942. The Relation of Various Hypothalamic Lesions to Adiposity in the Rat. *J. Comp. Neurol.*, 76: 475-499.
42. Homrich JG, Gentil CG, Peres-Polon VL, Covian MR. Feeding behavior elicited by electrical stimulation of the lateral hypothalamic area in the rat: role of the adrenergic pathways and receptors. *Bras J Med Biol Res.* 1985;18(1):15-27
43. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschöp M: Ghrelin and the regulation of energy balance a hypothalamic perspective (Review). *Endocrinology*, 2001; 142: 4163- 4169.
44. (<http://www.oynurhas.com.tr/wpcontent/uploads/2014/05/TP%2525C4-%202525HypotalamusI.jpg&imgrefurl> (22.07.2015)).
45. Inui A. (1999). Neuropeptide Y: a key molecule in anorexia and cachexia in wasting disorders? *Molecular Medicine Today*, 5: 79-85.
46. Inui, A., 2000. Transgenic approach to the study of body weight regulation. *Pharmacol. Rev.* 52 (1), 35–62.
47. Joyce JN, Murray A. Distribution of D1- and D2-like dopamine receptors in human brain. *Dopamine Receptors and Transporters*. In: Niznik HB editor, New York: Marcel Dekker Publisher, 1994; 345–399.
48. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. New York, McGraw-Hill; 2000.
49. Karteris E, Machado RJ, Chen J, Zervou S, Hillhouse EW, Randevo HS. Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signaling in rat hypothalamus and adrenal cortex. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005 Jun;288(6):E1089-100.
50. Kaye WH, Bertolini W, Gwirtsman H, George DT. (1990). Altered cerebrospinal fluid neuropeptide Y and peptide YY immunoreactivity in anorexia and bulimia nervosa. *Arch Gen Psychiatry*, 47: 548-556.
51. Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H. ve Kangawa K., 1999. Ghrelin is a Growth-Hormone-Releasing Acylated Peptide from Stomach. *Nature*, 402 (6762): 656-60.
52. Krügel U, Schraft T, Kötter H, Kiess W, Illes P. (2003). Basal and feeding-evoked dopamine release in the rat nucleus accumbens is depressed by leptin. *Eur J Pharmacol* 482(1-3): 185-187.
53. Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine and dietary manipulations. *Endocrinology* 2002;143:185–90.
54. Lewis D.E., Shillard L., Koeslag D.G., Boer D.E., McCarthy H.D., McKibbin P.E., Russell J.C. ve Williams G., 1993. Intense Exercise and Food Restriction Cause Similar Hypothalamic Neuropeptide Y Increases in Rats. *Am. J. Physiol.*, 264: 279–284.
55. Maggi P, Vettor R, Fagiano C, Calcagno A, Beretta E, Messi E, Zanisi M, Martini L, Motta M. Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin releasing hormone-secreting neurons. *Endocrinology* 1999; 140: 1581-1585.
56. Malik PE. Leptin, Obesity, and Obstructive Sleep Apnea. *Chest*. 2000;118:569-571.
57. Marturana A, Koch G. "Is dopamine involved in Alzheimer's disease?". *Front Aging Neurosci.* 2014 Sep 25; 6: 252.
58. Mc Keon P, Murray R. Familial aspect of obsessive compulsive neurosis. *British Journal of Psychiatry* 1987; 151:528-534
59. Mayer J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake, *National England Journal of Medicine*. 1953;249, 13-16
60. Mayer, J. Regulation of energy intake and the body weight: The glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1958, 63, 15-43.

61. Mayer J, Thoma DJ. Regulation of food intake and obesity. *Science* 1967;156:328-37
62. Meister B. Control of Food Intake Via Leptin Receptors in the Hypothalamus. *Vitam. Horm.* 2000;59: 265–304.
63. Meister B. Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiology & Behavior* 92 (2007) 263–271
64. Meguid MM, Yang Z-J, Laviano A. Meal size and number: relationship to dopamine levels in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Am J Physiol* 1997;272:R1925
65. Michael M, Meguid, MD, PhD, Serguei O. Fetissov, MD, PhD, Madhu Varma, MD, MS, Tomoi Sato, MD, Lihua Zhang, MD, PhD, Alessandro Laviano, MD, and Filippo Rossi Fanelli, MD. Hypothalamic Dopamine and Serotonin in the Regulation of Food Intake. *Nutrition* Volume 16, Number 10, 2000
66. Moore RY. Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Fed Proc* 1983;42:2783
67. Moran, T.H., Schwartz, G.J., 1994. Neurobiology of cholecystokinin. *Crit. Rev. Neurobiol.* 9, 1–28
68. Morgan, T.H., 2000. Cholecystokinin and satiety: current perspectives. *Nutrition* 16, 858–865.
69. Morgan, T.H., 2004. Gut peptides in the control of food intake: 30 years of ideas. *Physiol. Behav.* 82, 175–180
70. Morley, J.E., 1982. The ascent of cholecystokinin (CCK): from gut to brain. *Life Sci.* 1982, 30 (6), 479–493.
71. Morley, J.E. (1987). Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocrine Reviews.* 1987;3, 256-287
72. Nicholls J, Martin R, Fuchs P., Brown D., Weisblat D. *From Neuron to Brain*. Fifth Edition. Sinauer, USA, 2012:286-297
73. Nora D, Volkow, Gene-Jack Wang, Ruben D. Baker. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. *Trends in Cognitive Sciences* January 2011, Vol. 15, No. 1
74. O'Shea D, et al: Neuropeptide Y induced feeding in the rat is mediated by a novel receptor. *Endocrinology* 138(1):196
75. Paul J. Wellman, PhD. Norepinephrine and the Control of Food Intake. *Nutrition* 2000; 16:837– 842
76. Pauls DL, Towbin KE, Leckman JF, Zahner GE, Cohen DJ Gilles de la Tourette's syndrome and obsessive compulsive disorder. Evidence supporting a genetic relationship. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43 :1180-2
77. Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. *Science* 1995; 269: 540-543.
78. Peschke D, Teichmann J, Peschke E. Pineal influence on annular nuclear volume in ventromedial hypothalamic nucleus neurons of the male wistar rat. *Chronobiol Int* 2000;17:15
79. Prins, J.B., O'Rahilly, S. (1997). Regulation of adipose cell number in man. *Clinical Science*, 92 (1), 311
80. Porte D Jr, Baskin DG, Schwartz MW. Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev* 2002; 60: 20-29.
81. Rasmussen SA. Genetic studies of obsessive compulsive disorder. *Current Insight in Obsessive Compulsive Disorder*. Hollender E, Zohar J, Marazziti D (Ed); John Wiley and Sons England 1994:93-114
82. Responsive Neurons in Ventromedial Hypothalamus (VMH) in Rats. *Neuroscience Research*, 55 (4): 451–457.
83. Robert J. Denver, Ronald M. Bonett, Graham C. Boese. Evolution of Leptin Structure and Function. *Neuroendocrinology* 2011; 94: 21–38.
84. Reselli-Reh fuss L., Mountjoy K.G., Robbins L.S., Mortrud M.T., Low M.J., Tatso J.B., Entwistle M.L., Simerly R.B. ve Cone R.D., 1993. Identification of A Receptor for Gamma Melanotropin and Other Proopiomelanocortin Peptides in the Hypothalamus and Limbic System. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 8856-8860
85. Rossi M., Kim M.S., Morgan D.G., Small C.J., Edwards C.M., Senter D. ve ark., 1998. AC-Terminal Fragment of Agouti-Related Protein Increases Feeding and Antagonizes the Effect of Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone In Vivo. *Endocrinology*, 139: 4428–31.
86. Ruggiero D.A., Giuliano R., Anwar M., Sternetta R. ve Reis D.J., 1990. Anatomical Substrates of Cholinergic-Autonomic Regulation in the Rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 292 (1): 1–53.
87. Saha PR, Dastur K, Keshavan MS, Katerji MA . Obsessivecompulsive disorder, Tourette's syndrome, and basal ganglia pathology on MRI (Letter). *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1998;10:116-117
88. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli R, Tanaka H, Williams S, Richardson A, Kozlowski G, Wilson S, Arch J, Buckingham R. Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell*, Vol. 92, 573–585, February 20, 1998
89. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H et al. Orexin and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998;92:573–85.
90. Saper C.B., Lu J., Chou T.C. ve Gooley J., 2005. The Hypothalamic Integrator for Circadian Rhythms. *Trends in Neurosciences*, 28 (3): 152–157.
91. Satoh N., Ogawa Y., Katsura G., Tsuji T., Masuzaki H., Hiraoka J., Okazaki T., Tamaki M., Hayase M., Yoshimasa Y., Nishi S., Hasoda K. ve Nakao K., 1997. Pathophysiological Significance of the Obese Gene Product, Leptin, in Ventromedial Hypothalamus (VMH)-Lesioned Rats: Evidence for the Loss of Its. *Endocrinology*. 1997 Mar;138(3):947-54.

92. Schwartz M.W., Woods S.C., Porte D.J., Seeley R.J. ve Baskin D.G., 2000. Central Nervous System Control of Food Intake. *Nature*, 404: 661–671.
93. Shioda S, Takenoya F, Yagi M, Wang L, Hori Y and Kageyama H. Neural networks of several novel neuropeptides involved in feeding regulation. *Nutrition* 24 (2008) 848–853
94. Shiraishi T. Noradrenergic neurons modulate lateral hypothalamic chemical and electrical stimulation-induced feeding by sated rats. *Brain Res Bull.* 1991 Sep-Oct;27(3-4):347-51
95. Smart D, Jerman J. The physiology and pharmacology of the orexins. *Pharmacology & Therapeutics* 94 (2002) 51– 61
96. Smart D. Orexins: a new family of neuropeptides. *Br J Anaesth.* 1999 Nov;83(5):695-7.
97. Song Z, Levin BE, McArdle JJ, Bakhos N, Routh VH. Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes.* 2001 Dec;50(12):2673-81
98. Stanley S.A., Small C.J., Murphy K.G., Rayes E., Abbott C.R., Seal L.J., Morgan D.G., Sumter D., Dakin C.L., Kim M.S., Hunter R., Kuhar M., Ghatei M.A. ve Bloom S.R., 2001. Actions of Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript (CART) Peptide on Regulation of Appetite and Hypothalamo-Pituitary Axes In Vitro and In Vivo in Male Rats. *Brain Res.* 893 (1–2): 186–194
99. Sutcliffe, J. G., & DeLecea, L. (2000). The hypocretins: excitatory neuromodulatory peptides for multiple homeostatic systems, including sleep and feeding. *J Neurosci Res* 62, 161–168.
100. Szent P. Common factors among Alzheimer's disease, parkinson's disease, and epilepsy: possible role of the noradrenergic nervous system. *Epilepsia.* 2012; 53 (Suppl. 1): 61–66
101. Trillo L, Das D, Hsieh W, Medina B, Moghaddam S, Lin B, Dang V, Sanchez MM, De Maqueo Z, Ashford JW, Salehi A. Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. Translating basic science into clinical care. *Neurosci Biobehav Rev.* 1023 Sep; 37 (8): 1363-79.
102. Troude JD, Marien M, Darios F, Hartmann A, Ruberg M, Colpaert F, Michel PP. Noradrenaline provides long-term protection to dopaminergic neurons by reducing oxidative stress. *J. Neurochem.*2001 Oct; 79 (1): 200-10.
103. Traver S, Salthun-Lassalle B, Marien M, Hirsch EC, Colpaert F, Michel PP. The neurotransmitter noradrenaline rescues septal cholinergic neurons in culture from degeneration caused by low-level oxidative stress. *Mol Pharmacol.* 2005; 67: 1882–91.
104. Tapala E, Tiihonen J. Dopamine and alcoholism: neurobiological basis of ethanol abuse. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28:1221-1247.
105. Ungerstedt U. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl*1971;367:95–122.
106. Vanessa H. Routh. Glucose Sensing Neurons in the Ventromedial Hypothalamus. *Sensors* 2010, 10, 9002-9025
107. Valsassi E., Scacchi M. Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2008; 18: 158-168
108. Volkow N, Wang G, Baler R. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. *Trends in Cognitive Sciences*, January 2011, Vol. 15, No. 1
109. WHO. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Technical Report. 2000:894
110. Wren Am, Seal LJ, Cohen MA, Byrnes AE, Frost GS, Murphy KG, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992.
111. Williams, G., Joanne, A., Harold, Cutler, D.J., 2000. The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: Lifting the lid on the black box. *Proc. Nutr. Soc.* 59, 385–396.
112. White J.D. ve Kershaw M., 1990. Increased Hypothalamic Neuropeptide Y Expression Following Food Deprivation. *Mol. Cell. Neurosci.*, 1: 41–48.
113. Xu Y, Yan J, Zhou P, Li J, Gao H, Xia Y, Wang Q. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2012 Apr; 97 (1): 1-13
114. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425–432.
115. Zhong H., Patterson L.M. ve Berthoud H.R., 2002. CART in the Dorsal Vagal Complex: Sources of Immunoreactivity and Effects on Fos Expression and Food Intake. *Brain Res.*, 957 (2): 298–310.

8. EK-A



T.C.  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi**  
**(KONÜDAM)**



Karar Sayısı: 2014 – 040

Karar Tarihi: 26.03.2014

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'den Yrd.Doç.Dr.Z.İşık SOLAK GÖRMÜŞ ve Hatice SOLAK tarafından sunulan "**Sıçanlarda Damar İçi Glukoz Uygulanmasının Lateral Hipotalamik Alandaki Katekolaminlere Etkisinin Mikrodializ Yöntemiyle Araştırılması**" başlıklı Tez Projesi 9 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 4 grupta toplam 40 adet sıçan (Wistar Albino) kullanılacağı ve sıçanların anestezisi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6'da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.K.Esra  
**NURULLAHOĞLU ATALIK**  
Başkan

Prof.Dr.Leyla TAVLI  
Üye

Prof.Dr.A.Saide ŞAHİN  
Üye

Prof.Dr.Selim  
KUTLU  
Üye

Prof.Dr.Mehmet ENGÜL  
Üye

Doç.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKKARTALLAR  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Mehmet  
ERGİN  
Üye-İzinli

Dr.M.Metin  
ŞENER  
Üye

Vet.Hek.Alpaslan  
ÖZKÜRÇÜLER  
Üye

Mustafa ŞARIN  
Üye

Adres:N.E.Ü.Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, 42080-Meram/KONYA  
Tel: (0332) 223 71 11, Faks: (0332) 223 71 24 e-posta: konudam@konya.edu.tr  
Web Adresi: <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam> Bilgi: 223 71 11

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1986 Konya' da doğdu. İlk ve orta eğitimini Karma İlköğretim Okulunda tamamladıktan sonra 2003' te Konya Atatürk Lisesinde lise eğitimini tamamladı. 2005 yılında kazandığı Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2009 yılından mezun oldu. 2010 yılında NEÜ Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliğinde tezsiz yüksek lisans yaptı. 2012 yılında NEÜ Meram Tıp Fakültesi Kan Merkezi çalıştı. 2013 yılında NEÜ Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD yüksek lisansa başladı. 2013 yılında Fizyoloji laboratuvarında çalışmaya başladı.