



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Fizyoloji Anabilim Dalı
Fizyoloji

Doktora Tezi

**YÜKSEK KALORİLİ DİYET UYGULANAN FARELERDE HİPOTALAMİK
PARAVENTRİKÜLER NÜKLEUSTAKİ DOPAMİN SİNYALLEŞMESİ
ÜZERİNDE APELİN ETKİSİNİN FİBER FOTOMETRİ YÖNTEMİYLE
ARAŞTIRILMASI**

Yasin Ali ÇİMEN
ORCID: 0000-0002-8787-3108

Danışman
Prof. Dr. Selim KUTLU
ORCID: 0000-0001-9257-4797

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından 23DR18005 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Öğrenci, TÜBİTAK tarafından 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında doktora eğitimi süresince burs almıştır.

Konya – 2024

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Fizyoloji alanında kendimi geliştirebilmem için elinden gelen her türlü imkânı benim için seferberlik eden, her zaman benim için bir hocadan daha fazlası olan değerli danışmanım Prof. Dr. Selim KUTLU'ya,

Her türlü desteğini sunan Prof. Dr. Ercan KURAR'a, Prof. Dr. Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e ve Doç. Dr. Faik ÖZDENGÜL'e,

Bezmialem Vakıf Üniversitesinde her zaman desteğini hissettiğim Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA'ya, Dr. Öğr. Üyesi Aysu KILIÇ'a, Arş. Gör. Esra Betül İpek'e, Mert YILMAZ'a, Öğr. Gör. Dr. Ufuk ve Alime SARIKAYA'ya,

Yeditepe Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bayram YILMAZ'a, Dr. Yavuz YAVUZ'a, Dr. Cihan Süleyman ERDOĞAN'a ve bu bölümde çalışan değerli asistan arkadaşlarıma,

Beni her zaman destekleyen, güvenen, maddi ve manevi yanımda olan hayatımdaki en önemli üç kadına; anneme, eşime ve ablama,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri biriminde görev yapan ve resmi işlerde bize çok yardımcı olan başta Hakan GÜMÜŞCAN olmak üzere tüm ekip üyelerine,

Doktora eğitimim boyunca Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-A Genel Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında doktora burs desteği için TÜBİTAK'a,

Tezimi 23DR18005 no'lu proje ile destekleyen NEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda görev yaptığım süre boyunca bölüm başkanlığı yapmış, üzerimde emeği olan merhum Hocam Prof. Dr. İsmail MERAL'e sonsuz saygılarımı sunuyorum ve rahmetle anıyorum.

Yasin Ali ÇİMEN

Eylül 2024

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TEZ ONAY SAYFASI	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	viii
KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xv
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Obezite	3
2.1.1. Obezite epidemiyolojisi	3
2.1.2. Besin alımı ve enerji dengesi.....	5
2.2. Hipotalamus	5
2.2.1. Hipotalamus ve besin alımı	6
2.2.2. Paraventriküler çekirdek	7
2.2.3. Paraventriküler çekirdek ve besin alımı.....	8
2.3. Dopamin.....	9
2.3.1. Dopaminerjik nöronlar	9
2.3.2. Dopaminerjik yolaklar	10
2.3.3. Dopaminerjik reseptörler	11
2.3.4. Dopamin ve besin alımı	12
2.3.5. Dopamin ve obezite ilişkili inflamasyon.....	13
2.4. Apelin.....	14
2.4.1. Apelin–APJ reseptör sistemi	15
2.4.2. Apelin ve glukoz metabolizması	16
2.4.3. Apelin-APJ sisteminin obezite üzerindeki etkisi.....	17
2.5. PVN, dopaminerjik reseptörler ve apelin ilişkisi	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanları	21
3.2. GRAB _{DA} Sensörleri	23
3.3. Stereotaksik İntrakraniyal Cerrahi.....	23
3.3.1. PVN bölgesine virüs enjeksiyonu.....	23

3.3.2. PVN bölgesine fiber fotometrik ferül yerleştirme	25
3.4. Davranış Testleri.....	25
3.4.1. Açık alan testi	26
3.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi	27
3.4.3. Sosyal etkileşim testi (Üç odacıklı test)	27
3.5. İn vivo GRAB _{DA} Sensör Aktivitesi Hesaplaması.....	28
3.6. Kardiyak Perfüzyon ve Görüntüleme	32
3.7. İstatistik Analizi.....	32
4.BULGULAR	33
4.1. Vücut Ağırlıkları.....	33
4.2. Tüketilen Yem Miktarı	33
4.3. Glukoz Seviyeleri	34
4.4. Davranış Deneyleri Bulguları.....	35
4.4.1. Açık alan testi bulguları	35
4.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları.....	37
4.4.3. Sosyal etkileşim testi (Üç odacıklı test) bulguları	39
4.5. Fiber Fotometri Analizi Bulguları	40
5.TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
6.1. Sonuç.....	52
6.2. Öneriler	52
7. KAYNAKLAR.....	53
8. EKLER.....	62
8.1. EK1 Etik Kurul Kararı.....	62

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **YASİN ALİ ÇİMEN**'nin "**Yüksek Kalorili Diyet Uygulanan Farelerde Hipotalamik Paraventriküler Nükleustaki Dopamin Sinyalleşmesi Üzerinde Apelin Etkisinin Fiber Fotometri Yöntemiyle Araştırılması**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 20.09.2024

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Selim Kutlu Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Zülfikare Işık Solak Görmüş Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ercan Kurar Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Orhan Tansel Korkmaz Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Bilge Pehlivanoğlu Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 02/10/2024 tarih ve 22/23 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

‘Yüksek Kalorili Diyet Uygulanan Farelerde Hipotalamik Paraventriküler Nükleustaki Dopamin Sinyalleşmesi Üzerinde Apelin Etkisinin Fiber Fotometri Yöntemiyle Araştırılması’ başlıklı tez çalışmamın toplam **41** sayfalık kısmına ilişkin, 04.10.2024 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%10** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Ön söz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%20) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

04.10.2024

Yasin Ali Çimen

Prof. Dr. Selim Kutlu

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

20.09.2024

Yasin Ali ÇİMEN



KISALTMALAR

AgRP: Aguti ile ilişkili protein

AMPK: AMP aracılı protein kinaz

APJ: Apelin reseptörü

ARC: Arkuat çekirdek

BM: Birleşmiş Milletler

CART: Kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript

CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon

DA: Dopamin

DAT: Dopamin transferaz

DMN: Dorsomedial çekirdek

DOPA Dekarboksilaz: L-amino asit dekarboksilaz

DS: Dorsal striatum

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

ERK1/2: Hücre dışı düzenlenmiş kinazlar 1/2;

FFA: Serbest yağ asidi

Foxo3a: Forkhead box protein O 3a

GPER: G proteini eşlenik reseptör

GRAB_{DA}: G-protein eşlenik reseptör aktivasyon temelli dopamin sensörleri

ICL3: Hücre içi bölge 3

LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol

LHA: Lateral hipotalamik alan

MC3R: Melanokortin 3 reseptörleri

MC4R: Melanokortin 4 reseptörleri

MSH: Melanosit uyarıcı hormon

NAC: Nükleus akumbens

ND: Normal diyet

NPY: Nöropeptid Y

NTS: Nükleus traktus solitarius

OT: Oksitosin

PBN: Parabrakial çekirdek

PET: Pozitron emisyon tomografisi

PKC: protein kinaz C

POMC: Pro-opiomelankortin

PVN: Paraventriküler çekirdek

ROS: Reaktif oksijen türleri

SIRT3: Sirtuin 3

SN: Substansiya nigra

SNc: Substansiya nigra pars compacta

T2D: Tip 2 diyabet

TH: Tirozin hidroksilaz

TRH: Tirotropin salgılatıcı hormon

VM: Ventral orta beyin

VMN: Ventral medial çekirdek

VP: Vazopressin

VTA: Ventral tegmental alan

YYD: Yüksek yağlı diyet



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 2.1. Enerji homeostazının hipotalamik düzenlenmesi.....	7
Şekil 2.2. Beyindeki dopaminerjik yollar.....	11
Şekil 2.3. Diyabet ve komplikasyonlarında apelin-APJ sisteminin mekanizması.....	17
Şekil 3.1. Fiber fotometri yönteminin ve devam eden deney prosedürü aşamalarının temsili şeması.....	22
Şekil 3.2. Beyin içi virüs enjeksiyonu yapılan örnek fareler.....	24
Şekil 3.3. Beyin içi ferül implantı yapılan farelere örnekler.....	25
Şekil 3.4. Açık alan testinin uygulama örneği.....	26
Şekil 3.5. 405 nm ve 470 nm dalga boyu işlenmemiş veri sinyal kaydı grafiği.....	29
Şekil 3.6. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının ikinci aşama sonrası sinyal grafiği.....	29
Şekil 3.7. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının üçüncü aşama sonrası sinyal grafiği.....	30
Şekil 3.8. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının dördüncü aşama sonrası sinyal grafiği.....	30
Şekil 3.9. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının negatif olmayan sağlam doğrusal regresyon fonksiyonu sonrası grafiği.....	31
Şekil 3.10. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydından hesaplanan z-skor dF/F grafiği.....	31
Şekil 3.11. Enjeksiyon yapılan ve ferül implante edilen fare beyinlerinden örnek görüntü.....	32
Şekil 4.1. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının 0. ve 28. gün vücut ağırlıkları bar grafiği	33
Şekil 4.2. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının ortalama tükettikleri yem miktarları bar grafiği.....	34
Şekil 4.3. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının haftalık kan glukoz seviyelerini gösteren çizgi grafiği.....	34
Şekil 4.4. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde merkezde geçirilen zaman (%) değerleri.....	35
Şekil 4.5. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde toplam katedilen mesafe değerleri.....	36
Şekil 4.6. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde ortalama hız değerleri.....	36
Şekil 4.7. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda geçirilen zaman (%) değerleri.....	37
Şekil 4.8. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kolda geçirilen zaman (%) değerleri.....	38

Şekil 4.9. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltilmiş artı labirent testinde merkez alanda geçirilen zaman (%) değerleri.....	38
Şekil 4.10. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının sosyal etkileşim testindeki sosyal indeks skoru değerleri.....	39
Şekil 4.11. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının sosyal etkileşim testindeki sosyallik tercih skoru değerleri.....	40
Şekil 4.12. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının 30 dakikalık fiber fotometri z-skor (dF/F) kaydının çizgi grafiği.....	40
Şekil 4.13. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın çizgi grafiği	41
Şekil 4.14. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın ısı grafiği.....	41
Şekil 4.15. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın AUC bar grafiği.....	42
Şekil 4.16. A+ND grubundan bir farenin (A), 405 nm kontrol sinyali; (B), 470 nm GRABDA kaynaklı sinyal verilerine örnek ham veri grafiği.....	43

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı
Fizyoloji
Doktora Tezi

YÜKSEK KALORİLİ DİYET UYGULANAN FARELERDE HİPOTALAMİK PARAVENTRİKÜLER NÜKLEUSTAKİ DOPAMİN SİNYALLEŞMESİ ÜZERİNDE APELİN ETKİSİNİN FİBER FOTOMETRİ YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Yasin Ali ÇİMEN

Konya-2024

Obezitenin temel nedenleri arasında enerji dengesizliği, yani alınan kalorilerin harcanan kalorilerden fazla olması yer almaktadır. Bu enerji dengesizliği, özellikle yüksek yağlı diyetlerin tüketimiyle daha da belirgin hale gelmektedir. Obezite nörodejeneratif hastalıkların ve beyin fonksiyon bozukluklarının patolojik mekanizmasına katılmaktadır. Apelin ve dopamin (DA) aktivitesinin besin alımı ve obezite süreçlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, apelinin, normal diyet ve yüksek yağlı diyetle beslenme durumlarında paraventriküler çekirdekteki (PVN) DA'ejrik nörotransmisyona etkisinin fiber fotometri yöntemiyle araştırılmasıdır.

Çalışmada yetişkin erkek 32 adet C57bl/6 fareler, normal diyet (ND), yüksek yağlı diyet (YYD), apelin+normal diyet (A+ND), apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) grupları olarak 4'e ayrıldı. PVN'deki DA'ejrik etkinliği belirlemek için fiber fotometri tekniği kullanıldı. Tüm farelerin PVN bölgelerine sterotaksik cihazda dopaminerjik sensör enjeksiyonları yapıldı ve fiber optik ferüller aynı lokalizasyona implante edildi. Hayvanlar 15 gün dinlendirildi. Hayvanlar sonraki 28 gün boyunca yüksek yağlı diyet ve normal diyetle beslendi. Bu süre zarfında 100µg/kg (i.p) dozunda apelin gün aşırı uygulandı. Yem tüketim miktarı, vücut ağırlığı, kan glikozu takibi ve davranış deneyleri yapılan hayvanlardan 28. gün sonunda fiber fotometri kayıtları alındı. DA'ejrik sinyal aktivitesi MATLAB kodlarıyla z-skor (dF/F) ve sonrasında z-skor (dF/F) grafiğinin eğri altında kalan alan (AUC) belirlendi. Bulgular tek yönlü varyans analizi ile tekrarlı ölçümler çift yönlü varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

ND ($p<0,01$), YYD ($p<0,001$) ve A+YYD ($p<0,001$) gruplarının 28. gün vücut ağırlıkları 0. güne göre anlamlı olarak artmıştı. 28. Gün, A+ND grubu vücut ağırlığı YYD ve A+YYD gruplarına göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0,001$). A+ND grubunda 21. ve 28. gündeki kan glukoz düzeyleri YYD grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$). Yem tüketim miktarları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. İlaç etkisinin maksimum gözlemlendiği zaman aralığında A+ND grubu AUC değeri ND ($p<0,05$) ve A+YYD ($p<0,05$) gruplarına kıyasla yüksekti. YYD grubu AUC değerleri ND grubuna göre azalma eğilimindeydi ($p>0,05$).

Bu çalışmanın sonuçları apelin uygulamasının farelerde vücut ağırlığı artışını baskıladığını ve hipotalamik PVN'deki DA'ejrik aktiviteyi artırdığını göstermektedir. Bu bulgular apelinin, obezitede azalan DA'ejrik aktivite üzerine koruyucu rol oynayabileceğini ve PVN'deki DA'ejrik aktivite üzerindeki olası düzenleyici rolünü işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, dopamin, dopamin reseptörleri, hipotalamus, PVN, yüksek yağlı diyet.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Physiology
Physiology
Doctoral Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF APELIN ON DOPAMINE SIGNALING IN HYPOTHALAMIC PARAVENTRICULAR NUCLEUS BY FIBER PHOTOMETRY METHOD IN MICE FED WITH HIGH CALORIE DIET

Yasin Ali ÇİMEN

Konya-2024

One of the main causes of obesity is energy imbalance, i.e. calories in more than calories out. This energy imbalance is particularly pronounced with the consumption of high-fat diets. Obesity participates in the pathological mechanism of neurodegenerative diseases and brain dysfunctions. Apelin and dopamine (DA) activities are thought to play a role in food intake and obesity processes. The aim of this study was to investigate the effect of apelin on DAergic neurotransmission in the paraventricular nucleus (PVN) under normal diet and high fat diet feeding conditions by fiber photometry.

In the study, 32 adult male C57bl/6 mice were divided into 4 groups as normal diet (ND), high fat diet (YYD), apelin+normal diet (A+ND), apelin+high fat diet (A+YYD) groups. Fiber photometry technique was used to determine DAergic activity in the PVN. Dopaminergic sensors were injected into the PVN of all mice in a stereotaxic device and fiber optic ferules were implanted in the same localisation. Animals were rested for 15 days. Animals were fed a high fat diet and a normal diet for the next 28 days. During this period, apelin at a dose of 100µg/kg (i.p) was administered every other day. Feed intake, body weight, blood glucose and behavioural experiments were monitored and fiber photometry recordings were taken at the end of the 28th day. DAergic signalling activity was determined by z-score (dF/F) and then area under the curve (AUC) of the z-score (dF/F) graph using MATLAB codes. Results were statistically evaluated by one-way analysis of variance and repeated measures two-way analysis of variance.

The body weights of the ND ($p<0.01$), YYD ($p<0.001$) and A+YYD ($p<0.001$) groups on day 28 were significantly higher than day 0. On day 28, body weight in the A+ND group was significantly lower than in the YYD and A+YYD groups ($p<0.001$). Blood glucose levels at 21 and 28 days were significantly lower in the A+ND group than in the YYD group ($p<0.05$). There was no significant difference between the groups in terms of feed consumption. The AUC value of A+ND group was higher than ND ($p<0.05$) and A+YYD ($p<0.05$) groups in the time interval when the maximum drug effect was observed. The AUC values of YYD group tended to decrease compared to ND group ($p>0.05$).

The results of this study show that apelin administration inhibits weight gain in mice and modulates dopaminergic activity in the hypothalamic PVN. These findings suggest that apelin may play a protective role on the decreased dopaminergic activity in obesity and suggest a possible modulatory role on dopaminergic activity in the PVN.

Keywords: Apelin, dopamine, dopamine receptors, high fat diet, hypothalamus, PVN.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite; sedanter yaşam, fiziksel aktivite yetersizliği ve sağlıklı beslenme gibi modern yaşamın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Apelinin ve dopaminin (DA) besin alımı gibi önemli fizyolojik süreçlerde rol oynadıkları bilinmektedir. Diyet durumuna bağlı olarak hipotalamusta bulunan apelin reseptörleri ve DA reseptörlerinin gen ifade düzeyleri değişkenlik göstermektedir. Apelinin, farklı beyin bölgelerindeki DA'ejrik nöron ateşlemelerini modüle ettiği yakın zamanda bildirilmiştir. Fakat besin alımı ve obezite durumunda paraventriküler çekirdekteki (PVN) DA'ejrik reseptör modülasyonunun apelin tarafından nasıl etkilendiğine dair bir araştırma bulgusu bulunmamaktadır. Apelinin ve DA'ejrik reseptörlerin PVN'deki yoğun varlığı göz önüne alındığında yüksek yağlı diyetle beslenme durumunda eksojen apelinin PVN'deki DA'ejrik reseptörlerin spontan aktivitesini parakrin bir şekilde regüle edip etmediğinin sorgulanması önem taşımaktadır. Bu araştırmanın hipotezi, eksojen apelinin yüksek kalorili diyet ile beslenen hayvanlarda PVN'deki DA'ejrik reseptör aktiviteyi regüle ettiğidir.

Çalışmamızda hipotezimizi test edebilmek amacıyla, yüksek yağlı diyet ile beslenmenin PVN'deki DA'ejrik reseptör aktivite değişimi üzerine etkisi ve eksojen apelinin PVN DA'ejrik reseptör aktiviteleri üzerindeki etkisi, normal beslenen farelerle karşılaştırmalı olarak G-protein eşlenik reseptör aktivasyon temelli DA sensörleri (GRAB_{DA}) ve fiber fotometri yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

Bu amaçla bu proje önerisinde:

- 1- Beyin içi PVN bölgesine GRAB_{DA} enjeksiyonu yapılan ve standart diyetle beslenen hayvanların PVN bölgesindeki DA'ejrik reseptör aktivitesinin *in vivo* fiber fotometrik değerlendirilmesi,
- 2- Beyin içi PVN bölgesine GRAB_{DA} enjeksiyonu yapılan, standart diyetle beslenen ve gün aşırı eksojen apeline maruz bırakılan hayvanların PVN bölgesindeki DA'ejrik reseptör aktivitesinin *in vivo* fiber fotometrik değerlendirilmesi,
- 3- Beyin içi PVN bölgesine GRAB_{DA} enjeksiyonu yapılan ve yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanların PVN bölgesindeki DA'ejrik reseptör aktivitesinin *in vivo* fiber fotometrik değerlendirilmesi,

4- Beyin içi PVN bölgesine GRAB_{DA} enjeksiyonu yapılan, yüksek yağlı diyetle beslenen ve gün aşıru eksojen apeline maruz bırakılan hayvanların PVN bölgesindeki DA' erjik reseptör aktivitesinin *in vivo* fiber fotometrik değerlendirilmesi ve sonuçların istatistiki olarak karşılaştırılması hedeflenmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite tüm dünyada prevalansı giderek artan kompleks ve kronik bir sağlık sorunudur (Blüher, 2019). Günümüzde dünya nüfusunun üçte birinin aşırı kilolu veya obez (Chooi ve ark., 2019) olarak sınıflandırıldığı ve bu eğilimin devam etmesi halinde 2030 yılına kadar bu oranın %57.8'e ulaşacağı bildirilmiştir (Kelly ve ark., 2008). Ayrıca, 2020 yılı başından bu yana devam etmekte olan KOVİT-19 salgını ile ilişkili fiziksel aktivite kısıtlamaları da vücut ağırlığı ve obezite oranlarının artmasına neden olmaktadır (Pryor ve Dietz, 2022). Genel olarak obezitenin, alınan ve harcanan enerji arasındaki dengesizlikten ve vücutta yağ birikiminin artmasından kaynaklandığı kabul edilmektedir (Blüher, 2019).

2.1.1. Obezite epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) obeziteyi sağlığı bozabilecek aşırı yağ birikimi olarak tanımlamaktadır ve vücut kitle indeksi 30 kg/m^2 'den büyük olduğu zaman obezite tanısı konmaktadır (WHO, 2009). Obezite, gelişmiş ve gelişmekte olan toplumları sosyal ve psikolojik olarak yıpratın, her yaş ve toplumun her sınıfından insanını etkileyen küresel bir sağlık sorunudur (Zorena ve ark., 2020). Birçok hastalık için önemli bir risk faktörü olan obezite, durumun ciddiyetine ve komorbidite bozukluklara bağlı olarak tahmini 5-20 yıllık yaşam beklentisinin azalmasıyla ilişkilidir (Berrington de Gonzalez ve ark., 2010; Fontaine ve ark., 2003).

Obezite metabolik hastalıkların (örneğin tip 2 diabetes mellitus ve karaciğer yağlanması hastalığı), kardiyovasküler hastalıkların (hipertansiyon, miyokard enfarktüsü ve inme), kas-iskelet sistemi hastalıklarının (osteoartrit), Alzheimer hastalığının, depresyonun ve bazı kanser türlerinin (örneğin meme, yumurtalık, prostat, karaciğer, böbrek ve kolon)) riskini önemli ölçüde artırmaktadır. Ayrıca obezite yaşam kalitesinin düşmesine, işsizliğe, üretkenliğin azalmasına ve sosyal dezavantajlara yol açabilir. Örnek olarak, obezitenin yaygın bir sonucu olan osteoartrit, engelliliğin ve erken emekliliğin önde gelen nedenlerinden birisidir (Woolf ve Pflieger, 2003). Daha da önemlisi, Dünya Obezite Federasyonu, Amerikan ve Kanada Tıp Birlikleri de dahil olmak üzere diğer kuruluşlar, obeziteyi diğer hastalıklar için sadece bir risk faktörü olmaktan farklı olarak, kronik ilerleyici bir hastalık olarak ilan etmişlerdir (Bray ve ark., 2017).

Obezitenin sağlığa ve toplumlara getirdiği yükün azaltılması ve obezite prevalansındaki artışı tersine çevrilmesi DSÖ için yüksek bir öncelik olup, obezite prevalansını 2010 yılındaki seviyesinde durdurma hedefi ‘Bulaşııcı Olmayan Hastalıkların nlenmesi ve Kontrolüne Yönelik Küresel Eylem Planı’ 2013-2020'nin ana hedeflerinden biri olarak belirlenmiştir (WHO, 2016). 2011 Eylül ayında BM Genel Kurulu'nun bulaşııcı olmayan hastalıkların önlenmesi ve kontrolüne ilişkin üst düzey toplantısının siyasi bildirgesinde sağlıksız beslenme ve fiziksel hareketsizliğin azaltılmasının önemi kabul edilmiştir (WHO, 2012).

Obeziteye yol açan birkaç olası mekanizma bulunmaktadır. Aslında, geleneksel görüş obezitenin ana nedeninin vücudun kullandığı enerjiden çok daha fazla enerji depolaması olduğu yönündedir. Fazla enerji yağ hücrelerinde depolanır ve böylece karakteristik obezite patolojisi gelişir. Yağ hücrelerinin patolojik genişlemesi, obeziteden sorumlu besin sinyallerini değiştirebilir (Heymsfield ve Wadden, 2017). Ancak son araştırmalar, ağırlık kontrolü ve hastalıkların önlenmesi için besin kaynaklarının ve besinlerin kalitesinin, diyetteki miktarlarından daha önemli olduğunu göstermiştir (Sacks ve ark., 2009). Buna ek olarak, bireyin kilo almaya yatkınlığını belirlemede genetik faktörlerin kritik rol oynadığı bilinmektedir (Singh ve ark., 2017). Son zamanlarda yapılan epigenetik çalışmalar, obezitenin dünya çapındaki artışı anlamak için çok faydalı bilgiler sağlamıştır (Lopomo ve ark., 2016). Obezite ile ilgili çalışmalarda genetik, epigenetik ve evre arasındaki ilişkiler sorgulanmış ve epigenetik faktörlerin metabolizmanın düzenlenmesi ve obezite riski ile komplikasyonlarındaki rolleri araştırılmıştır (Dubern, 2019). Aşırı kilo alma prevalansı 1980'den bu yana dünya genelinde iki katına çıkmıştır ve küresel nüfusun yaklaşık üçte birinin obez veya aşırı kilolu olduğu tespit edilmiştir (Ataey ve ark., 2020). Obezite oranı hem erkeklerde hem de kadınlarda ve her yaşta hızlı bir şekilde artmış, yaşlılarda ve kadınlarda oransal olarak daha yüksek prevalansa ulaşmıştır (WHO, 2000). Bu eğilim küresel olarak mevcut olmakla birlikte, mutlak yaygınlık oranları bölgeler, ülkeler ve etnik kökenler arasında farklılık göstermektedir. Obezite prevalansı sosyoekonomik duruma göre de değişmekte, yüksek gelimli ve bazı orta gelimli ülkelerde vücut kütle indeksi artış oranları daha yavaş seyretmektedir. Obezite nceki yıllarda Amerika Birleşik Devletleri, İşve, Danimarka, Norveç, Fransa, Avustralya ve Japonya gibi yüksek gelimli ülkelerin sorunu olarak görülürken, bu ülkelerde obez veya aşırı kilolu çocukların görülme oranları 2000'li yılların başından bu yana azalmış veya durağanlaşmıştır (Abarca-Gmez ve ark., 2017). Obez bireylerin beyinlerinde; besin alımı isteğinin nasıl düzenlendiği, bağırsak hormonlarının, yağ dokusunun veya bağırsak mikrobiyotasının hipotalamusta iştah ve tokluğu nasıl düzenlediği, obezite gelişiminde oynadığı roller, glikoz ve lipid

metabolizmasındaki işlev bozukluğunun nasıl ikincil sağlık sorunlarına neden olduğu giderek daha iyi anlaşılmaktadır (Singer-Englar ve ark., 2019).

2.1.2. Besin alımı ve enerji dengesi

Obezitenin temel nedenleri halen tartışmalıdır. Obeziteyi yönetmeye yönelik mevcut sağlık önerileri, yağ birikiminin tüketilen ve harcanan kaloriler arasındaki enerji dengesizliğinden kaynaklandığı şeklindeki temel fizyolojik etkiye dayanmaktadır. Diyet ve gıda tedarikiyle ilgili çeşitli sosyal, ekonomik ve çevresel faktörler, hastanın besin dengesini sağlama yeteneği üzerinde önemli etkilere sahiptir (Yoo, 2018). Üç bin genç üzerinde yapılan on üç yıllık bir takip çalışmasında, çok daha fazla fastfood tüketenlerin, fastfood alımı en düşük olanlara göre ortalama ~6 kg daha ağır ve daha geniş bel çevresine sahip oldukları görülmüştür. Bu kişilerde ayrıca yüksek trigliserit gibi kiloya bağlı olumsuz sağlık sorunlarının daha yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir (Duffey ve ark., 2007). Bu sorunlar, homeostatik devreler ve beyin ödülü arasındaki önemli etkileşimlerden kaynaklanabilecek yağ birikimine genetik yatkınlığı olan bazı bireylerde daha da artmaktadır. Lipit metabolitlerinin birikimi, enflamatuvar sinyalizasyonda veya diğer hipotalamik nöron bozucu mekanizmalarda obeziteye yol açabilir (Obri ve Claret, 2019).

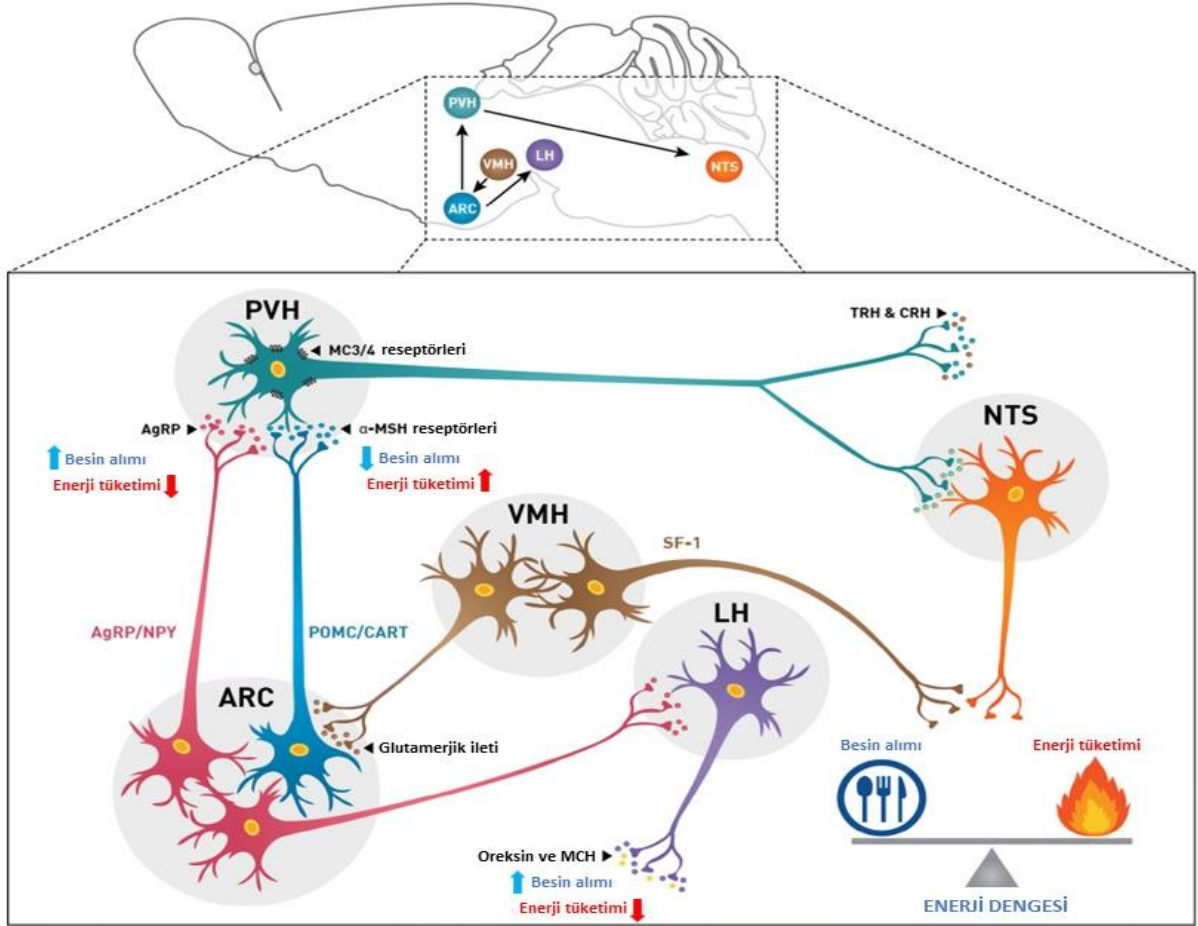
2.2. Hipotalamus

Hipotalamus, beyinde talamusun altında bulunan yaklaşık olarak 4 gram ağırlığında ve üçüncü ventrikülün tabanını oluşturan anatomik bir yapıdır. Endokrin sistem, otonom ve somatik sinir sistemi ile sürekli etkileşim halindedir. Hipotalamus, vücut sıcaklığının, kalp ritminin ve kan basıncının, sıvı-elektrolit dengesinin, susamanın, iştahın, vücut ağırlığının, hipofiz bezinden hormon salgılanmasının, korku, öfori ve kızgınlık gibi duyguların ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde önemli homeostatik işlevlere sahiptir (Agar, 2021). Deney hayvanlarındaki davranış deneylerinde gözlemlenen etkiler hipotalamusun fonksiyon bozukluğu veya uyarılmasıyla meydana gelir. Hipotalamusun uyarıldığı veya fonksiyon bozukluğuna uğradığı bölgeye özgü çeşitli yanıtlar ortaya çıkmıştır. Örneğin, lateral hipotalamusun (LHA) uyarılması, susama, açlık duygularının yanı sıra öfke ve kavga davranışlarının artmasına neden olabilmektedir. Hipotalamik ventromediyal çekirdeğin (VMN) uyarılması tokluk hissi ve iştahın azalmasına yol açmaktadır. Periventriküler çekirdeğin uyarılması ise korku ve cezalandırma yanıtını meydana getirmektedir. Ön ve arka hipotalamusun uyarılması ile cinsel dürtüler artmaktadır. Hipotalamus dejenerasyonunun etkileri ise genellikle hipotalamusun uyarılmasıyla meydana gelen yanıtların tam tersidir. LHA

bilateral lezyonu, yeme içme isteğini neredeyse sıfır düzeyine kadar azaltabilir. Hipotalamik ventromediyal alanın bilateral lezyonu ise fazla miktarda yeme-içme ve hiperaktivite dürtülerinin oluşmasına sebep olabilir (Hall, 2017).

2.2.1. Hipotalamus ve besin alımı

Hipotalamus ve beyin sapı, beslenmenin homeostatik düzenlenmesinde birincil beyin bölgeleri olarak kabul edilmektedir (Donovan ve Tecott, 2013). Bu bölgelerde açlık, tokluk ve tüm vücutta besin varlığına ilişkin merkezi ve çevresel girdiler, sonraki beslenme davranışını mevcut beslenme durumuna uygun şekilde uyarlamak için entegre edilmektedir. Her iki bölge de çeşitli çekirdeklere ayrılabilir, bunlardan besin alımının düzenlenmesinde en önemlileri rafe çekirdekleri, nükleus traktus solitarius (NTS), beyin sapının parabrakial çekirdeği (PBN) ile hipotalamusun arkuat çekirdeği (ARC), paraventriküler çekirdeği (PVN), VMN, dorsomedial çekirdeği (DMN) ve LHA (van Galen ve ark., 2021) sayılabilir. Bu beyin bölgeleri güçlü bir şekilde birbirleriyle bağlantılıdır ve merkezi ve çevresel girdiler almaktadır. Hipotalamus, 1920'lerin başlarında besin alımının kontrolünde önemli mekanizmalara sahip beyin bölgesi olarak belirtilmiştir (Bailey ve Bremer, 1921). Enerji dengesinin hipotalamik kontrolünün incelenmesi büyük ölçüde oreksijenik nöropeptit Y/aguti ilişkili protein (NPY/AgRP) nöronlarının ve anoreksijenik pro-opiomelanokortin/kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript (POMC/CART) nöronlarının bu konumda erken tanımlanması nedeniyle ARC'ye odaklanılmıştır. POMC/CART eksprese eden nöronların aktive edilmesi beslenmeyi baskımlarken, NPY/AgRP eksprese eden nöronların aktive edilmesi beslenmeyi uyarmaktadır (Aponte ve ark., 2011). Bu nöronal grupların her ikisi de yağ dokusu tarafından salınan dolaşımdaki yağlanma sinyali olarak da adlandırılabilen leptine ve mide tarafından salgılanan ghreline yanıt vermektedirler (Cowley ve ark., 2003; Swanson ve Kuypers, 1980). ARC'nin nöronal aktivitesini değiştirmesi vasıtasıyla leptin gıda alımını ve enerji harcamasını güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. Buna karşılık, plazma ghrelin konsantrasyonları negatif enerji dengesi koşulları altında beslenmeyi teşvik etmek ve enerji harcanmasını azaltmak için artmaktadır (Tschöp ve ark., 2000).



Şekil 2.1. Enerji homeostazının hipotalamik düzenlenmesi

Vücudun beslenme durumuna göre, ARC'de bulunan AgRP/NPY ve POMC/CART nöronları PVH'nın ikinci derece nöronlarına oreksijenik AgRP veya anoreksijenik POMC salgılar. POMC daha sonra aktif formu olan α -MSH'ye ayrılır. PVH nöronları üzerindeki MC3/4R, AgRP veya α -MSH'nin bağlanması üzerine aktive olur ve entegre sinyaller beslenme davranışını modüle etmek için NTS'ye iletilir. PVH nöronları ayrıca gıda alımını engellemek ve enerji harcamasını artırmak için anoreksijenik ve termojenik nörohormonlar TRH ve CRH salgılar. LH nöronları ağırlıklı olarak AgRP/NPY nöronları tarafından oreksijenik ve anti-termojenik nörohormonlar, oreksin ve MCH salgılamak üzere uyarılır. VMH'de bulunan SF-1 nöronları, POMC/CART nöronlarının anoreksijenik etkisini artırmak için POMC/CART nöronlarını inerve eder ve POMC/CART nöronlarının modülasyonundan bağımsız olarak enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Seong ve ark., 2019). NTS: nükleus traktus solitarius, ARC: Hipotalamusun arkuat çekirdeği, PVH: Paraventriküler hipotalamus, VMH: Ventromedial çekirdek, LH: Lateral hipotalamik alan, TRH: Tirotropin salgılatıcı hormon, CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon, MSH: Melanosit uyarıcı hormon.

2.2.2. Paraventriküler çekirdek

PVN anatomik olarak magnoselüler ve parvoselüler alt çekirdekler şeklinde iki kısma ayrılmaktadır. İlki lateral magnoselüler bölüm (PaLM), mediyal magnoselüler bölüm (PaMM) ve posteriyor bölümü (PaPO) içerir. İkincisi anterior parviselüler bölüm (PaAP), mediyal parviselüler bölüm (PaMP), ventral bölüm (PaV) ve dorsal başlıktan (PaDC) oluşmaktadır (Paxinos ve Watson, 2006). Magnoselüler nöronlar vazopressin (VP) ve oksitosin (OT) sentezler ve sadece arka hipofize projeksiyon yaparlar (Burbach ve ark., 2001). VP ve OT hormonları nörohipofizdeki magnoselüler nöron akson uçlarından kana salgılanır (Stoop,

2012). VP ve OT, hormon ve nörotransmitter olarak kardiyovasküler kontrolde birbirini tamamlar ve böylece kan basıncını düzenler (Wsol ve ark., 2008). Parvisellüler nöronlar tirotropin salgılatıcı hormon (TRH), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) vb. sentezleyebilir ve bu hormonlar akson terminallerinden medyan eminensdeki hipotalamo-hipofizer portal sistemin kılcal damarlarına salınır. Genel olarak, PVN endokrin, davranış ve otonom stres tepkilerini koordine eden kilit çekirdektir (Swanson ve Sawchenko, 1983).

2.2.3. Paraventriküler çekirdek ve besin alımı

PVN'nin, beslenme davranışı homeostatik motivasyonu kontrol etmek için peptitler ve nörotransmitterler içeren bir dizi projeksiyon aldığı anlaşılmıştır (Morton ve ark., 2006). Örneğin, PVN'ye mikroenjekte edilen NPY ve AgRP'nin besin alımını artırdığı gösterilmiştir (Kim ve ark., 2000). Yapılan diğer bir çalışmada PVN'nin yeme bozukluklarının tedavisi için bir odak noktası olabileceği ve PVN'deki DA algılayıcı nöronların gıda alımının düzenleyici mekanizmalarında işlevsel olarak etkileşime girebileceği bildirilmiştir (Mirmohammadsadeghi ve ark., 2018). Hipotalamik PVN lezyonları hiperfaji ve obezite ile sonuçlanır, bu da bu çekirdeğin beslenme ve enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. PVH, ARC, LHA, subfornikal organ, lamina terminalis organum vaskulozum, mediyal septum/diagonal Broca bandı, mediyal preoptik alan ve suprakiazmatik çekirdek dahil olmak üzere hipotalamusun birçok merkezinden *afferent* girdiler almaktadır (Hermes ve ark., 2006).

Daha spesifik bazı çalışmalarda (Balthasar ve ark., 2005) PVN'nin, POMC^{ARC/NTS} ve AgRP/NPY nöronlarından yoğun projeksiyonlar aldığı bildirilmiştir. Bunlar α -melanosit uyarıcı hormon salgılayarak PVN nöronları üzerindeki melanokortin 3 ve 4 reseptörlerini (sırasıyla MC3R ve MC4R) aktive eder ve sırasıyla AgRP ve NPY salgılayarak PVN nöronlarını inhibe eder (Cowley ve ark., 1999). Melanokortin reseptörleri PVN'de yüksek oranda ifade edilir ve POMC^{ARC/NTS} ve AgRP/NPY nöronlarının katıldığı melanokortin yolunun önemi birkaç kanıtla gösterilmiştir. Farelerde, MC4R nakavtı obeziteye neden olurken, MC4R'nin PVN nöronlarına seçici olarak yeniden uygulanması obez fenotipi hafifletmektedir (Balthasar ve ark., 2005). ARC → PVN yolunun cerrahi olarak bozulması obeziteye neden olmaktadır (Bell ve ark., 2000). İnsanlarda, MC4R eksikliği veya heterozigot mutasyonlar, POMC eksikliğine benzer şekilde hiperfajiye neden olmaktadır (Krude ve ark., 2003). Arka beyin de PVN ile iletişim halindedir. Örneğin, ponsun lateral parabrakiyal çekirdeği PVN'ye projeksiyonlar gönderir. Medulladan, A5 sempatik premotor bölge, nükleus traktus solitarius,

vagusun dorsal motor çekirdeği ve ventrolateral medulla da PVN'ye projeksiyon yapmaktadır (Larsen ve ark., 1994). Aktivasyonu üzerine PVN, anoreksijenik etkilerini beyin sapının NTS ve PBN'sine inen projeksiyonlar (geri) yoluyla ve ayrıca vazopressin ve oksitosin gibi anoreksijenik nöropeptitlerin sentezi yoluyla gerçekleştirmektedir (Pei ve ark., 2014). Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi hipotalamusun PVN çekirdeği, enerji yetersizliğine karşı fizyolojik tepkiyi düzenlemek için bu sistemde bir kilit taşı görevi görmektedir (Hill, 2012).

2.3. Dopamin

DA, merkezi sinir sisteminde birçok işlevde etkili olan katekolaminerjik bir nörotransmitterdir. İlk olarak 1959 yılında keşfedilmiştir (Carlsson, 1959). DA sentezinin çoğunluğu doğrudan tirozinden meydana gelir, ancak L-fenilalanin, fenilalanin hidroksilaz tarafından tirozine dönüştürülebildiğinden, DA dolaylı olarak fenilalaninden de sentezlenebilir (Nagatsu ve ark., 1964). Her halükârda, birincil metabolik yol sitozolde iki aşamalı bir sentez içerir. DA sentezinde hız sınırlayıcı enzim olan tirozin hidroksilaz (TH), kofaktör olarak tetrahidrobiopterin, oksijen (O₂) ve demir (Fe²⁺) kullanarak tirozini levodopaya (L-DOPA) dönüştürür. L-DOPA daha sonra kofaktör olarak piridoksal fosfat içeren aromatik L-amino asit dekarboksilaz (DOPA dekarboksilaz) tarafından DA'ya dönüştürülebilir (Christenson ve ark., 1970). P-tiraminin substansiya nigradaki sitokrom P450 2D6 aktivitesi yoluyla DA'ya dönüştürülebildiği küçük bir sentez yolu da oluşabilir. DA nöronlarda sentezlendikten sonra, veziküler monoamin taşıyıcı 2 aracılığıyla sinaptik veziküllerin asidik lümenine salgılanır (Eiden ve Weihe, 2011). Noradrenerjik ve adrenerjik hücrelerde DA O₂, L-askorbik asit ve S-adenozil-L-metiyonin varlığında DA β-hidroksilaz ve feniletanolamin N-metiltransferazın sıralı modifikasyonları ile norepinefrin ve epinefrine dönüştürülebilir (Weinshilboum ve ark., 1971).

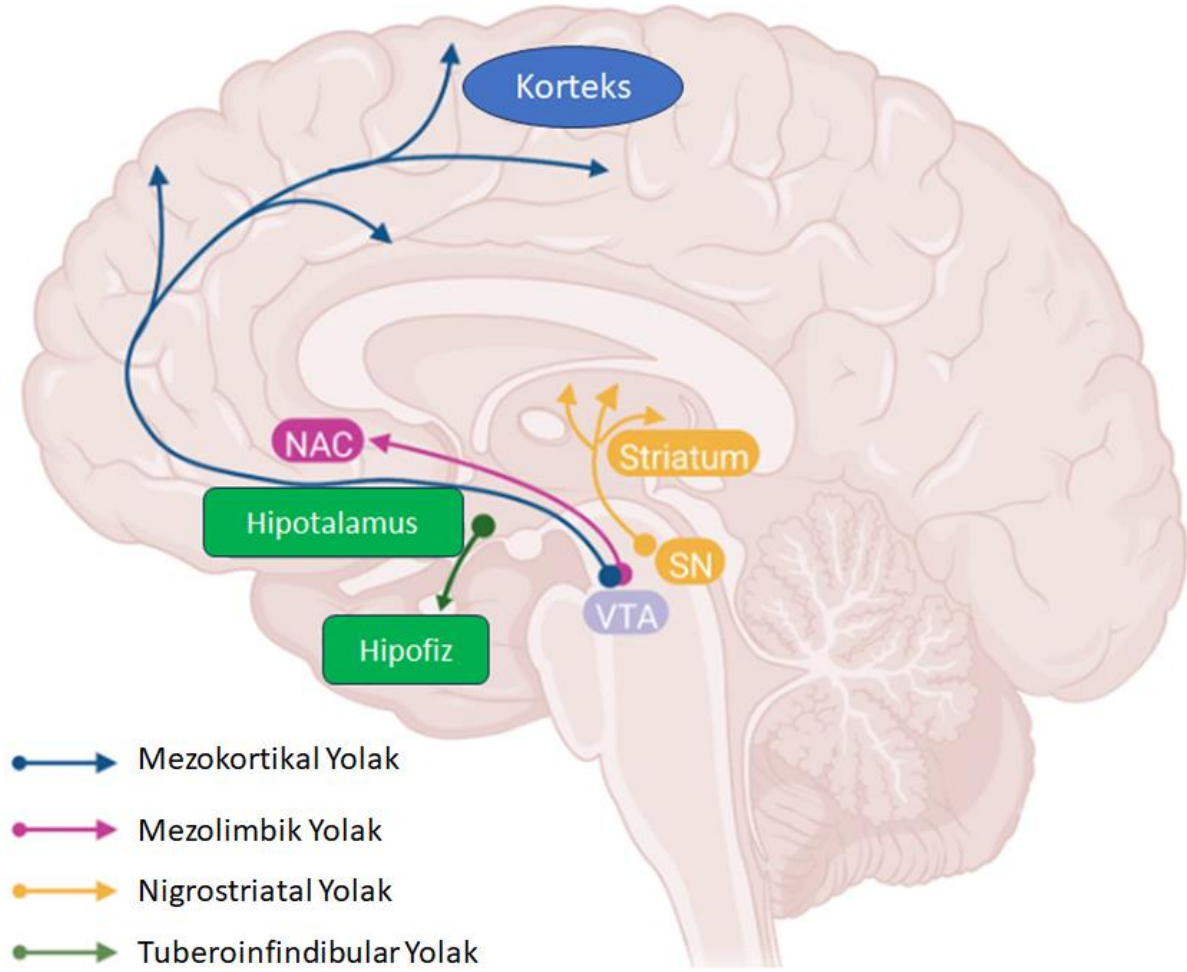
2.3.1. Dopaminerjik nöronlar

DA'erjik nöronlar, katekolaminerjik bir nörotransmitter olan DA salgılama yeteneğine sahiptir. DA'erjik nöronlar TH varlığı ile karakterize edilirler ve ventral orta beyin (VM) dahil olmak üzere memeli merkezi sinir sistemi boyunca bulunurlar (Björklund ve Hökfelt, 2003). Mezo-diensefalik DA'erjik (mdDA) nöronlar, memeli merkezi sinir sistemindeki birincil DA kaynaklarıdır (Poewe ve ark., 2017). DA, bir nörotransmitter olarak, hareket, ödül, ceza, belirginlik, öğrenme, biliş, sevgi, zevk ve bağımlılık gibi sürekli değişen çevresel koşullara yanıt vermede kritik bir rol oynar (Takahashi ve ark., 2015). Daha da önemlisi, mdDA nöron kaybı, en önemli nörolojik bozukluklardan biri olan Parkinson hastalığı (PH) ile bağlantılıdır

(Zeng ve ark., 2018). PH, statik tremor, rijidite, bradikinezi, postural bozukluk gibi motor semptomlar, duyuşsal ve bilişsel bozukluk gibi motor olmayan semptomlarla karakterize edilen ikinci en yaygın nörodejeneratif hastalıktır (Schapira ve ark., 2017). PH'nin ana patolojik özelliği, esas olarak striatal DA'erjik innervasyonu bozan ve titreme, rijidite, bradikinezi ve duruşşsal instabilite gibi kardinal motor semptomlara neden olan substansiya nigra pars kompaktadaki (SNpc) geri dönüşümsüz mdDA nöronal dejenerasyonudur (Poewe ve ark., 2017). Bu nöronlar duyuşsal davranışı, doğal motivasyonu, ödülü ve bilişsel işlevi düzenler ve öncelikle bir dizi psikiyatrik bozuklukla ilişkilendirilmektedir (Carlsson, 2003). Presinaptik DA'erjik nöronlar obezite sırasında beslenme durumundaki değişikliğe yanıt verebilmektedir (Meguid ve ark., 2000).

2.3.2. Dopaminerjik yolaklar

DA, baskın bir katekolamin olarak, orta beyindeki SN ve VTA'da üretilir. SN ve VTA'daki DA'erjik nöronlar beyin çok sayıda farklı bölgesine projeksiyon yapar. DA üreten hücre grupları, başta noradrenalin ve DA olmak üzere katekolaminler içeren bir hücre sınıfı olan ve A8'den A16'ya kadar DA içeren hücre gruplarına ayrılabilen A grubu hücreler olarak adlandırılır. A8 hücreleri ağırlıklı olarak retrorubral alanda bulunur ve A9 nöronları SNpc'de bulunur ve dorsal striatuma (DS) projeksiyon yaparak nigrostriyatal yolu oluşturur. A8 nöronları genellikle A9 hücre grubunun bir uzantısı olarak kabul edilir ve bu hücreler striyatal, limbik ve kortikal alanlara projekte olan hücreler içerir (Hornykiewicz, 1966; Tillet ve Kitahama, 1998). DA'erjik sinyalizasyon, farklı nöral devrelerdeki eylemleri aracılığıyla çeşitli nörobilişsel ve davranışsal sonuçları yönlendirir. Bu devreler dört ana yol olarak kategorize edilir: Mezolimbik, mezokortikal, nigrostriyatal ve tuberoinfundibular yollar. Bunlardan mezolimbik ve mezokortikal yolaklar orta beyinde DA açısından zengin bir merkez olan VTA'dan kaynaklanır. Nigrostriyatal yol, öncelikle motor fonksiyonun kontrolünde, aynı zamanda ödülle ilgili biliş ve öğrenme de dahil olmak üzere hedefe yönelik davranışlarda yer alır. A10 hücreleri VTA'da bulunur ve VTA'dan A10 hücreleri nükleus akumbens (Drougard ve ark.), prefrontal korteks (PFC) ve diğer limbik alanlara projeksiyon yapar. Bu hücre grubu mezolimbik ve mezokortikal yolları oluşturur ve ödülle ilgili pozitif ve negatif pekiştirme, teşvik edici belirginlik, isteksizlikle ilgili biliş ve karar verme süreçlerine dahil olduğu bilinmektedir (Bromberg-Martin ve ark., 2010).



Şekil 2.2.Beyindeki DA'erjik yollar

VTA'daki DA'erjik nöronlardan kortekse giden mezokortikal yolu (mavi), VTA'dan nükleus akumbens'e giden mezolimbik yolu (kırmızı) içerir, substantia nigra'dan striatuma giden nigrostriatal yol (sarı) ve hipotalamik çekirdeklerden (arkuat çekirdek ve periventriküler çekirdek) hipofize giden tuberoinfundibular yol (yeşil) olarak gösterilmiştir. NAC: Nükleus akumbens; VTA: Ventral tegmental alan; SN: Substansiya nigra (Klein ve ark., 2019).

2.3.3. Dopaminerjik reseptörler

Fizyolojik rolüyle ilgili olarak, DA basitçe uyarıcı veya inhibe edici bir nörotransmitter olarak sınıflandırılmaz, çünkü farklı G proteini eşlenik reseptörlere (GPER'ler) bağlanabilir ve ilgili DA reseptörünün türüne bağlı olarak adenilat siklazı farklı şekilde modüle edebilir (Beaulieu ve Gainetdinov, 2011). Genel olarak D1 benzeri (D1 ve D5 reseptörleri) ve D2 benzeri (D2, D3 ve D4 reseptörleri) olmak üzere 5 adet DA reseptör tipi vardır. DA'nın reseptör tipine göre hücresel fonksiyonu değişmektedir. DA reseptörlerinden biri heterotrimerik G proteini aktivasyonunu, diğeri G proteininden bağımsız, β -arrestin bağımlı mekanizmaları kullanan iki dönüştürücü sisteme doğru sinyal iletmektedir. DA'erjik reseptör sinyalleri, cAMP aracılı sinyaller üzerindeki bilinen etkilerinin yanı sıra DA ile ilişkili işlevlerin çeşitli hücresel tepkilerini düzenleyebilir. DA'erjik reseptör sinyal yolları, alternatif G proteini bağlantısı veya

iyon kanalları, reseptör tirozin kinazlar veya klasik olarak GPER duyarsızlaştırmasında rol oynayan β -arrestinler, proteinler gibi G proteini olmayan mekanizmaları içerebilir (Beaulieu ve ark., 2015). DA'erjik reseptörler işlevsel olarak, sırasıyla siklik adenozin monofosfat (cAMP) oluşumunu veya inhibisyonunu uyarma yeteneklerine göre hem presinaptik (D1 benzeri) hem de postsinaptik yerleşimli D2 benzeri alt tipler olarak sınıflandırılabilir. DA'erjik reseptörler, diğer DA'erjik reseptörler ile veya nöronlardaki farklı reseptörlerle oligomer kompleksleri oluşturabilir ve bu da terapötik yanıtları etkileyebilir (Pinoli ve ark., 2017). D1 benzeri reseptörlerin aktivasyonu, daha fazla adenil siklaz aktivitesi nedeniyle 3'-5'-siklik adenozin monofosfat (Sadeghirad ve ark.) seviyelerinde bir artışa yol açar (Vallone ve ark., 2000). Aksine, D2 benzeri reseptörlerin aktivasyonu adenilat siklazın inhibisyonuna ve cAMP seviyelerinin azalmasına yol açar (Chio ve ark., 1994). DA, potasyum veya sodyum kanallarının aşağı yönde açılmasına bağlı olarak, D1 benzeri reseptörleri ifade eden presinaptik nöronlarda hem inhibitör hem de uyarıcı bir nörotransmitter olarak hareket edebilir. Bu nedenle, DA'nın etkileri hedef hücre reseptörlerine, ikinci haberci yanıtlarına, postsinaptik plazma membranındaki iyon kanalı aktivasyonuna ve protein ekspresyon profillerine bağlıdır (Beaulieu ve Gainetdinov, 2011).

2.3.4. Dopamin ve besin alımı

DA, ana beyin katekolaminidir ve besin alımının kontrolünde önemli bir düzenleyici faktör olarak işlev görür. Örneğin, DA sentezinin olmaması (Zhou ve Palmiter, 1995) beslenmenin başlatılmamasına neden olur (Szczycka ve ark., 2000). Sadece mezolimbik devrelerin değil, hipotalamik devrelerin de gıda alımı davranışında DA salınımının bölgeye özgü bir etkisi olduğu görülmektedir (Fetissov ve ark., 2000). DA'erjik sinyallerin deneysel olarak uyarılmasının veya inhibe edilmesinin beslenme davranışı, yeme motivasyonu, (gıda ile ilgili) ödül öğrenme ve enerji harcamasındaki değişikliklerle ilişkili olduğu sayısız çalışmada gösterilmiştir. Bu gözlemlere dayanarak, obezitede bozulmuş beslenme davranışının merkezi DA sistemlerindeki değişikliklerden kaynaklandığı varsayılmıştır (Goldfield ve ark., 2007; Volkow ve ark., 2011). Beyindeki ödül yolundaki DA'erjik sinyalleşmenin gıda alımında ve obezite gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Kenny, 2011). Obezite, adipozite, metabolik işlev bozukluğu, yüksek yağlı ve şekerli diyetler, DA işlevinde moleküler, hücresel ve devre seviyelerinde değişikliklere neden olur ve kompulsif davranışlar gibi DA'ya bağlı geniş işlevlerde etkili olur (Adams ve ark., 2015). Bu nedenle DA genetik varyantlarının yeme davranışı ve obezite üzerinde etkileri olması beklenmektedir. Gerçekten de, D2, D4 ve DA taşıyıcı dahil olmak üzere DA devresinin azalmış sinyali ile ilişkili görünen genotipler obezite

ile ilişkilidir (Stice ve Dagher, 2010). Böylece, DA genetik varyantlarının beyin fonksiyonlarını etkileyerek sağlıksız beslenmeyi ve obezitenin ortamlarda kilo alımını teşvik ettiği, bunun da beyin fonksiyonlarını etkileyerek metabolik ve bilişsel işlev bozukluğun eşlik ettiği daha fazla kilo alımına neden olduğu bir kısır döngü senaryosu ortaya çıkmaktadır (Leite ve Ribeiro, 2020). Bu etkiyi araştırmak ve kalorik aşırı tüketimi açıklamak için nörotransmitterlerle ilgili çeşitli hipotezler üretilmiştir: Ödül eksikliği hipotezi, DA'erjik aktivitenin azalması nedeniyle gıda tüketiminin azalan ödül etkisini telafi etmek için gıda tüketiminin arttığını öne sürmektedir (Wang ve ark., 2001). Bu araştırmalar günümüzde önem kazanmış ve görüntüleme tekniklerinin ilerlemesiyle mevcut hipotezler zenginleştirilmiştir. İnsan obezitesindeki yapısal DA değişiklikleri, özellikle D2/D3 reseptör kullanılabilirliği ve DA salınımı alanında moleküler görüntüleme çalışmalarında gösterilmiştir. Ancak DA sentez kapasitesi ve DA geri alım taşıyıcıları da araştırılmaktadır. Pozitron emisyon tomografisi ve tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi, insanlarda DA'erjik değişiklikleri *in vivo* olarak araştırmanın çeşitli yollarıdır (Janssen ve Horstmann, 2022). Bu yöntemlerin yanı sıra son yıllarda fiber fotometri çalışmaları da DA'erjik nöronal popülasyonları ve DA'erjik reseptörlerdeki aktivite değişimlerini araştırabilmek için önem kazanmıştır.

2.3.5. Dopamin ve obezite ilişkili inflamasyon

Kronik inflamasyon, obezitenin karakteristik bir bulgusudur. Obezite ve kronik düşük dereceli inflamasyon arasındaki ilişki, farelerde (Weisberg ve ark., 2003) ve obez bireylerde (Harman-Boehm ve ark., 2007) diyetle indüklenen veya genetik obezitenin gelişmesiyle birlikte makrofajların beyaz yağ dokusunda biriktiği rapor edildiğinde ortaya çıkmıştır. DA hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklıkta önemli bir immün modülatör role sahiptir (Levite, 2015). Bağışıklık hücrelerinin kendileri de otokrin ve parakrin etkilerle DA üretir ve salgılar (Cosentino ve ark., 2007). Doğuştan gelen bağışıklığın DA'erjik düzenlemesi yakın zamanda gözden geçirilmiştir. Bununla birlikte, beslenme davranışları, homeostatik metabolik sistemler ve immün modülatör etkilerle ilgili hem merkezi hem de periferik seviyelerde DA'erjik yolların önemli kavramlarını vurgulamak, obezite ile ilişkili inflamasyonda yeni tanımlanan bir DA'erjik sinyal yolağının desteklenmesi için temelleri göstermektedir. DA, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık arasındaki çapraz iletişimde olası işlevsel bir molekül olarak tanımlanmıştır (Pinoli ve ark., 2017). DA'in immün regülatör olarak rolü lökosit alt tipine, hücre aktivasyon durumuna, DA konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlıdır. DA hücre aktivasyonunu, hücre yapışmasını, proliferasyonu, kemotaksiyi, apoptozu, sitotoksiteyi, sitokin ve antikor üretimini ve bağışıklık hücrelerinin fenotip ve

fonksiyonlarındaki değişiklikleri regüle eder (Arreola ve ark., 2016). DA, hematopoez ve bağışıklık yanıtında yer alan hücreler üzerindeki etkisi yoluyla bağışıklık yanıtını düzenler. İnsan hematopoetik kök hücresi olan CD34'de D3 ve D5 ifadesi saptanmıştır (Spiegel ve ark., 2007). Daha önceki bir çalışmada, obez olmayan gruba kıyasla obez bireylerden alınan periferik kan mononükleer hücrelerinde D2, D4 ve D5 ekspresyonunda azalma ve daha düşük dopaminerjik nöron mRNA seviyeleri ve bu hücrelerdeki D2 ve D5 ekspresyonu, periferik monositlerin daha düşük inflamatuvar paterni ile güçlü bir ilişki içerisinde olduğu bildirilmiştir. D3 nakavt fareler artmış adipozite göstermiştir (McQuade ve ark., 2004). Son zamanlarda, transgenik D2 ve D3 nakavt farelerden alınan β -hücresinde, D2 benzeri reseptörlerin, seçici D2 nakavt farelerde *in vivo* olarak belirgin hiperinsülinemi ile glikozla uyarılmış insülin sekresyonunu modüle etmek için DA salınımını değiştirdiği yeni bir mekanizma önerilmiştir (Farino ve ark., 2020).

2.4. Apelin

Apelin adipositler tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır. Bu nedenle adipokin olarak adlandırılmaktadır. Periferik dokular ve merkezi sinir sistemi de dahil olmak üzere vücutta yaygın olarak bulunmaktadır. Apelin ilk olarak sığır midesinden izole edilmiştir (O'Dowd ve ark., 1993) ve preproapelin 77 amino asitten oluşmaktadır. Apelin geni insan X kromozomunun uzun kolunda yer alır ve cDNA'sı insan, sığır, sıçan ve fareden klonlanmıştır (Habata ve ark., 1999). Preproapelinin 13 C-terminal amino asit dizisinin bugüne kadar çalışılan tüm türlerde tamamen aynı olduğu bildirilmiştir (De Falco ve ark., 2002). Homeostaz, kan basıncı, vücut sıvısı yönetimi, hücre çoğalması ve enerji metabolizması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerdeki potansiyel rolü nedeniyle son on yılda apelin-APJ sistemi üzerine artan bir ilgi vardır (Hu ve ark., 2021; Mughal ve O'Rourke, 2018). Apelin, GPER üyesi APJ için bir ligant olmasının yanı sıra düzenleyici bir peptittir. Birçok çalışma, artmış plazma apelin düzeyinin metabolik patolojilerle ilişkili olduğunu bildirmiştir. *In vivo* olarak preproapelin, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 tarafından apelin-13 (apelin 65-77), apelin-17 (apelin 61-77) ve apelin-36 (apelin 42-77) gibi apelin peptitlerinin biyolojik olarak aktif birkaç formuna ayrılmaktadır (Langelaan ve ark., 2009). Bu üç apelin türü de reseptöre bağlanarak fizyolojik işlev gösterir (Medhurst ve ark., 2003). Apelin-13 en yüksek aktiviteye sahip olanıdır, onu apelin-17 ve apelin-36 takip etmektedir. Apelin mutasyonları apelinin APJ'ye bağlanmasını ve biyolojik aktivitesini bozmaktadır (Lee ve ark., 2005).

2.4.1. Apelin–APJ reseptör sistemi

1993 yılında, O'Dowd ve arkadaşları apelinin ligandı olduğu bir insan GPER'yi izole etmiş ve buna "APJ" adını vermişlerdir. Bu reseptör 380 amino asit içermekte ve transmembranında insan anjiyotensin II reseptörü tip 1 ile %54 oranında aynı dizilimi paylaşmaktadır (O'Dowd ve ark., 1993). Yaklaşık üç yıl sonra, APJ reseptörü amfibi ve kemirgenlerde de izole edilmiştir (Devic ve ark., 1996). APJ geni 11. kromozom (11q12) üzerinde yer almaktadır ve kodlama bölgesinde herhangi bir intron bulunmamaktadır. Ancak, anjiyotensin II, APJ reseptörü ile etkileşime girmez ve 1998 yılında Tatamoto ve arkadaşları tarafından sığır midyesinden APJ endojen ligandı olan apelin izole edilene kadar APJ ligandı tanımlanmamıştır (Devic ve ark., 1996). Apelin geni Xq25-q26.3 kromozomu üzerinde yer almaktadır. Salgı sinyali dizisi içeren ve apelin-36, apelin-17, apelin-13 ve apelin-12 gibi farklı aktif formlara bölünebilen 77 amino asitlik bir prepropeptidi kodlar (Tatamoto ve ark., 1998). Apelin-36 en yaygın olarak ifade edilen form iken, apelin-13 daha güçlüdür ve dolaşımında çok daha fazla miktarda bulunmaktadır. İnsan, sığır ve kemirgen preproapelinleri arasında, özellikle de son 22 C-terminal amino asidi arasında yüksek bir dizi homolojisi olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2000). Apelinin tüm izoformları APJ'ye bağlanabilir, ancak farklı bir biyolojik güce sahiptirler.

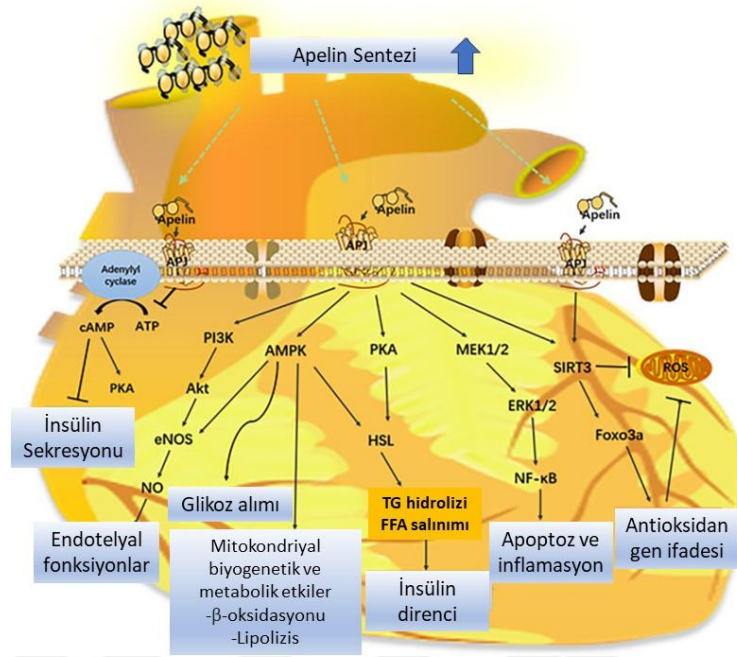
Apelin-12, APJ reseptörü için yüksek bir afiniteye sahiptir ve miyokardiyal kontraktileti artırma ve ortalama arteriyel basıncı azaltma gibi kardiyoprotektif özelliklere sahiptir (Chen ve ark., 2016). Apelin-13, plazmada en yüksek çokluğa sahip olan ana nöroprotektif peptitlerdendir. Önceki araştırmalarda apelin-13'ün *vaskülopati*, enerji metabolizması ve humoral homeostaza katıldığı bildirilmiştir (Wan ve ark., 2022). Yaşlanma sürecinde apelin-13'ün aşağı regülasyonunu kanıtlayan bir çalışma da yapılmıştır. Bir fare modelinde apelin-13 ve APJ geninin çıkarılması yaşlanmayı hızlandırabilirken, apelin-13'ün yukarı regülasyonu canlılığı, uyarılara yanıtı ve sirkadiyen ritmi geri kazandırmaktadır (Zhou ve ark., 2018). Glutamin siklaz, piroglutamidasyonu modifiye etmek ve [pyr1]-apelin-13 olarak adlandırılan apelin-13'ün piroglutamid formunu üretmek için apelin-13'ün çevrilmiş N-terminal glutamin katalize edebilir. Apelin-13'ün ekzopeptidaz tarafından parçalanmasını önleyebilir ve uzun süreli biyolojik etkiler gösterebilir. Bu nedenle, [pyr1]-apelin-13, daha yüksek anti-bozunma özellikleri nedeniyle APJ için fizyolojik bir ligant olarak kabul edilir (De Hert ve ark., 2021). Farklı organlar farklı apelin izoformlarına sahiptir. Apelin ve APJ; beyin, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, gastrointestinal sistem, endotel ve yağ dokuları dahil olmak üzere birçok doku ve organda yaygın olarak ifade edilmektedir (Liu ve ark., 2017).

Temel olarak sığır mide dokularının salgılarından elde edilen bir peptit hormonu olan apelin, A sınıfı (rodopsin benzeri) GPER olan APJ için endojen bir liganttır (Tatemoto ve ark., 1998). APJ reseptör proteini, anjiyotensin II reseptör tip 1 (AT1R) ile yakından ilişkilidir (Sasaki ve ark., 1991). APJ, GPER tipik 7-hidroforik transmembran alanları ve cAMP-bağımlı protein kinaz tarafından fosforilasyon için ortak bölgeler, palmitoylasyon için bir bölge ve glikolizasyon ile 380 amino asitten oluşmaktadır (O'Dowd ve ark., 1993). APJ sinyalizasyonu heterologdur ve apelin reseptörü Gai/o'ya, özellikle Gai1 ve Gai2'ye bağlanmayı tercih etmektedir. Ancak tipik olarak Gai3'e bağlanmamaktadır (Masri ve ark., 2002). Buna ek olarak, APJ'nin hem boğmaca toksinine duyarlı (Gaq/11) hem de duyarlı G proteinlerine bağlanabileceğine dair kanıtlar da vardır (Szokodi ve ark., 2002). APJ C-terminal kalıntıları reseptör fosforilasyonu ve internalizasyonu için gereklidir (Masri ve ark., 2006).

2.4.2. Apelin ve glukoz metabolizması

Apelin ağırlıklı olarak pankreatik adacıkların beta ve alfa hücrelerinde, APJ reseptörü ise asiner hücrelerde ve pankreatik kanal hücrelerde ifade edilmektedir (Ringström ve ark., 2010). İnsülin; sentezini ve salınımını uyararak apelinin ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Apelin ayrıca hipoksi ve adipoziteden de etkilenmektedir. Normal ve insüline dirençli farelerde, apelinin periferik glukoz alımını teşvik ettiği kaydedilmiştir (Dray ve ark., 2008). Eksojen apelin uygulamasının glukoz metabolizmasını uyardığı bulunmuştur. Ayrıca, izole edilmiş normal adipositlerde ve tip 2 diyabetik adipositlerde de apelin kaynaklı glukoz alımı tespit edilmiştir (Dray ve ark., 2010). Bu sonuçlar, apelinin yüksek insülinemi altında eksojen bir insülin duyarlılaştırıcı olarak hareket edebileceğini göstermektedir. Ancak, tip 2 diyabetli db/db farelerin beta hücrelerinde apelin seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Apelin-36 uygulaması glukozla uyarılan insülin salgılanmasını inhibe edebilir (Winzell ve ark., 2005). Apelinin, fosfodiesteraz 3B aktivitesinin aktivasyonuna bağlı olarak cAMP'nin yıkımını uyararak insülin salgılanmasını inhibe ettiği ve bunun da glukoz eliminasyonunun bozulmasıyla sonuçlandığı bildirilmektedir (Guo ve ark., 2009). Bourher ve arkadaşları, insülinin hem *in vivo* hem de *in vitro* adiposit apelin üretimini uyardığını ve adipositlerdeki apelin ekspresyonunun açlıkla inhibe edildiğini ve yeniden beslenmeden sonra inhibisyon etkisinin düzeldiğini bulmuşlardır (Boucher ve ark., 2005). İnsülin sekresyonu için negatif geri bildirim sağlar (Winzell ve ark., 2005). Aksine, Gao Z ve arkadaşları apelin-13 uygulamasının kan glukozunu önemli ölçüde azalttığını ve serum insülin seviyesini artırdığını bildirmiştir (Gao ve ark., 2021). Bunların yanı sıra, uzun süreli apelin uygulaması diyabette pankreatik adacık kütlelerini ve insülin seviyesini önemli ölçüde iyileştirmektedir. Bu etkiler, diyabetik farelerin pankreasında

PERK-IRE1a-C/EBP homolog protein (CHOP) sinyalinin yukarı regülasyonu ve AKT, ERK ve AMPK'nın deaktivasyonu ile ilişkilidir (Chen ve ark., 2011).



Şekil 2.3. Diyabet ve komplikasyonlarında apelin-APJ sisteminin mekanizması

Apelin, reseptörünü aktive eder ve farklı organlar üzerinde metabolik hastalıklardan koruyucu etkisi olan çeşitli sinyal yollarını tetikler. AMPK, AMP aracılı protein kinaz; eNOS, Endotelial nitrik oksit sentaz; ERK1/2, Hücre dışı düzenlenmiş kinazlar 1/2; FFA, Serbest yağ asidi; Foxo3a, Forkhead box protein O 3a; HSL, Hormona duyarlı lipaz; PI3K, Fosfoinozotid 3-kinaz; PKC, Protein kinaz C; ROS, Reaktif oksijen türleri; SIRT3, Sirtuin 3, (Li ve ark., 2022)

2.4.3. Apelin-APJ sisteminin obezite üzerindeki etkisi

Apelin yağ dokusundan salgılanır ve bu nedenle adipokin olarak da adlandırılır (Chapman ve ark., 2014). Apelin-APJ sistemi obezite oluşumundaki birçok mekanizmaya katılmaktadır.

2.4.3.1. Apelin ve lipit metabolizması

Apelin, lipit metabolizmasının önemli bir modülatörü olarak kabul edilmektedir. Apelin eksikliği olan fareler artmış adipozite ve dolaşımda yüksek serbest yağ asiti düzeyi oluşurken, apelinin aşırı eksprese edildiği transgenik fareler obeziteye dirençlidir. Düşük yoğunluklu düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-K) yüksekliği olan hastalarda plazma apelin düzeyi sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşüktür (Tasci ve ark., 2007). Statinlerle LDL-K'nin azaltılmasına, dislipidemik hastalarda serum apelin seviyesinde artış eşlik etmektedir (Tasci ve ark., 2009).

2.4.3.2. *Apelin, insülin direnci ve obezite*

Obezitede adipositler daha fazla serbest yağ asidi salgılar ve bu da insülin direncinin gelişmesine katkıda bulunur. İnsüline dirençli bireylerin dolaşımdaki serbest yağ asidi seviyesinin daha yüksek olduğu görülmektedir (Paolisso ve ark., 1995). Bir adipokin olarak apelinin miktarı, obezite durumunda artış yönünde düzenlenir. Klinik ve deneysel çalışmalarda, obezite ve insülin direnci durumunda dolaşımdaki apelin seviyesi veya yağ dokusu ekspresyonu artmaktadır (Soriguer ve ark., 2009). Patrick Yue ve arkadaşları apelin geninin çıkarılmasının gliserol, leptin ve serbest yağ asitlerinin serum konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığını, eksojen apelin uygulamasının ise bu bileşikleri azalttığını bildirmiştir (Yue ve ark., 2011). Takviye apelinin obez farelerde in vitro insülinotropik aktiviteyi, adiposit tarafından glikoz alımını, glikoz eliminasyonunu ve insülin salınımını iyileştirdiği bildirilmektedir (O'Harte ve ark., 2017). Bolus intravenöz apelin uygulaması, obez ve insüline dirençli farelerde hiperinsülinemik-öglisemik klempt sırasında glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirmiştir (Dray ve ark., 2008), bu da eksojen apelinin yüksek plazma apelin seviyesine rağmen etkili olduğunu göstermektedir. 28 günlük apelin tedavisinden sonra, obez ve insüline dirençli farelerde insülin duyarlılığında belirgin bir iyileşme ve vücut yağında azalma gözlemlenmiştir (Attané ve ark., 2012). Bununla birlikte, obez farelerde 4 hafta boyunca Fc-apelin-13 (IgG Fc fragmanı ile kaynaşmış apelin-13) uygulanması glukoz toleransını, atım hacmini ve kalp debisini önemli ölçüde iyileştirirken, kardiyak ve hepatik fibrozu azaltmakta; ancak gıda alımını ve vücut ağırlığını etkilememektedir (Wang ve ark., 2018). Bir standart diyet 8 haftalık apelin/- farelere verildiğinde, insülin seviyesi önemli ölçüde artmış ve plazma adiponektin konsantrasyonu ve glukoz intoleransı azalmıştır. Ayrıca, bu fareler vücut ağırlığında bir fark olmaksızın abdominal ve epididimal yağ artışı da göstermiştir (Yue ve ark., 2011). Apelin/- fareler yüksek yağlı diyet ve yüksek şükrozlu içme suyu ile beslendiklerinde daha fazla glukoz ve insülin intoleransı göstermişlerdir (Narayanan ve ark., 2021). Stabil apelin-13 peptid analogları, diyetle indüklenen obezite ve diyabetli farelerde umut verici kısa vadeli antidiyabetik etkiler göstermiştir (O'Harte ve ark., 2020). Obez sıçanlarda kardiyak apelin ve APJ ekspresyonunun ve serum apelin seviyesinin arttığı, apelin ve APJ ekspresyonunun aşağı regülasyonunun insülin direncini ve inflamasyonu hafiflettiği bildirilmiştir (Yamamoto ve ark., 2011).

İnsan çalışmalarında obez hastalarda Pyr1-apelin-13 enjeksiyonunun insülin duyarlılığını artırdığını saptanmıştır (Gourdy ve ark., 2018). Bununla birlikte, aşırı kilolu veya obez çocuklarda 6,5 yıllık bir takip, apelin seviyesinin pubertal gelişim sırasında önemli ölçüde

azaldığını göstermiştir (Sentinelli ve ark., 2020). Ayrıca Cavallo MG ve arkadaşları, T2D'li obez hastaların apelin seviyesinin diyabetik olmayan obez hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmiştir (Cavallo ve ark., 2012). Dayem ve arkadaşları, apelin seviyesinin diyabetik hastalarda vücut kütle indeksi üzerinde etkisi olmadığını bulmuşlardır (El Dayem ve ark., 2017). Bu sonuçlar, artmış apelin seviyesinin obezitenin kendisinden ziyade eşlik eden diyabet ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (Li ve ark., 2022).

2.4.3.3. Merkezi sinir sistemi, apelin ve obezite

Apelin ve APJ insan merkezi sinir sisteminde, oligodendrositlerde ve nöronlarda daha fazla ve astrositlerde daha az olmak üzere yaygın olarak ifade edilmektedir (Choe ve ark., 2000). Apelin-APJ sistemi hipofiz bezinde de gözlenir ve bu da hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenin (HPA) kontrolünde bir rol oynadığını düşündürür. Bir çalışmada, APJ'nin akut stres uyarılarından sonra HPA eksenini aktifliğini modifiye etmede bir nöro modülatör görevi olduğu gösterilmektedir (Newson ve ark., 2013). Ayrıca, Duparc ve ark. APJ eksikliği olan farelerde hipoglisemik stres altındaki ACTH salınımının azaldığı ve bunun da merkezi apelinin nöroendokrin işlevlerdeki rolünü doğruladığı bildirilmiştir. Son çalışmalar, santral apelinin normal durumdan diyabetik duruma geçişte rol oynadığını öne sürmüştür. Bu bulgular, santral apelinin glukoz salınımını ve glukoz metabolizmasını kontrol edebileceğini göstermiştir. Anne ve ark. intraserebroventriküler apelin enjeksiyonunun açlık kan şekerini artırdığını (Duparc ve ark., 2011), bunun da sempatik sinir sisteminin aşırı aktivasyonu ve ardından karaciğer glikojenolizi ve glukoneogenezi ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Obezite ve diyabette hipotalamik apelinin aşırı ekspresyonu gözlenmiştir (Drougard ve ark., 2014). Bu sonuçlar, merkezi sinir sistemindeki apelin-APJ sisteminin glukoz metabolizmasını kontrol etmek için yeni bir hedef olabileceğini göstermektedir.

2.5. PVN, dopaminerjik reseptörler ve apelin ilişkisi

DA, D1 ve D2 reseptörleri PVN içinde yoğun bir şekilde lokalize olmuştur (Chocyk ve ark., 2008). Farmakolojik çalışmalar, hipotalamusun DA reseptör aktivitesinin D1 ve D2 benzeri reseptör agonistleri ve antagonistleri tarafından modülasyonunun gıda alımını düzenleyebileceğini göstermiştir (Ramos ve ark., 2005). Obez bir kadının plazma leptin seviyeleri D2 reseptörlerinin uygulanmasından sonra düşmüştür, bu da DA reseptörlerinin insan leptin seviyelerinin kontrolünde olası bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir (Kim ve ark., 2005). Buna ek olarak, Steele ve arkadaşları obez bireylerde beyin DA reseptörlerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığını göstermiştir. PVN'deki D4 reseptörlerinin obezitenin önlenmesinde

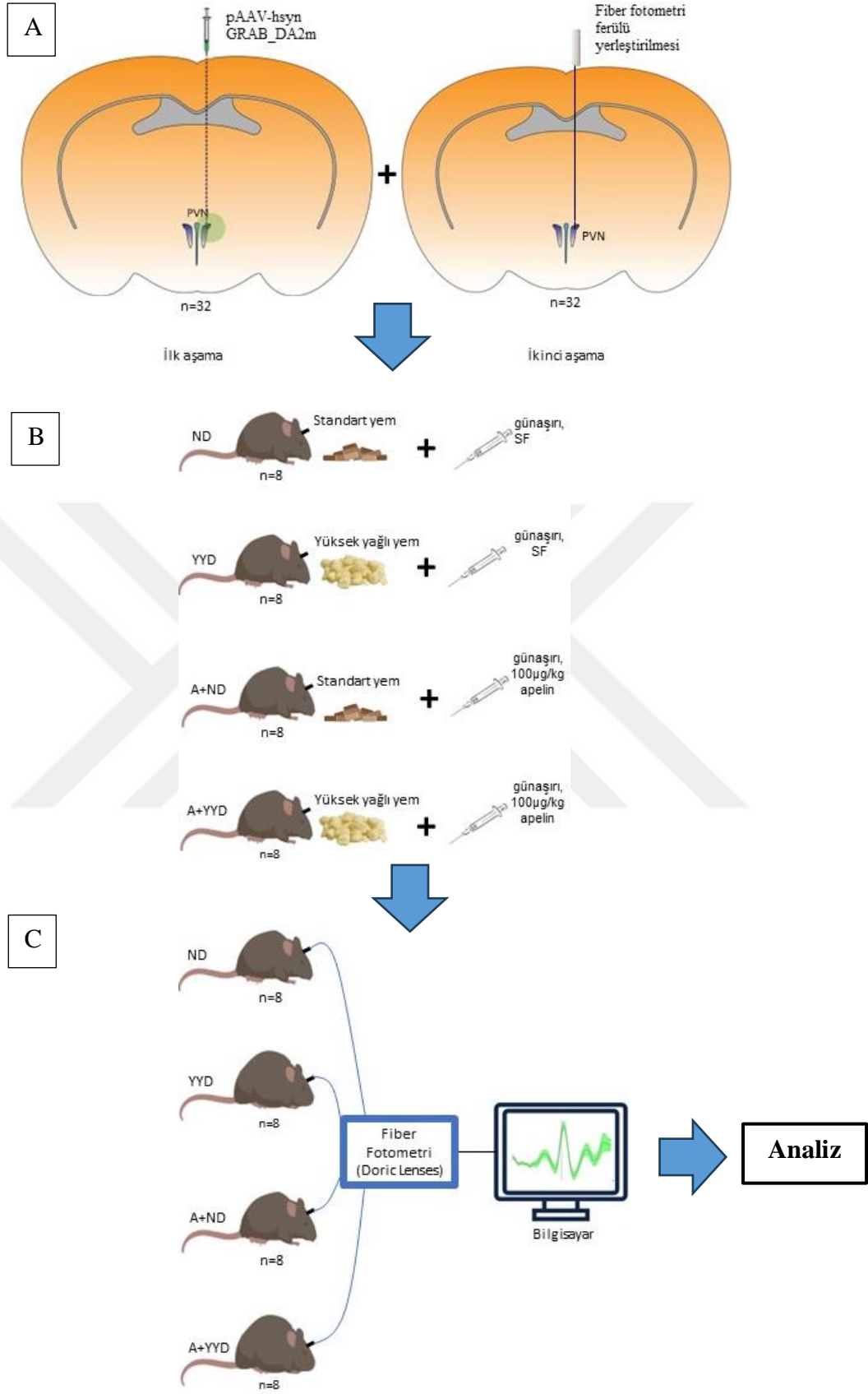
rol oynadığı gösterilmiştir. CRH, strese yanıt olarak gösterdiği etkilerin yanı sıra anoreksijenik ve katabolik bir rol oynamaktadır (Steele ve ark., 2010). Ek olarak, beyin sapından kaynaklanan DA'erjik NPY lifleri PVN'deki CRH nöronlarını kapsamlı bir şekilde uyarılmaktadır (Füzesi ve ark., 2007). Bu beyin sapı DA projeksiyonları, hipoglisemi de dahil olmak üzere fiziksel stresörlere yanıt olarak CRH'nin transkripsiyonunu ve salınımını teşvik etmektedir (Li ve ark., 1996).

Apelinin, sıçan Parkinson modelinde DA'erjik nöronların kaybını tersine çevirdiği, motor performansı ve bilişsel bozuklukları iyileştirdiği saptanmıştır (Esmaeili-Mahani ve ark., 2021; Haghparsat ve ark., 2018). 2022 yılında yapılan yeni bir çalışmada eksojen apelin 13'ün, hem normal hem de deneysel Parkinson koşulları altında sıçan nigral DA'erjik nöronların ateşleme aktivitesini modüle ettiği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2022). PVN, Drd1/NPY aksonları tarafından yoğun bir şekilde inerve edilmektedir. PVN'deki Drd1/NPY nöron projeksiyonlarının uyarılmasının gıda tüketimini güçlü bir şekilde artırdığı, bu durumun, ARC AgRP/NPY/Drd1/PVN devresinin beslenmeyi yönlendirmek için yeterli olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Projenin deneysel aşamaları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirildi. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alındı (07.12.2023-E.131336). Hayvanlar virüs enjeksiyonu sonrasında 15 gün dinlendirildi. Projede 28 günlük yüksek yağlı diyet modeli oluşturuldu (Pratchayasakul ve ark., 2011). Apelin-13 (Cayman Chemical 13523, 100µ/kg (Khoshsirat ve ark., 2021) gün aşırı 28 gün boyunca (Attané ve ark., 2012; Higuchi ve ark., 2007) intraperitoneal olacak şekilde uygulandı. Deneysel aşamalarda 25-27 gr ağırlığında yetişkin 32 adet erkek C57/BL6 ırkı fareler kullanıldı. Hayvanlar normal diyet (ND), yüksek yağlı diyet (YYD), apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) ve apelin+normal diyet (A+ND) olarak eşit sayı ve ağırlıkta 4 gruba ayrıldı. Hayvanlar deney süresince 22±1 oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde tekli hayvan kafeslerinde barındırıldı. Hayvanların yemleri standart pellet yemler ve yine pelet halinde %60 domuz yağı bazlı yüksek yağlı diyet yemi (ssniff Spezialdiäten GmbH, E15742-34), suları ise özel şişelerinde musluk suyu olarak verildi. Hayvanlar, davranış test ortamına alışabilmeleri için teste tabi tutulmadan yaklaşık yarım saat önce sessiz odaya alındı.



Şekil 3.1. Fiber fotometri yönteminin ve devam eden deney prosedürü aşamalarının temsili şeması.

Çalışmamızda yapılan deney prosedürü ve aşamaları şematik olarak gösterilmektedir. (A), Sterotaksik cihazda PVN'ye *in vivo* beyin içi GRAB_{DA} enjeksiyonu ve fiber fotometri ferülü ve fiber kablonun yerleştirilmesi; (B), Diyetler ve enjeksiyonlar; (C), Fiber fotometrik kayıtların alınması.

3.2. GRAB_{DA} Sensörleri

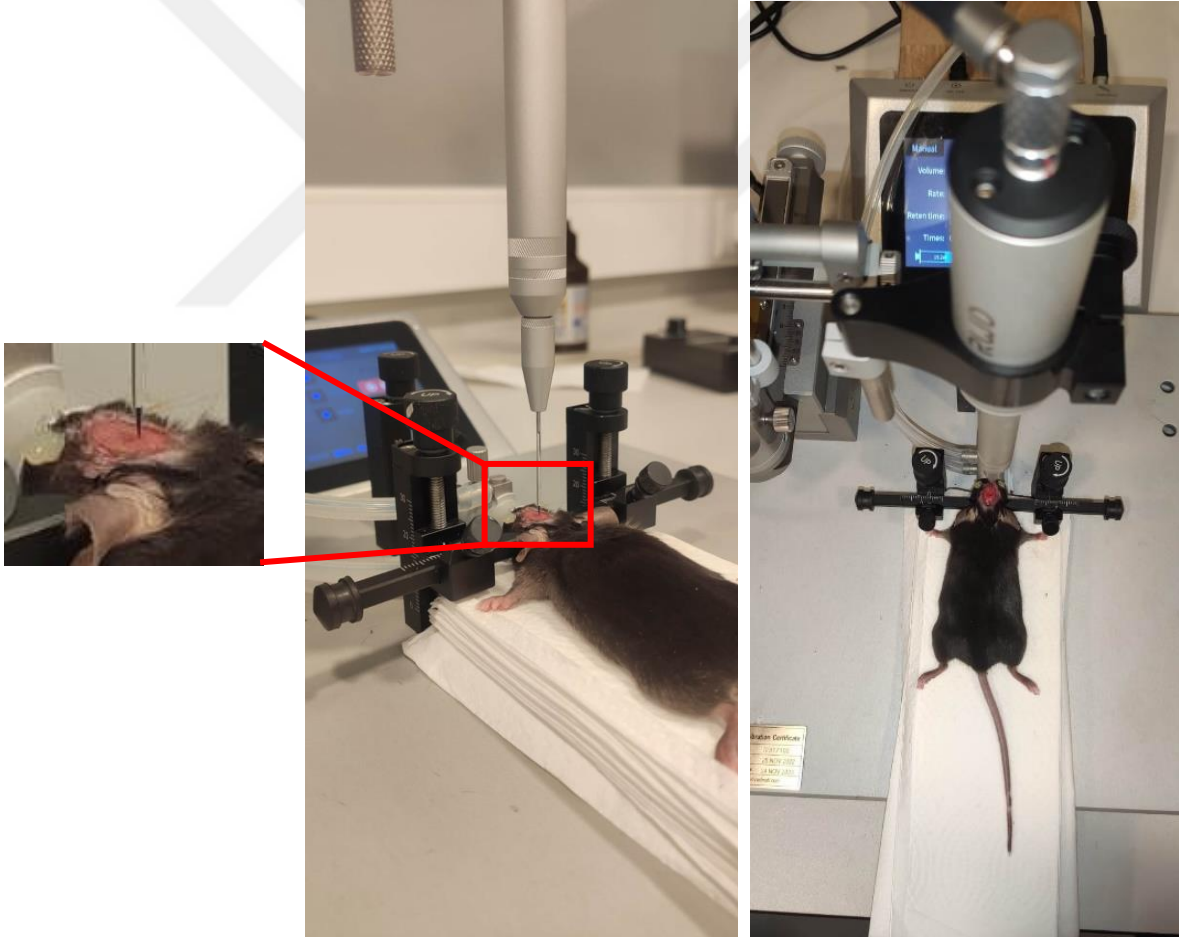
Mikrodiyaliz ve elektrokimyasal mikrosensörler gibi analitik teknikler, beyindeki DA gibi modülatörlerin varlığı hakkında yararlı bilgiler sağlamaktadır ve bu teknikler önemli akademik çalışmalarda kullanılmıştır (Ganesana ve ark., 2017; Jaquins-Gerstl ve Michael, 2015). Bununla birlikte, bu sistemler zayıf zamansal çözünürlük (saniyelerden saatlere kadar) nedeniyle sınırlıdır ve bu da saniyenin altındaki bir zaman ölçeğinde meydana gelen DA salınım olaylarının doğrudan tespit edilmesini engellemektedir. Bu limitasyonlara karşılık DA'nın doğrudan, hızlı, hassas ve hücre tipine özgü tespiti için GPER aktivasyonuna dayalı DA sensörleri (GRAB_{DA}) geliştirilmiştir (F. Sun ve ark., 2018). GRAB_{DA}'lar DA'ya afinitesi yüksek olduğu için temelde D1 ve D2 reseptörlerinin *intracellular loop 3* (ICL3) bölgesine yeşil floresan proteini (GFP) genetik kodu ekleyerek tasarlanmıştır. Adeno ile ilişkili virüs içerisinde paketlenmiş olan GFP ile işaretlenmiş DA sensörü genetik kodu, beyin içi enjeksiyon ile hedeflenen beyin bölgesine hücredeki mevcut DA'nın varlığını saptamak amacıyla enjekte edilmektedir. DA'nın bu işaretli sensörlere bağlanması ile GFP'nin floresan yoğunluğunda bir artışa yol açan konformasyonel değişiklik meydana gelmektedir. Bu değişiklik *in vivo* olarak fiber fotometrik sistemlerle 470 nm dalga boyundaki ışığa gözlemlenerek hesaplanmakta ve bölgedeki DA'nın seviyesinin anlık değişimi hakkında bilgi vermektedir. Farelerdeki kullanımlarına ek olarak, DA sensörleri zebra balığı (Fangmiao Sun ve ark., 2018), *Drosophila* (Handler ve ark., 2019) ve zebra ispinozu (Tanaka ve ark., 2018) dahil olmak üzere diğer model hayvanlarda da başarıyla kullanılmıştır.

3.3. Stereotaksik İntrakraniyal Cerrahi

3.3.1. PVN bölgesine virüs enjeksiyonu

Fareler izofluran kullanılarak anestezi altına alındı ve üst dişlerinden stereotaksik çerçeveye yerleştirildi. Nefes yolunu açmak için dil ağızdan dışarı çıkarıldı. Farelere, operasyon sırasında hava, izofluran karışımı ile karıştırılarak solutuldu. Kafatası, kulak çubukları ile sabitlendi. Deri bistüri kullanılarak dikey olarak kesildi. Bregma ve lambda noktaları tespit edildi ve cam mikropipetin Bregma noktasına dokundurulduğu nokta x, y ve z koordinatları için sıfır olarak kabul edildi. Mineral yağ, virüs ile faz farkı oluşturacak şekilde cam mikropipete dolduruldu. Cam mikropipet aynı zamanda farelerin kafatası üzerindeki koordinatların belirlenmesi için de kullanıldı. Başarılı bir enjeksiyon için önemli olan ve

hedeflenen bölge dışında bir beyin bölgesine girişi engelleyen X ve Y koordinatları düzenlendi. PVN koordinatları, Paxinos & Watson Beyin Atlası'ndaki koordinatlara göre $-0,940 \pm 0,10$ mm arka, 0,25 mm yanal ve 4,70 mm dikey olarak belirlendi. PVN beyin bölgesinin koordinatları hedeflendikten sonra kafatası dental matkap kullanılarak delindi. Mineral yağ içeren cam pipet 400nl virüs ile dolduruldu. Cam mikropipet kortekse dokundurulduğunda Z koordinatı sıfırlandı ve derinlik arttırılarak mikropipet PVN'ye ulaştırıldı. Tüm grupların sağ PVN bölgesine 400 nl GRABDA virüsü (addgene #140553 pAAV-hsyn-GRAB_DA2m) 40nl/dak hız ile enjekte edildi. Her 400 nl virüs enjeksiyonundan sonra, 15 dakika beklendi. Bu bekleme süresiyle dokuyu terk etmeden önce negatif basıncın oluşması önlenmiş oldu. Enjeksiyon sonrasında cam mikropipet ucu PVN bölgesinden çıkartıldı. Aynı bölgeye fiber fotometrik ferül ve fiberoptik kablo yerleştirme aşamasına geçildi.



Şekil 3.2. Beyin içi virüs enjeksiyonu yapılan örnek fareler.

Sağ taraf PVN bölgesine 400nl GRABDA virüsünün (addgene #140553 pAAV-hsyn-GRAB_DA2m) beyin içi enjeksiyon işlemi.

3.3.2. PVN bölgesine fiber fotometrik ferül yerleştirme

Enjeksiyon işlemi bittikten sonra farenin enjeksiyon yapılan bölgesine fiberoptik bir kablo (400 µm diameter açıklık; BFH37-200 Multimode; NA 0,37 Thor labs) farelerin PVN bölgesine yerleştirilip ışık geçirgenliği %80 üzeri olacak şekilde ayarlandı (Muir ve ark., 2019). Fiber kablonun seramik kısmını kafatasına sabitlemek için integra marka soğuk tamir likiti ve dental akrilik kullanıldı. Uygulama sonrası iki haftalık bulaşıcı dönem sonunda, virüs PVN bölgesi DA'erjik reseptörlerinde ifade edilmektedir. Böylece PVN bölgesinde meydana gelen DA'erjik reseptör aktivite ölçülebilecektir.



Şekil 3.3. Beyin içi ferül implantı yapılan farelere örnekler.

PVN bölgesinden işaretli DA'erjik reseptörlerden kaynaklı sinyali kaydedebilmek için fiber fotometrik ferül yerleştirme işlemi.

3.4. Davranış Testleri

Obezitenin anksiyete parametrelerine etkisi ve dopaminin anksiyete parametreleri ile yakından ilişkili olması anksiyete testlerinin yapılmasını gerekli kılmıştır. 4 grupta yer alan hayvanların tamamına yükseltilmiş artı labirent testi, açık alan testi ve üç odacıklı sosyal

etkileşim davranış testleri uygulandı. Uygulanan davranış testleri ve yöntemsel ayrıntılar aşağıda da belirtilmiştir.

3.4.1. Açık alan testi

Açık alan testi, kemirgenlerde genel lokomotor aktivite, anksiyete ve tımarlanma gibi stereotipik davranışları analiz etmek için kullanılmaktadır. Locomotor aktivitedeki değişiklikler değişen nörolojik süreçlere işaret edebilir, dolayısıyla anormal beyin fonksiyonunu gösterebilir. Anksiyete benzeri davranışlar gösteren fareler duvarlara yakın durmayı tercih eder, köşelerde ve kenarlarda daha fazla zaman geçirir ve daha az lokomotor aktivite gösterir. Anksiyetesi daha düşük olan fareler ise açık alanın merkezinde daha fazla zaman geçirmeyi tercih etmektedir (Walsh ve Cummins, 1976).

Deney başlamadan önce, merkezin ve platformun uç noktalarının ışık alımı ölçüldü ve merkez 125 lükse ayarlandı. Oda sıcaklığı 22°C olarak ayarlandı. Her hayvan açık alanın ortasına yerleştirildi ve 10 dakika boyunca platformu serbestçe keşfetmesine izin verildi. Her deneme video izleme sistemi ile kaydedildi (EthoVision). Platform her denemeden sonra %70 etanol ile temizlendi. Her bir hayvanın lokomasyon ve anksiyete benzeri davranışları analiz edildi.



Şekil 3.4. Açık alan testinin uygulama örneği.

Açık alan testi uygulama sırasında davranış deneyindeki örnek fare.

3.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi

Test farelerdeki anksiyete davranışını değerlendirmek için yükseltilmiş artı labirent kullanıldı. Toplam kol girişleri, açık kollarda geçirilen zamanın toplam kollarda geçirilen zamana göre yüzde oranı ve açık kol girişlerinin toplam girişlere göre yüzde oranı yükseltilmiş artı labirent testinin parametreleridir (Walf ve Frye, 2007).

Ekipman: 110x110 cm uzunluğunda pleksiglas bir platform olan labirent, iki dikey açık kol ve kenarları pleksiglas duvarlarla kapatılmış iki kapalı kol olmak üzere dört koldan oluşmaktadır.

Prosedür: Deney başlamadan önce, platformun merkez ve uç noktalarının ışık alımı ölçüldü ve merkez 100 lüks olarak ayarlandı. Oda sıcaklığı 22°C olarak kaydedildi. Her bir hayvan, yüzleri aynı açık kola bakacak şekilde platformun ortasına yerleştirildi. Farelerin 5 dakika boyunca serbestçe hareket etmelerine izin verildi ve hareketleri EthoVision XT video izleme sistemi ile kaydedildi. Her denemeden sonra, koku alma duyusuna dayalı bir yanlılığı önlemek için platform %70 etanol ile temizlendi. Kapalı kollar, açık kollar ve merkezde geçirilen süre her bir hayvan için analiz edildi.

3.4.3. Sosyal etkileşim testi (Üç odacıklı test)

Üç bölmeli test, kemirgenlerde sosyal bağlılık ve sosyal hafızayı incelemek için kullanılmıştır. Üç odacıklı testin ana prensibi, denek farenin iki deney seansı boyunca kutunun üç bölmesinden herhangi birinde zaman geçirmek için özgür seçimine dayanır ve dolaylı olarak bir veya iki tanıdık olmayan fare ile temas içermektedir. Denek farenin sosyal eğilimlerini değerlendirmek için; tanıdık ve yeni bir türdeş tercihi ve yeni bir türdeşle geçirilen süre ölçülür. Sosyal motivasyon/bağlılık ve sosyal yenilik ve hafıza, sosyal davranışın kritik yönleridir ve üç odacıklı testin deneysel tasarımı bu yönlerin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu durumda, "Sosyallik" aynı ama boş bölmede tek başına zaman geçirmek yerine başka bir fareyle daha fazla zaman geçirme eğilimi olarak tanımlanır. "Sosyal yenilik tercihi", daha önce araştırılmış bir fare ile geçirilen zamana kıyasla, tanıdık olmayan bir fare ile daha fazla zaman geçirme eğilimi olarak tanımlanmaktadır (Kaidanovich-Beilin ve ark., 2011).

Ekipman: Pleksiglas platform (60x30x40cm) küçük dikdörtgen açıklıklarla (20x30x40cm) üç bölmeye ayrılmıştır. Her bir yan bölme, başka bir farenin yerleştirildiği üçgen bölümlere sahiptir.

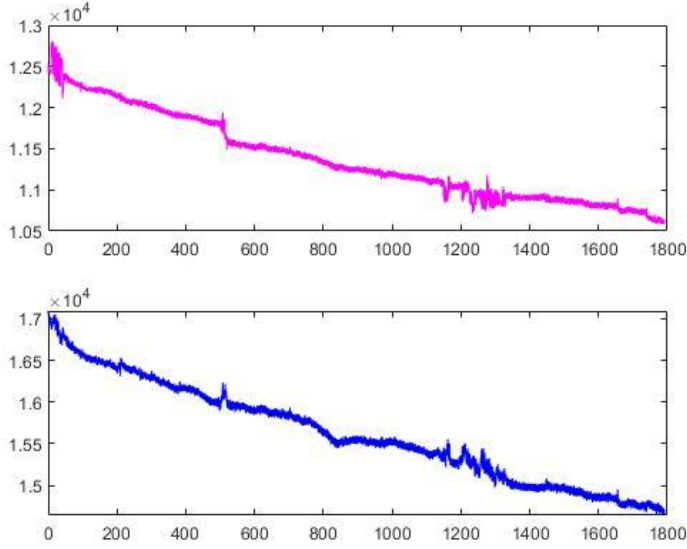
Prosedür: Üç bölmeli sosyal etkileşim testi 3x10 dakikalık seanslardan oluşturuldu. Her hayvan, hiçbir uyarının bulunmadığı 10 dakikalık alışma süresi için merkez alana yerleştirildi. İkinci oturumda, yeni bir fare platformun sağ bölmesine (yabancı bölge 1) koyulurken diğer bölme kafesi boş bırakıldı ve deney faresinin 10 dakika boyunca tüm bölmeleri serbestçe keşfetmesine izin verildi. Son oturumda ise sosyal yenilik tercihi ölçüldü, daha önce koyulmuş olan fare sağ bölmede dururken yeni yabancı fare sol bölmeye (yabancı bölge 2) yerleştirildi ve deney faresinin 10 dakika boyunca tüm bölmeleri serbestçe keşfetmesine izin verilmiştir. Deney faresinin davranışları EthoVision XT video izleme sistemi ile kaydedildi. Sosyal indeks ve sosyal tercih her bir hayvan için aşağıdaki şekilde hesaplandı (Ozen, 2021). Sosyal etkileşim test prosedürü:

- a) Sosyal İndeks Skoru= Yabancı bölgede geçirilen zaman 1/ Boş alanda geçirilen zaman
- b) Sosyallik Tercih Skoru= Yabancı bölgede geçirilen süre 2/ Yabancı bölgede geçirilen süre 1

3.5. İn vivo GRAB_{DA} Sensör Aktivitesi Hesaplaması

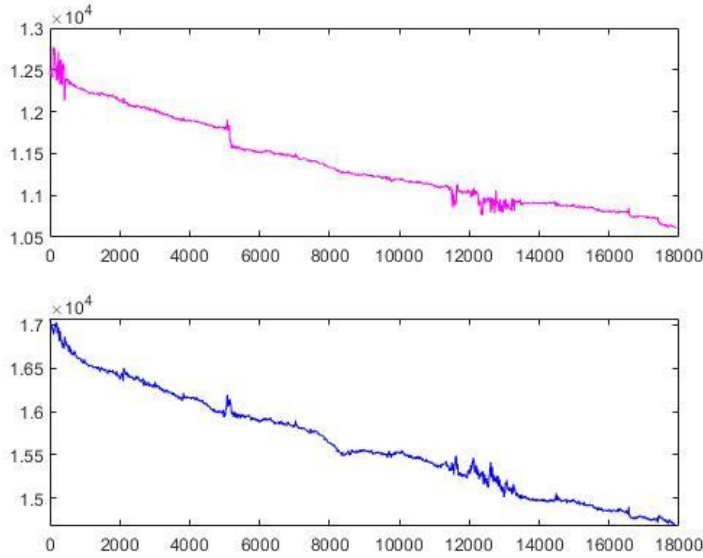
28 günlük uygulanan yüksek yağlı diyet ve apelin enjeksiyonları sonrasında eksitasyon ve 405 nm kontrol, 470 nm GRAB_{DA} sinyali kaydedici portlar ile donatılmış bir fiber fotometri cihazı (Dorik Lensler) kullanılıp beyin içi PVN'deki DA'erjik reseptör aktivite sinyallerinin kaydı yapıldı. GRAB_{DA} sinyaline ait olmayan sinyaller filtrelendi. Tüm deneyler sırasında, fiber uçtan yayılan ışık yoğunluğu 30-50 µW aralığında sabit tutuldu. İn vivo fiber fotometri floresan sinyalinin analizi Martianova ve arkadaşlarının (Martianova ve ark., 2019) çalışmasından uyarlanan özelleştirilmiş komut dosyaları ile MATLAB (R2020a) programında gerçekleştirildi. Sonrasında MATLAB trapz fonksiyonu ile eğri altı alan (AUC) belirlendi. Örnek bir fareden alınan fiber fotometri kaydı ile yapılan analizlerin aşamaları aşağıda sıralanmıştır.

İlk aşamada, 405 nm ve 470 nm kanallarından 1800 sn'lik kaydedilen işlenmemiş floresan sinyal yoğunluğu verileri zamana karşı belirlendi.



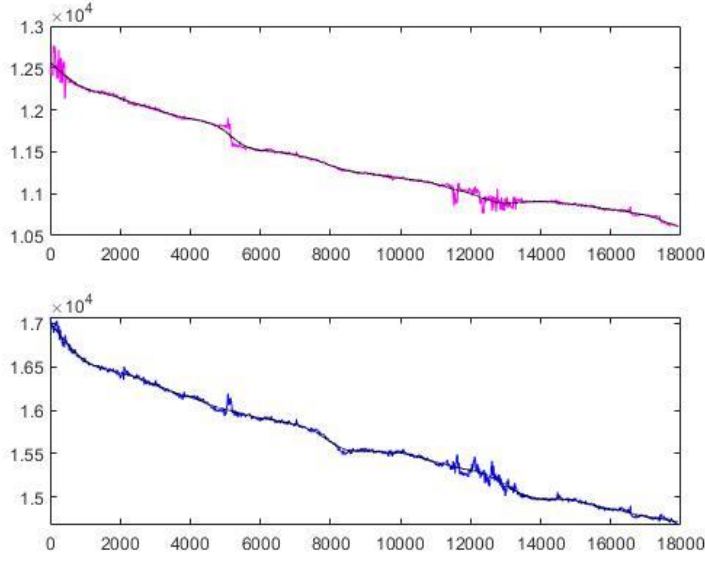
Şekil 3.5. 405 nm ve 470 nm dalga boyu işlenmemiş veri sinyal kaydı grafiği.

İkinci aşamada, ham veri artefaktlarını ortadan kaldırmak için 10 Hz'de düşük geçişli filtreden geçirildi.



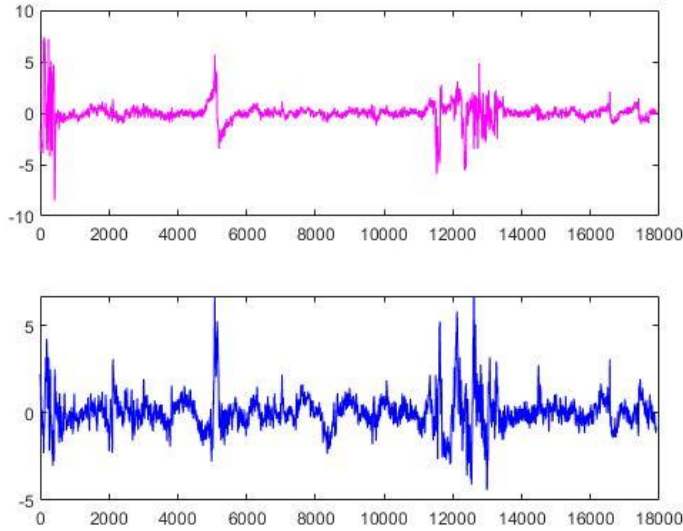
Şekil 3.6. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının ikinci aşama sonrası sinyal grafiği.

Üçüncü aşamada, ışıkla ağartmadan kaynaklanan sinyal bozulmasını düzeltmek için, her kanal için temel floresan sinyali, uyarlanabilir yinelemeli en küçük kareler algoritması kullanılarak tanımlandı.



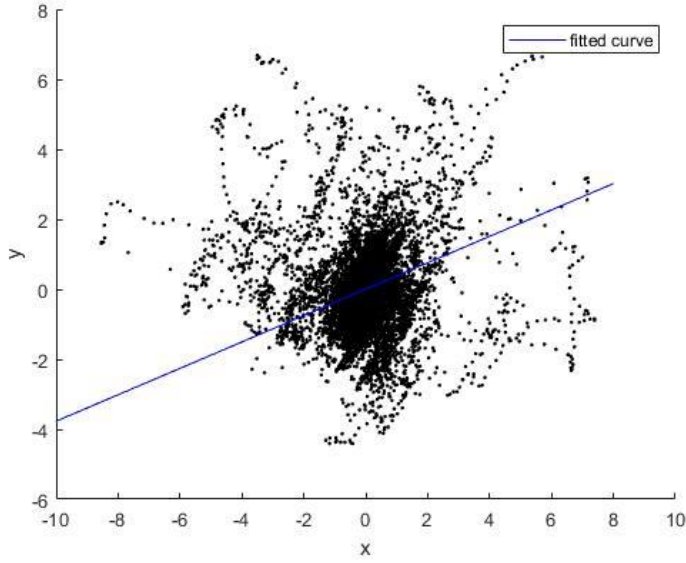
Şekil 3.7. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının üçüncü aşama sonrası sinyal grafiği.

Dördüncü aşamada, her sinyal, medyan yanıtın çıkarılması ve standart sapmaya bölünmesiyle standardize edildi.



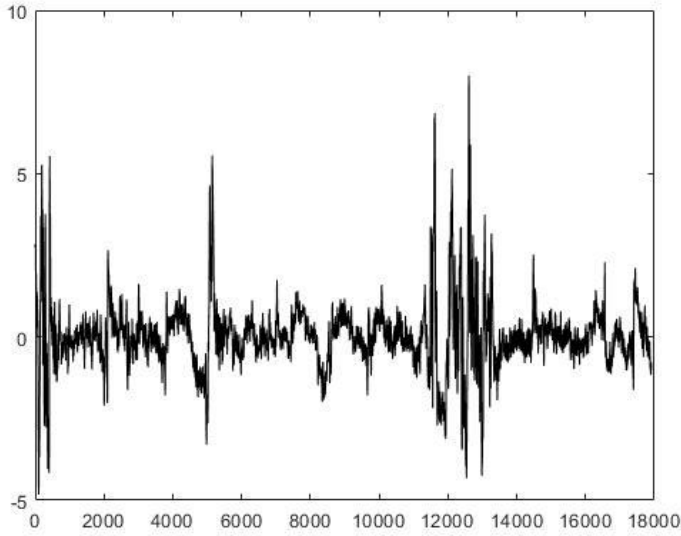
Şekil 3.8. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının dördüncü aşama sonrası sinyal grafiği.

Beşinci aşamada, hareket artefaktlarını veya $GRAB_{DA}$ 'ya bağımlı olmayan yanıtlarını düzeltmek için, standartlaştırılmış 405 nm sinyali, standartlaştırılmış 470 nm sinyaline sığdırmak amacıyla negatif olmayan sağlam doğrusal regresyon fonksiyonu kullanıldı.



Şekil 3.9. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydının negatif olmayan sağlam doğrusal regresyon fonksiyonu sonrası grafiği.

Altıncı aşamada, zamana karşı z-skor ($\Delta F/F$), standartlaştırılmış 405 nm sinyalinin standartlaştırılmış 470 nm sinyalinden çıkarılmasıyla hesaplandı.

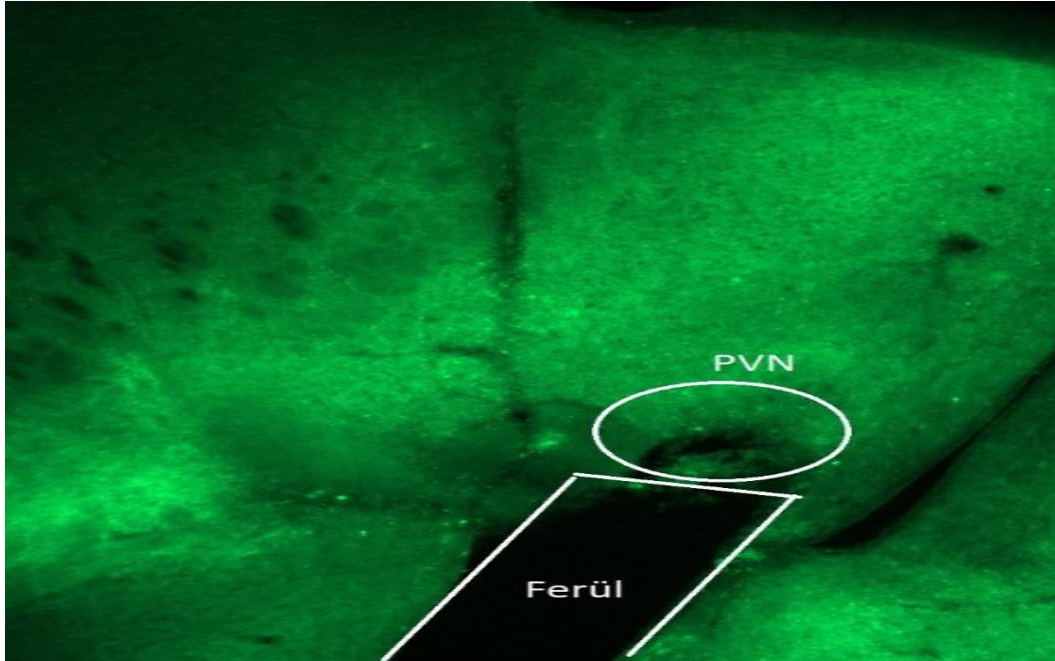


Şekil 3.10. 405 nm ve 470 nm dalga boyu sinyal kaydından hesaplanan z-skor dF/F grafiği.

Bu basamaklar z-skor (dF/F) (yani zdF/F) hesaplamasını yapmaktadır. Bu işlemlerle, dF/F değerleri alınır, bu değerlerin ortalama ve standart sapmasına göre normalize edilmesini sağlar ve ardından referans sinyali (kontrol) ile $GRAB_{DA}$ sinyali arasındaki fark hesaplanır.

3.6. Kardiyak Perfüzyon ve Görüntüleme

Enfekte edilen nöronları floresan mikroskobu altında görüntüleyebilmek için anestezi altındaki farelere kardiyak perfüzyon yapılarak beyinleri çıkartıldı. 20 ml SF sonrasında 20 ml %4 paraformaldehit çözeltisi kalbin sol tarafından verilerek sistemik olarak hayvanın vücudunda dolaştırıldı. Bu sayede beyindeki kan, bölgeden uzaklaştırılmış oldu. Kafatası açılarak fare beyni izole edildi. Fikse olduktan sonra vibratom cihazında (Campden 5100mz) 70 µm kalınlığında koronal kesitler alındı. Kesitler %4 paraformaldehit çözeltisine kondu. Hazırlanan kesitler floresan mikroskobu altında incelenerek floresan proteini sinyali veren DA reseptörleri, enjeksiyon bölgesi ve fiber kablonun lokalizasyonu doğrulandı.



Beyin içi enjeksiyon ve fiberoptik kablo yerleştirilen bölgenin mikroskop altındaki görünümü.

Şekil 3.11. Enjeksiyon yapılan ve ferül implante edilen fare beyinlerinden örnek görüntü.

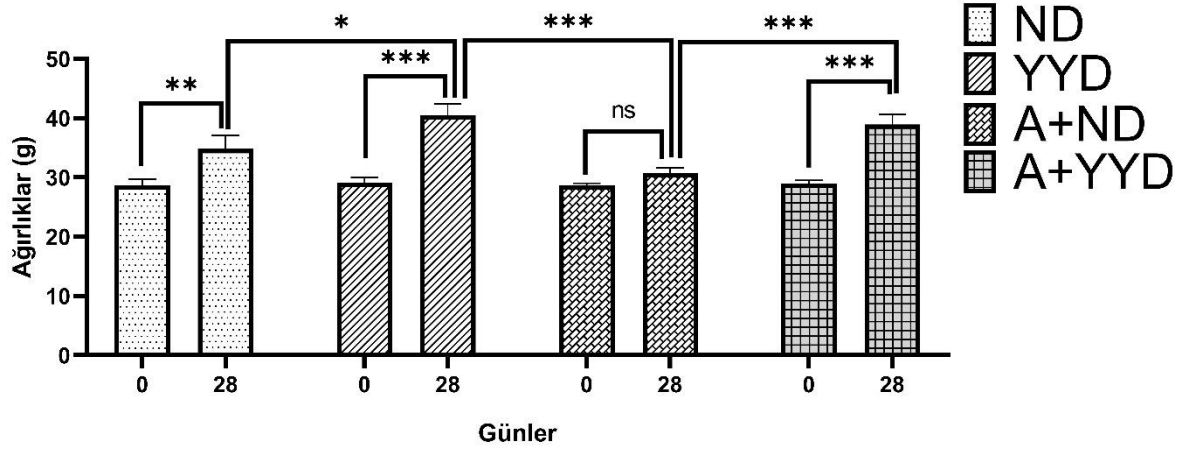
3.7. İstatistik Analizi

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism®8 (San Diego, CA, USA) kullanıldı. Verilerin normal dağılımını belirlemek için grup sayısına göre belirlenmek üzere Shapiro-Wilk normallik testi kullanıldı. Normal veri dağılımına sahip olan karşılaştırmalarda One-Way ANOVA testi, anormal veri dağılımına sahip olan karşılaştırmalarda ise Kruskal–Wallis testi uygulandı. Post-hoc karşılaştırmalar Tukey ve Dunn testleri ile gerçekleştirildi. Bağımlı karşılaştırmalar için Two-Way ANOVA testi ile post hoc analizi Sidak testi ile gerçekleştirildi. Tüm veriler ortalama±ortalamanın standart hatası (OSH) olarak verildi. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıkları

Tüm gruplara ait hayvanların 0. ve 28. gün vücut ağırlıkları ölçülmüştür.

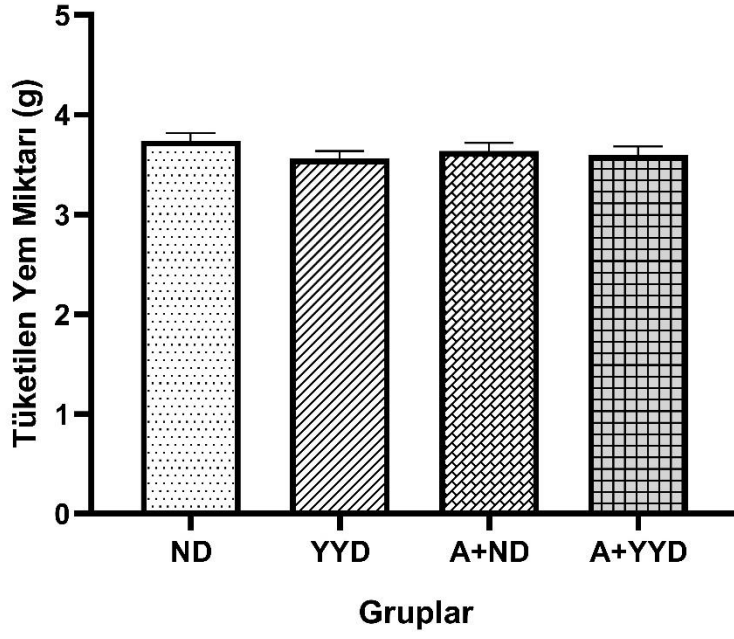


Şekil 4.1. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının 0. ve 28. gün vücut ağırlıkları bar grafiği. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ istatistiksel olarak gruplar arasındaki anlamlılığı ifade etmektedir. ns, istatistiksel anlamlılık olmadığını ifade etmektedir.

ND ($p<0,01$), YYD (0,001) ve A+YYD ($p<0,001$) gruplarındaki hayvanların 28. gün vücut ağırlık ortalaması 0. güne göre artmıştı. A+ND grubundaki hayvanların 28. gün ağırlık ortalaması ile 0. gün ağırlık ortalamaları arasında fark yoktu ($p>0,05$). YYD grubu 28. gün ortalama vücut ağırlığı ND grubuna göre yüksekti ($p<0,05$). YYD grubu ve A+YYD grubunun 28. gün ağırlık ortalamaları A+ND grubunun 28. gününe göre yüksekti ($p<0,001$).

4.2. Tüketilen Yem Miktarı

Tüm gruplara ait hayvanların 28 gün boyunca tükettikleri yem miktarı ölçüldü ve kayıt altına alındı.

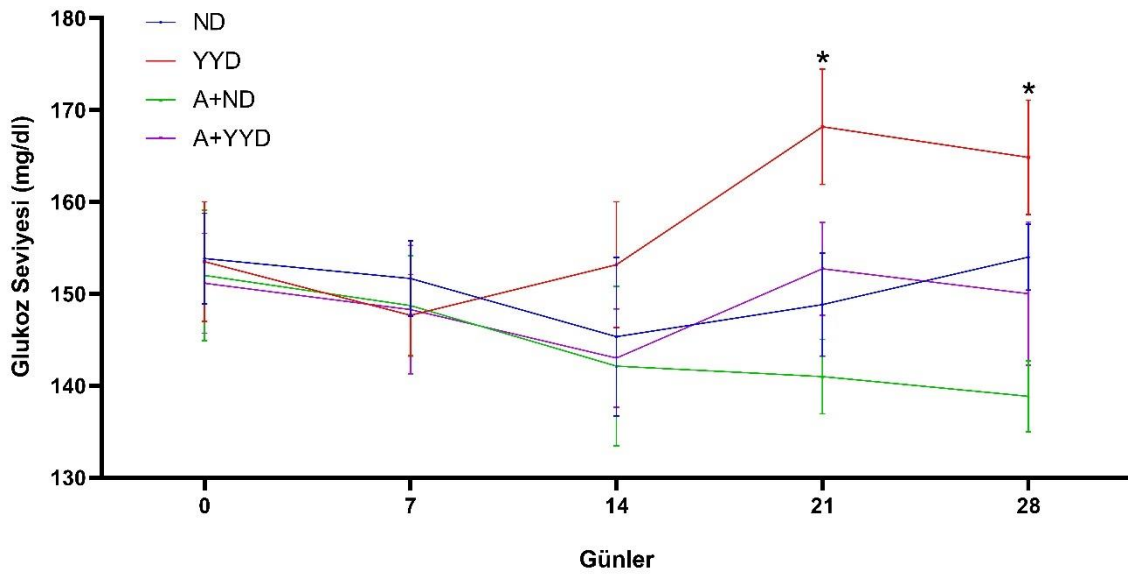


Şekil 4.2. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının ortalama tükettikleri yem miktarları bar grafiği.

Grupların tükettikleri ortalama günlük yem miktarı incelendiğinde gruplar arası anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

4.3. Glukoz Seviyeleri

Tüm gruplara ait hayvanların birer hafta arayla kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve kayıt altına alındı.



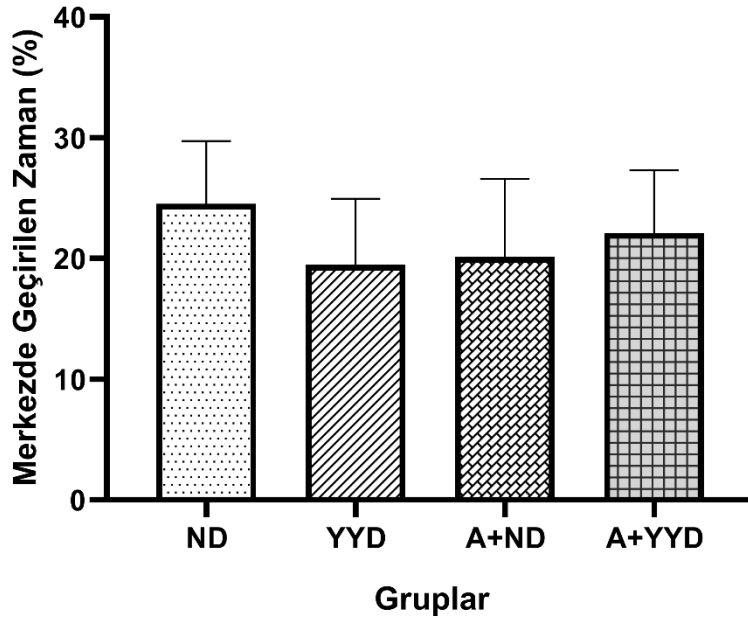
Şekil 4.3. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının haftalık kan glukoz seviyelerini gösteren çizgi grafiği. * $p<0,05$ A+ND grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

0.,7. ve 14. günlerde kan glukoz seviyesi ölçümünde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). 21. ve 28. günlerde ölçülen kan glukoz seviyesi YYD grubunda A+ND grubuna göre yüksekti ($p<0,05$).

4.4. Davranış Deneyleri Bulguları

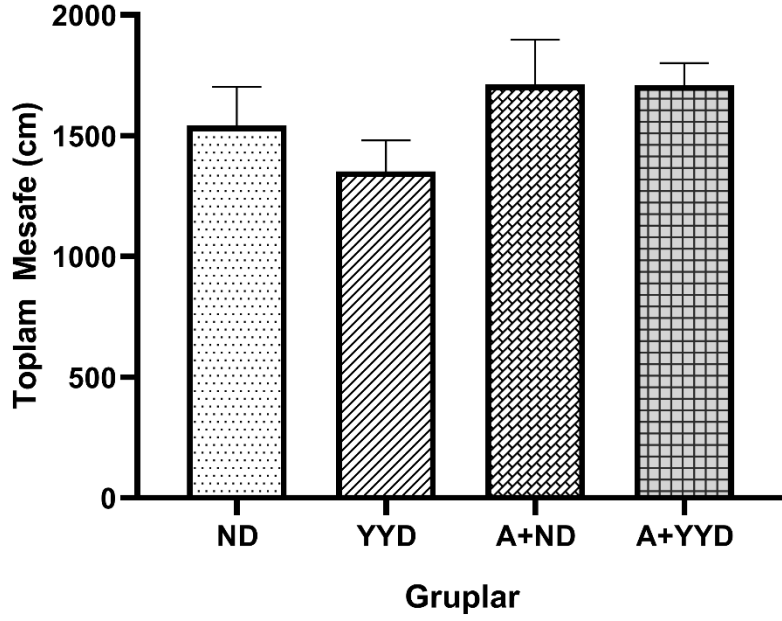
4.4.1. Açık alan testi bulguları

Deney hayvanlarında depresyon ve anksiyete seviyesi ölçümü için yapılan açık alan testinden elde edilen verilere göre, merkez alanda geçirilen zaman (%), katedilen toplam mesafe ve ortalama hız gruplar arasında karşılaştırıldı.



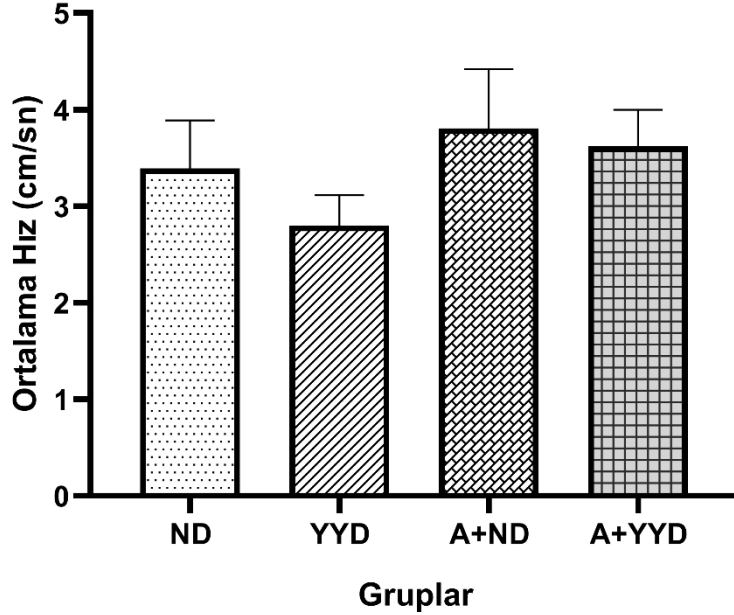
Şekil 4.4. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde merkezde geçirilen zaman (%) değerleri.

Açık alan testinde merkezde geçirilen zaman yüzdesi incelendiğinde en yüksek merkezde geçirilen zaman yüzdesi ND grubunda, en düşük merkezde geçirilen zaman yüzdesi ise YYD grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).



Şekil 4.5. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde toplam katedilen mesafe değerleri.

Açık alan testinde katedilen toplam mesafe incelendiğinde en yüksek katedilen mesafe A+ND grubunda, en düşük katedilen mesafe YYD grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

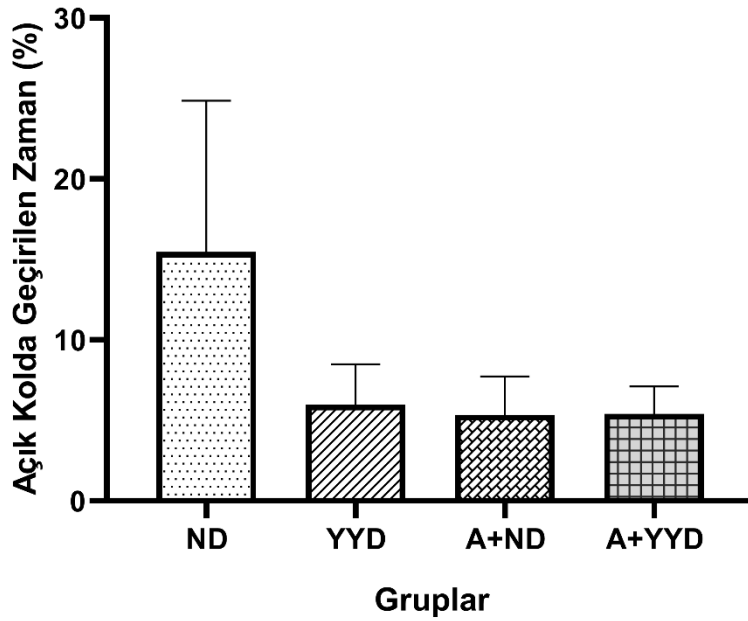


Şekil 4.6. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının açık alan testinde ortalama hız değerleri.

Açık alan testinde ortalama hız (cm/sn) incelendiğinde en yüksek ortalama hız A+ND grubunda, en düşük ortalama hız ise YYD grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

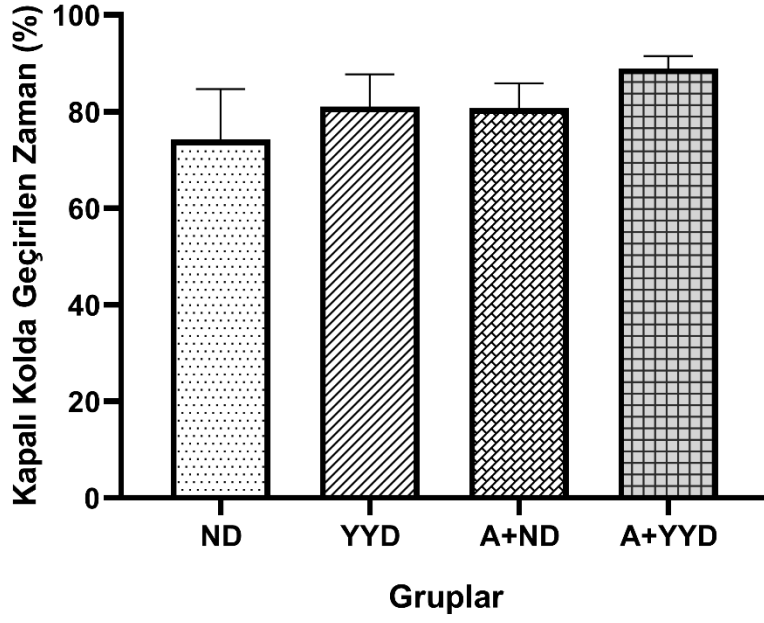
4.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları

Yükseltilmiş artı labirent testinde deney hayvanlarının labirentin açık ve kapalı kollarında geçirdikleri süre ile platformun orta alanında geçirdikleri süre toplam test süresine göre yüzde cinsinden ifade edildi.



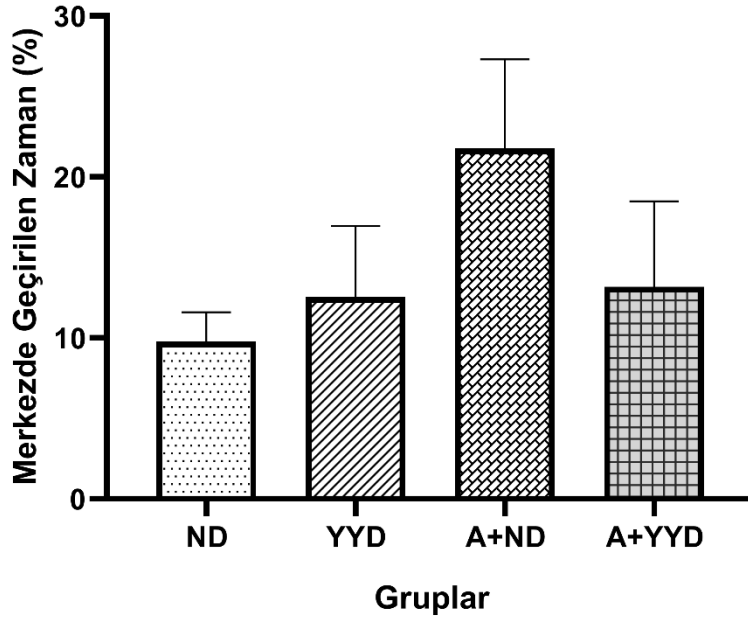
Şekil 4.7. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda geçirilen zaman (%) değerleri.

Yükseltilmiş artı labirent testinde gruplara göre açık kolda geçirilen zaman (%) değerleri incelendiğinde en yüksek ortalama zaman yüzdesi ND grubunda, en düşük zaman yüzdesi ise A+ND grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).



Şekil 4.8. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltmiş artı labirent testinde kapalı kolda geçirilen zaman (%) değerleri.

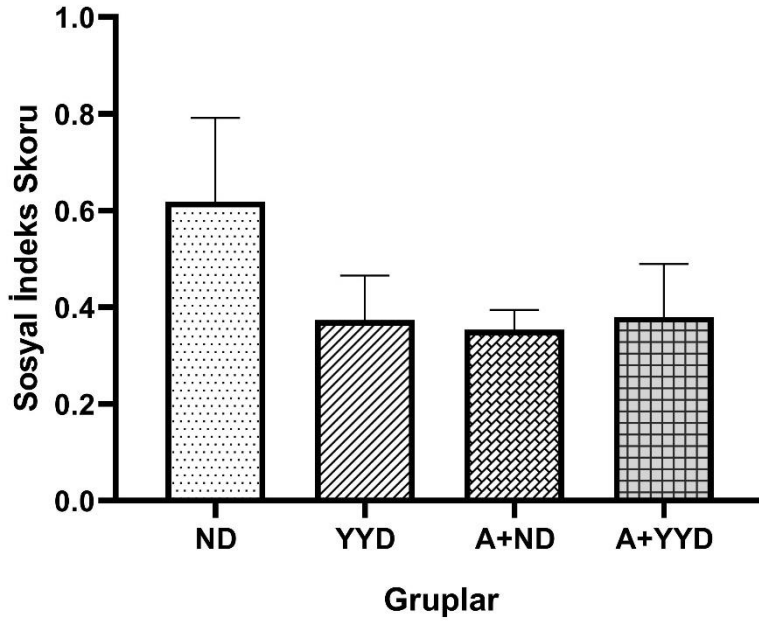
Yükseltmiş artı labirent testinde gruplara göre kapalı kolda geçirilen zaman (%) değerleri incelendiğinde en yüksek kapalı kolda geçirilen zaman yüzdesi A+YYD grubunda, en düşük kapalı kolda geçirilen zaman yüzdesi ise ND grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).



Şekil 4.9. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının yükseltmiş artı labirent testinde merkez alanda geçirilen zaman (%) değerleri.

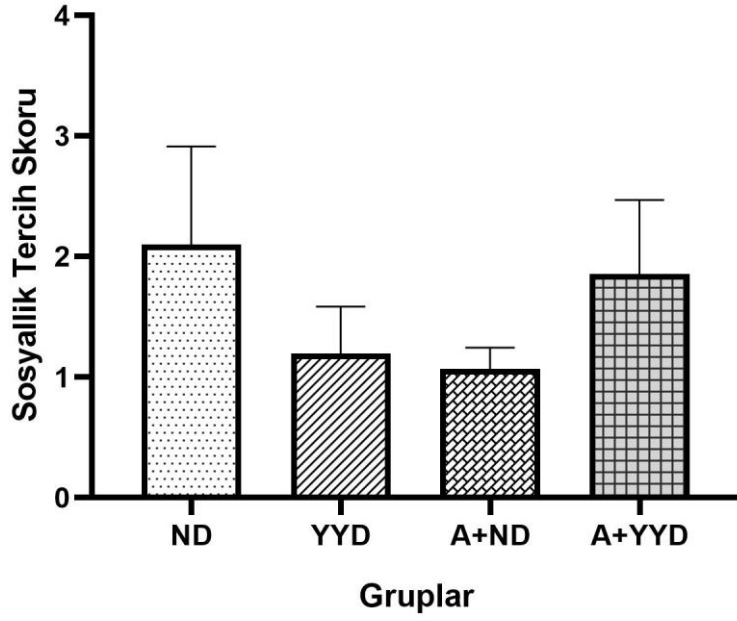
Yükseltilmiş artı labirent testinde gruplara göre merkezde geçirilen zaman (%) değerleri incelendiğinde en yüksek merkezde geçirilen zaman yüzdesi A+ND grubunda, en düşük merkezde geçirilen zaman yüzdesi ise ND grubundaydı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

4.4.3. Sosyal etkileşim testi (Üç odacıklı test) bulguları



Şekil 4.10. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının sosyal etkileşim testindeki sosyal indeks skoru değerleri.

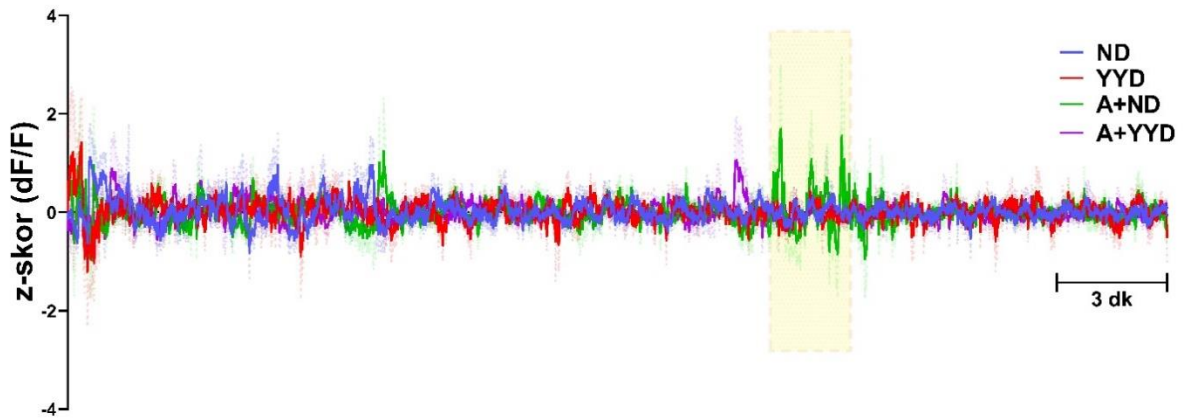
En yüksek sosyal indeks skoru ND grubunda, en düşük sosyal indeks skorunu ise A+YYD grubunda hesaplandı. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).



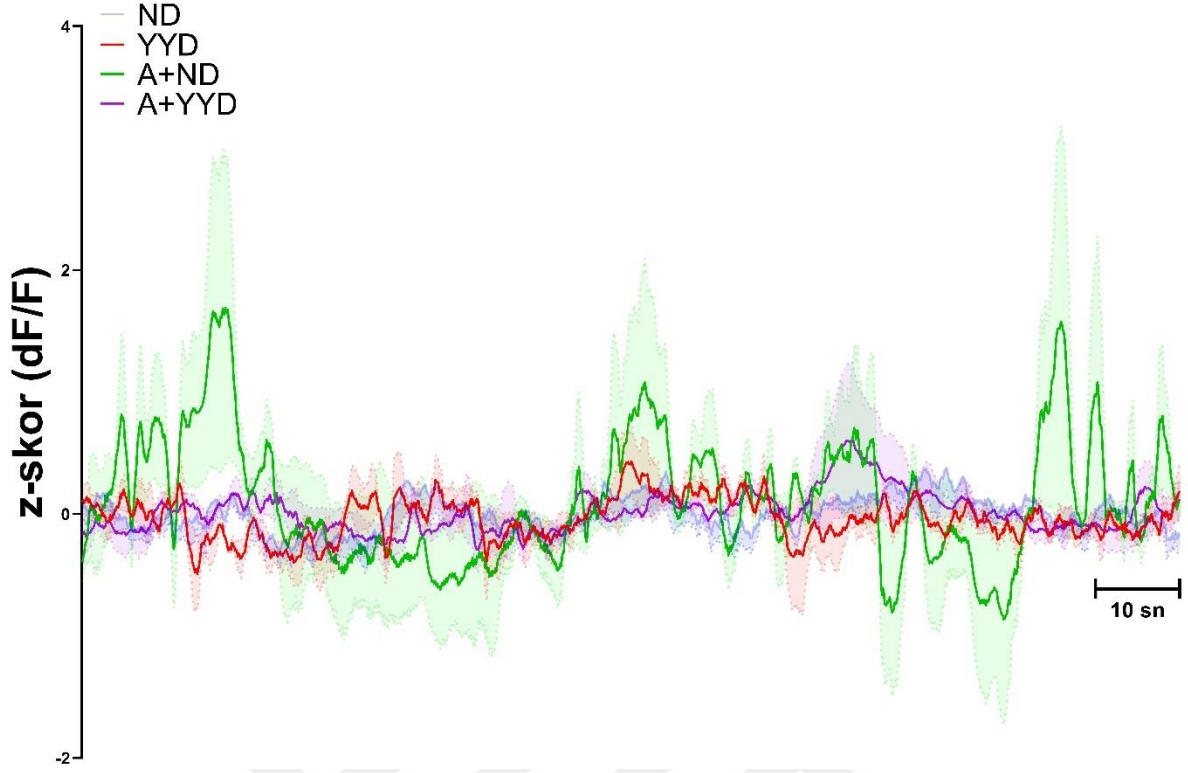
Şekil 4.11 Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının sosyal etkileşim testindeki sosyallik tercih skoru değerleri.

En yüksek sosyallik tercih skoru ND grubunda, en düşük sosyallik tercih skorunu ise A+ND grubundaydı. A+YYD grubu sosyallik tercih skoru YYD grubuna göre yükselme eğiliminde olmasına karşılık fark anlamlı değildi ($p>0,05$).

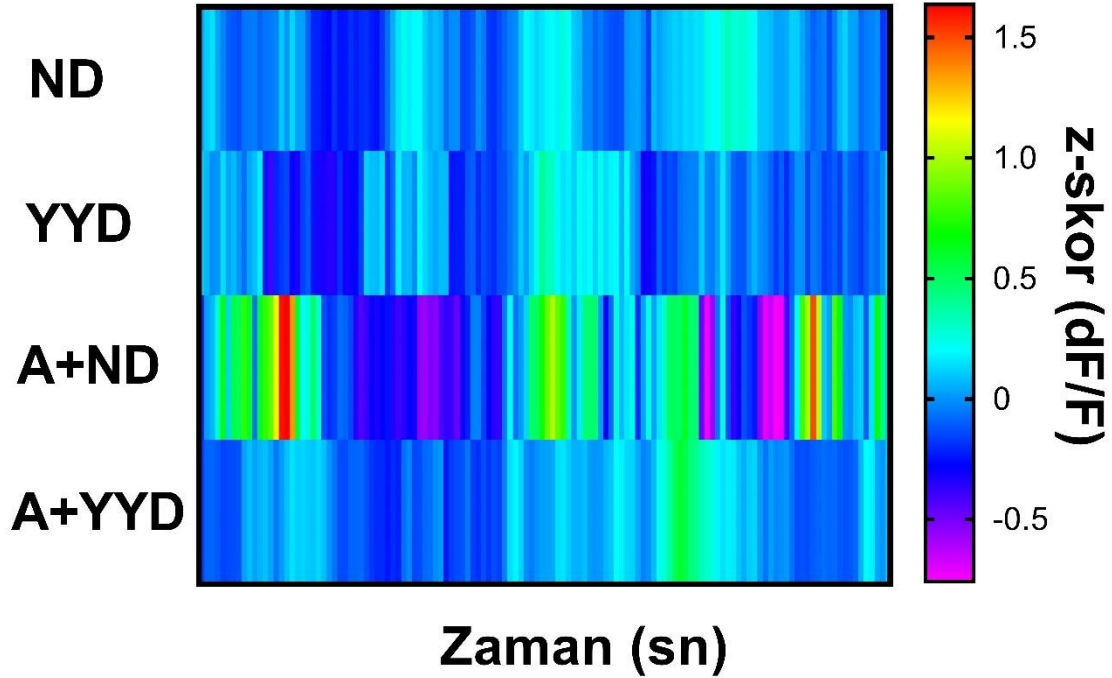
4.5. Fiber Fotometri Analizi Bulguları



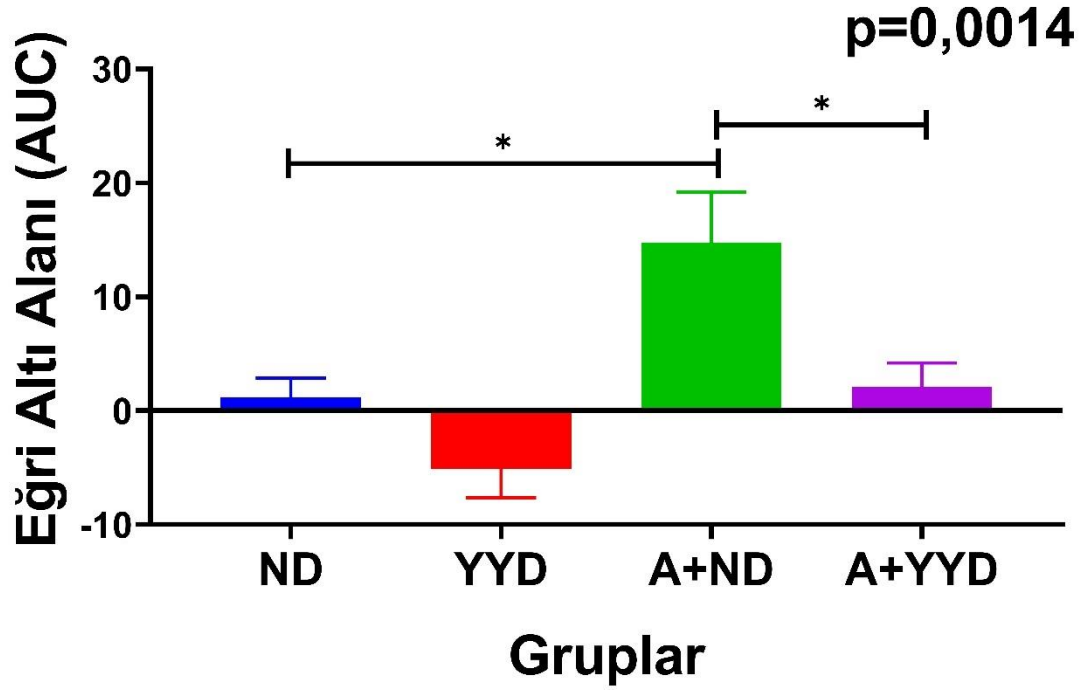
Şekil 4.12. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarının 30 dakikalık fiber fotometri z-skor (dF/F) kaydının çizgi grafiği.



Şekil 4.13. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın çizgi grafiği.

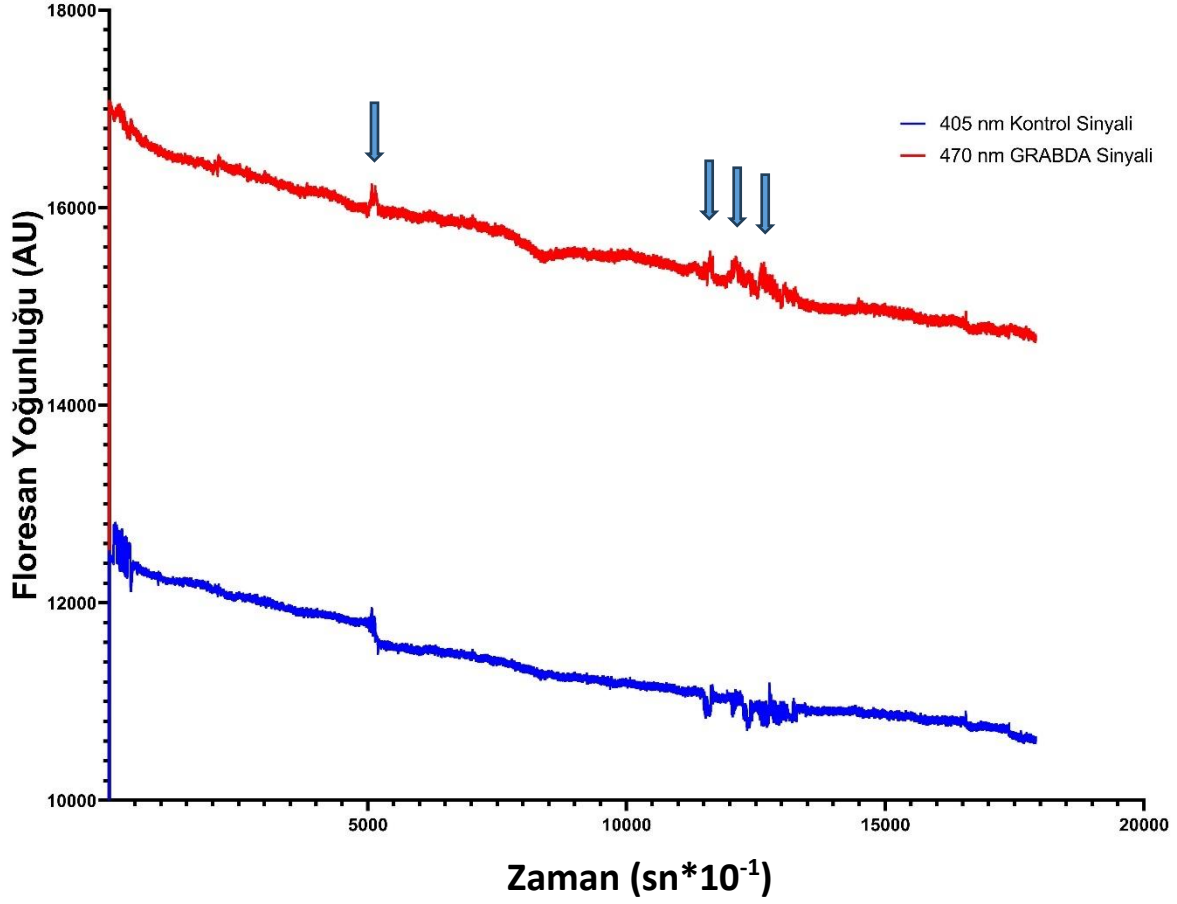


Şekil 4.14. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın ısı grafiği.



Şekil 4.15. Normal diyet (ND), Yüksek yağlı diyet (YYD), Apelin+normal diyet (A+ND) ve Apelin+yüksek yağlı diyet (A+YYD) gruplarında apelinin maksimum etki gösterdiği alanın AUC bar grafiği. * $p<0,05$ istatistiksel olarak gruplar arasındaki anlamlılığı ifade etmektedir.

Apelinin maksimal etki gösterdiği alanın AUC değerleri gruplar arası karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. DA'erjik aktiviteyi işaret eden AUC değerleri A+ND grubunda ND ($p<0,05$) ve A+YYD ($p<0,05$) gruplarına göre yüksekti.



Şekil 4.16. A+ND grubundan bir farenin (A), 405 nm kontrol sinyali; (B), 470 nm GRAB_{DA} kaynaklı sinyal verilerine örnek ham veri grafiği.

A+ND grubundan ham veri sinyal örneğinde, intraperitoneal enjekte edilen apelinin yaklaşık 20. dakika civarında belirgin etkisi gözlemlendi.

5.TARTIŞMA

Obez bireyler sıklıkla yüksek düzeyde anksiyete ve depresyondan yakınmaktadırlar (Esposito ve ark., 2014). Obezitenin neden olduğu kaygı davranışının mekanizmaları tam olarak anlaşılammıştır ve bu durum sadece vücut ağırlığındaki artışın bir sonucu değildir çünkü kilo kaybı tek başına her zaman ruh sağlığında bir iyileşmeye yol açmamaktadır (Canetti ve ark., 2016). Obezite ve obeziteye bağlı psikolojik bozuklukların etkili bir tedavisi bulunmamakla birlikte, tedavi stratejileri temel olarak yaşam tarzı değişikliği uygulamalarına yöneliktir (Montesi ve ark., 2016). Anksiyete ve depresyon gibi ruhsal bozukluklar, klinik hastalarda daha ciddi nörobilişsel morbiditelere yol açabilen potansiyel ve oldukça yaygın bir halk sağlığı sorunu olarak giderek daha fazla kabul görmektedir. Nöroinflamasyon anksiyete ve depresyondan muzdarip hastalarda gözlenen ana faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Hodes ve ark., 2015). Obeziteye bağlı inflamasyonun anksiyete ve depresyonun yanı sıra bilişsel bozulma ile de ilişkili olması da ilgi çekicidir. Obeziteye bağlı anksiyete ve depresif bozukluklardan sorumlu mekanizmalar büyük ölçüde belirsizliğini korurken, hipotalamusta ortaya çıkan inflamasyonun obezite ve metabolik hastalıkların patogeneğinde birincil bulgu olarak kabul edildiği bilinmektedir (Esposito ve ark., 2014). 28 gün boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen Wistar sıçanlarının plazma leptin seviyelerinin düşük yağlı diyetle beslenen kontrol sıçanlarına kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ainslie ve ark., 2000). 28 gün yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlığında, viseral yağ kütlesinde ve karaciğer trigliserit seviyesinde normal diyetle beslenenlere göre anlamlı artış saptanmıştır (Pratchayasakul ve ark., 2011). Bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere yüksek yağlı diyet uygulamasında temel etkileri görebilmek için 28 günlük süre yeterlidir. Çalışmamızda yüksek yağlı diyetle 28 gün beslenmenin ne gibi anksiyolitik etkilere sebep olabileceği araştırılmıştır. Yükseltilmiş artı labirent testinde YYD grubunun açık kolda geçirdiği zamanın ND grubuna göre azalma eğiliminde olduğu, fakat sonucun anlamlı olmadığı saptandı (Şekil 4.10.). Bu sonuç literatürle uyumlu olarak yüksek yağlı diyetle beslenmenin anksiyete parametrelerini anksiyete lehine artırabileceğine işaret edebilir.

Depresif hastalarda HPA ekseninde düzensizlik bildirilmiştir (Gillespie ve Nemeroff, 2005). Stres reaktivitesinin kalıcı olarak artması, bazı depresif hastalarda HPA eksenini aktivitesini yükseltmiştir (Shelton, 2007). Çok sayıda nöropeptidin stresten etkilendiği veya çeşitli hayvan modellerinde stres tepkisine dahil olduğu gösterilmiştir (Kormos ve Gaszner, 2013). Küçük bir biyoaktif peptit olan apelin, inflamasyonu azaltarak nöroprotektif ve

anksiyolitik etkiler göstermektedir (Newson ve ark., 2013). APJ mRNA'sı amigdala, hipotalamus, Ammon boynuzu ve dentat girusta saptanmıştır (Lee ve ark., 2000; Reaux ve ark., 2001), bu da apelin/APJ sisteminin duygusal davranışta potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Newson ve arkadaşları APJ'nin bazı akut stres faktörlerine yanıt olarak HPA ekseninin düzenlenmesinde rolü olduğunu belirtmiştir (Newson ve ark., 2013). Kronik apelin-13 infüzyonu, HPA eksenini ve hipokampal glukokortikoid reseptör işlev bozukluklarını iyileştirerek kronik stres kaynaklı depresyon benzeri fenotiplere karşı beyin kaynaklı nörotrofik faktörü yukarı doğru regüle etmiştir (Dai ve ark., 2018). Tekrarlanan apelin-13 enjeksiyonu sıçan zorunlu yüzme testinde antidepresan etki oluşturmuş ve PI3K ve ERK sinyal yolları bu sürece dahil olmuştur (Li ve ark., 2016). Xiao ve arkadaşları, apelin-13'ün (1-4 µg/rat) hipokampus içi uygulamasının sıçan zorunlu yüzme testinde antidepresan bir etki oluşturduğunu saptamışlardır (Xiao ve ark., 2018). Apelin-13'ün sıçanlarda sosyal izolasyon kaynaklı anksiyete benzeri davranış test parametrelerini iyileştirdiği gösterilmiştir (Sak, 2019).

Apelinin antidepresan etkilerinin yanı sıra anksiyete ve depresyonu artıran bir molekül olduğu da çalışmalarda ileri sürülmüştür. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda depresyon ve anksiyetesi olan periton diyalizi hastalarının serum apelinini, depresyon ve anksiyetesi olmayanlara göre önemli ölçüde yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Gok Oguz ve ark., 2016). Yaşlı hastalarda depresif semptom şiddetinin, plazma apelin düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Plazma apelin düzeyleri ne kadar yüksekse, depresyonun şiddeti de o kadar artmaktadır (Bullich ve ark., 2022). Lv ve arkadaşları apelin-13'ün hem zorunlu yüzme hem de kuyruktan asma testlerinde hareketsizlik süresini uzattığını ve bunun da merkezi apelin-13'ün depresyonu desteklediğine işaret ettiğini bildirmişlerdir (Lv ve ark., 2012). Bu gözlemler uyumlu olarak, 12 aylık Ap-/- farelerin antidepresan benzeri bir fenotip sergilediğini ve apelinin, pro-depresif etkilere aracılık etme olasılığını artırdığı bildirilmiştir (Bullich ve ark., 2022). Apelinin, HPA eksenini ve anksiyete üzerine etkileri göz önüne alındığında, çalışmamızda apelinin anksiyete testleri üzerine etkisi de araştırılmıştır. Testlerin sonucunda yükseltilmiş artı labirent testi merkezde geçirilen zaman %'si parametresinde A+ND grubunda yükselme eğiliminde olurken açık alan testinde ise durumun tam tersi olduğu, özetle bu dozdaki apelinin anksiyete davranış parametrelerine anlamlı bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Apelin enjeksiyonundan sonra vücut ısısında ve lokomotor aktivitesinde bir artış da gözlenmiştir (Jaszberenyi ve ark., 2004). Çalışmamızda ayrıca anksiyete deneylerinin bir parçası olan lokomotor aktivite de değerlendirildi ve açık alan testi sonuçlarına göre A+ND grubunda en yüksek ortalama hız ve toplam mesafenin kat edildiği belirlendi (Şekil 4.8. ve şekil 4.9.).

Sonuçlarımız anlamlı olmamasına karşın apelinin dozunun lokomotor aktiviteye etkisi için bir fikir verebilir. Anksiyete ve lokomotor parametrelerine ek olarak çalışmamızda sosyallik testi uygulandı. Sosyallik parametrelerinden olan sosyal indeks skoru ve sosyallik tercih skorunun en düşük A+ND grubunda olduğu tespit edildi (Şekil 4.13. ve şekil 4.14.). Özetle, bu dozdaki apelinin anksiyete, lokomotor aktivite ve sosyallik parametrelerine anlamlı bir etkisi olmadığı saptandı. Sonuçlarımız, literatürdeki çelişkinin aydınlatılmasına yönelik fikir verebilir.

Akut santral apelin uygulamasının gıda alımı ve enerji harcanması üzerine etkileri çoğunlukla sıçanlarda çalışılmıştır ve sonuçlar anksiyete test davranış parametre sonuçlarında olduğu gibi çelişkilidir. Apelin i.c.v. uygulamasının, tok ve aç sıçanlarda (Sunter ve ark., 2003) ve apelinin gece uygulanması sırasında gıda alımını azalttığı, gündüz ise apelinin, beslenmeyi uyardığı gösterilmiştir (O'Shea ve ark., 2003). Ayrıca apelinin, sıçanlarda 24 saatlik gıda alımı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı da bildirilmiştir (Taheri ve ark., 2002). Daha sonrasında, Clark ve arkadaşları i.c.v. apelin enjeksiyonunun kontrol sıçanlarında gıda-su alımını ve solunum değişim oranını azalttığını, ancak yüksek yağla beslenen sıçanlarda hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir (Clarke ve ark., 2009). Farelerle ilgili çalışmada üçüncü ventriküle kronik 10 günlük apelin-13 infüzyonundan sonra gıda alımının yanı sıra aynı etkiler bildirilmiştir. Apelin tedavisi gıda alımını (3 ile 7. günde), özellikle beslenmenin gerçekleştiği gece döneminde lokomotor aktiviteyi ve sadece aktivite döneminde vücut sıcaklığını artırmıştır. Dahası, bu farelerde adipozite de artmıştır (Valle ve ark., 2008). Kronik apelin tedavisi yağlanmayı azaltmış ve yüksek yağlı diyet ile beslenen ve apelinini aşırı eksprese eden farelerde (apelin-transgenik (apelin-Tg) fareler) benzer sonuçlar elde edilmiştir. Apelin-Tg fareler diyet kaynaklı obeziteye karşı direnç göstermiş, gıda alımında değişiklik olmaksızın oksijen tüketimini ve vücut sıcaklığını artırmıştır (Yamamoto ve ark., 2011). Apelinin besin alımı üzerindeki çelişkili etkisi mersin balıkları gibi farklı hayvanlar üzerinde de sorgulanmıştır. Mersin balıkları ile yapılan çalışmada akut sistemik apelin-13 enjeksiyonunun gıda alımını azalttığını, ancak kronik apelin-13 enjeksiyonunun mersin balıklarında 7 gün boyunca gıda alımını artırdığı gösterilmiştir. Sonuçlar, apelinin mersin balıklarında kısa vadeli beslenme düzenlemesinde bir tokluk faktörü ve uzun vadeli beslenme düzenlemesinde bir açlık faktörü olarak hareket ederek beslenme düzenlemesi üzerinde çift yönlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Hao ve ark., 2017). Çalışmamızda gruplar arasında yem tüketimi açısından anlamlı bir fark yoktu (Şekil 4.2.). Besin alımında önemli bir parametre olan vücut ağırlıkları göz önüne alındığında ise A+ND grubunun 28. gün vücut ağırlığı tüm gruplara göre en düşük düzeydeydi (Şekil 4.1.). Özellikle A+ND grubu vücut ağırlığı değişiminin baskılanmasının

sebebi Clark ve arkadaşlarının bahsettiği gibi (Clarke ve ark., 2009), apelinin metabolizmaya etkisi ve lipolizi artırması olabilir. 28. gün YYD grubu vücut ağırlığı en yüksek gruptu ve A+YYD grubu ile karşılaştırıldığında yükselme eğilimindeydi. Tüketilen yem açısından bir fark yoktu (Şekil 4.2.). Elde ettiğimiz bu sonuç apelin-Tg farelerin, diyet kaynaklı obeziteye karşı direnç göstermesi ve buna karşılık günlük gıda alımında değişiklik olmaması (Yamamoto ve ark., 2011) sonucuyla paraleldi.

Düşük konsantrasyonda (200 pmol/kg) intravenöz apelin uygulamasının farelerde kan glukoz seviyesini azalttığı ve glukoz toleransını iyileştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, hiperinsülinemik-öglisemik klempe sırasında, hepatik glukoz üretimi tamamen inhibe edildiğinde, apelin, esas olarak iskelet kasları ve yağ dokuları tarafından glukoz alımındaki artış nedeniyle tüm organizma boyunca glukoz kullanımını artırdığı ve izole iskelet kasında (soleus), apelin glukoz taşınmasını uyardığı, etkisinin insülinin etkisine katkıda bulunduğu saptanmıştır (Dray ve ark., 2008). Apelinin glukoz homeostazındaki rolü, hiperinsülinemik ve insüline dirençli apelin *null* farelerin fenotipi ile de doğrulanmıştır. Apelin -/- farelerdeki insülin duyarlılığı kaybı, yüksek yağlı/yüksek sükrözlu diyetle daha da kötüleşmiştir (Yue ve ark., 2010). Akut düşük doz santral apelin enjeksiyonu glisemiye azaltmış, NO sinyal yolu aracılığıyla farelerde glukoz ve insülin toleransını artırmıştır. Beyin içi uygulanan apelinin glukoz homeostazı üzerindeki tüm bu faydalı etkileri yüksek yağlı diyetle beslenen obez/diyabetik farelerde gözlenmemiştir. Bunun tam tersi olarak, akut yüksek doz i.c.v. apelin enjeksiyonu açlık hiperglisemi/hiperinsülinemiye neden olmuş ve normal farelerde insülin duyarlılığını azaltmıştır. Ayrıca, yüksek yağlı diyet farelerinde akut yüksek doz i.c.v. apelin enjeksiyonu açlık hiperglisemisini artırmıştır (Duparc ve ark., 2011). Dahası, apelin sadece yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda merkezi APJ reseptörünün aşağı regülasyonunu indüklemiştir, bu da apeline karşı azalmış bir merkezi yanıtın obeziteye neden olabileceğini düşündürmektedir (Clarke ve ark., 2009). Ölçtüğümüz tokluk kan glukoz değerleri YYD grubunda, A+YYD grubuna göre yükselme eğilimindeydi. A+ND grubunda glukoz seviyesi en düşüktü. Bu sonucumuz, özellikle Duparc ve arkadaşlarının çalışma sonucu olan düşük doz akut apelinin glisemiye azaltması ile paraleldi. Dahası, apelinin yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda merkezi APJ reseptörünün aşağı regülasyon gösterdiği (Clarke ve ark., 2009) göz önüne alındığında A+ND'de vücut ağırlık değişimi baskılanmışken, A+YYD grubu vücut ağırlığının değişimi ve glukoz seviyesinin YYD grubuna yakın olması (Şekil 4.4.) bu görüşü desteklemektedir.

D1 ve D2 agonistleri/antagonistleri kullanılarak yapılan ilk farmakolojik çalışmalar, hipotalamik DA reseptör aktivitesinin beslenme davranışını düzenleyebileceğini göstermiştir, ancak bu çalışmalar, hücre tipi veya yolak spesifik fonksiyon konusunda davranışsal bir yanıt sağlama konusunda daha fazla hassasiyet sağlama açısından sınırlamalara sahiptir. D1 ve D2'nin, sıçan ve farelerin ARC'sinde POMC nöronları üzerinde bulunduğu ve leptin reseptörleri ile birlikte yer aldıkları saptanmıştır. Bu bilgi de hipotalamustaki DA sinyallerinin leptin reseptör aracılı ağda yer alabileceği olasılığını artırmaktadır (Romanova ve ark., 2018). Ghrelin ve leptin iştahı, gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen anahtar hormonlardır (Espinoza García ve ark., 2021). Ayrıca, fare ARC DA nöronlarının optogenetik yöntemle uyarılması gıda alımını artırmış, bu nöronlar susturulduğunda ise uzun vadeli vücut ağırlığı azalması meydana gelmiştir (Zhang ve van den Pol, 2016). Bu nöronların optogenetik uyarılması, muhtemelen D2 aracılığıyla ve DA'nın NPY/AgRP nöronlarını uyarmasıyla POMC nöronlarını inhibe etmiştir. Gıda yoksunluğu da c-Fos ekspresyonunu ve arkuat DA nöronlarının aktivitesini artırması, hipotalamik DA nöronlarının enerji durumu ile ilgili sinyalleri algılayarak ve hipotalamik beslenme devrelerindeki diğer nöronların aktivitesini doğrudan modüle ederek hipotalamik enerji homeostazının kontrolüne doğrudan katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Zhang ve van den Pol, 2016). Bu bulgular, hipotalamustaki DA nöronlarının enerji homeostazını düzenlemek için NPY/AgRP ve POMC nöronları gibi diğer nöronlarla etkileşime girerek veya bağımsız olarak gıda alımını kontrol edebileceğini önermektedir (Baik, 2021). Transgenik hayvan modelinde yapılan çalışmaya göre PVNTH nöronlarının kemogenetik inhibisyonu her iki cinsiyette de kan glukoz seviyesini yükseltmesine rağmen, etki dişilerde (~4 mg/dL) erkek farelere göre (~17 mg/dL) çok daha küçüktü. Bu bulgularla birlikte, PVNTH nöronlarının erkek farelerde glukoz homeostazının kontrolünde daha belirgin bir rolü olduğu gösterilmektedir (Pan ve ark., 2024). Hipotalamik ARC'nin DA nöronlarının veziküler GABA taşıyıcı ile birlikte lokalize olduğu ve GABA salgıladığı bildirilmiştir; bu hücreler hipotalamik PVN'e projeksiyon yapar ve diğer nöronlarla iletişim kurar, bu da onların sinaps yaptığı nöronların uyarılabilirliğini düzenleyebileceği olasılığını düşündürmektedir (Negishi ve ark., 2020; Zhang ve Van Den Pol, 2015, 2016). Bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere ARC'deki DA'ejik nöronların beslenme davranışı üzerindeki etkisi, PVN'ye olan projeksiyonları ve dopaminerjik nöronların PVN bölgesinde yüksek ifade edilmesi hatta ve hatta PVNTH nöronlarının kan glukoz düzeyi modülasyonundaki önemi; bize, PVN'deki DA'ejik nöronların ve DA'ejik aktivitenin besin alımı ile ilgili süreçlerde rol oynayabileceğini ve bu konunun araştırılması gerektiğini düşündürmüştür.

Obezite, DA iletimindeki belirgin değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Volkow ve ark., 2017). Bazı incelemeler, obezitede ödöl fonksiyonunun önemli bir rol oynadığını öne sürmüş ve bu durum hem hayvanlarda hem de insanlarda striatal DA değişikliklerine dair bol miktarda kanıtla uyumlu bulunmuştur. Diğerleri ise PFC tarafından ağırlıklı olarak aracılık edilen bir yetersizliği savunmuşlardır (Lowe ve ark., 2019). Her iki bakış açısı da aynı değişikliklerin farklı açılardan yansımalarını gösterebilir çünkü frontal ve striatal bölgeler arasında yoğun anatomik bağlantılar bulunmaktadır (Janssen ve ark., 2019). Bu alanda yapılan önemli bir çalışmada, genetik olarak obez olan ob/ob farelerinin günlük olarak D1/D2 agonistleri ile 2 hafta boyunca tedavi edilmesinin vücut ağırlığını, hiperlipidemi ve hiperglisemiye obez olmayan farelerde gözlemlenen seviyelerde olduğu gibi normalleştirdiği ve ayrıca hiperfajiyi azalttığı bildirilmiştir. DA D1/D2 agonistleri ile tedavi, obez farelerin hipotalamusunda gıda alımını teşvik eden NPY ve kortikotropin salgılayan hormon seviyelerini de önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, DA'erjik D1/D2 koaktivasyonunun, ob/ob farelerinde obezite fenotipini kısmen NPY ve CRH seviyelerini modüle ederek iyileştirebileceğini düşündürmektedir. DA reseptörleri D2, D4 ve DA taşıyıcı dahil olmak üzere DA devresinin azalmış sinyali ile ilişkili görünen genotipler obezite ile ilişkilidir (Stice ve Dagher, 2010). Bu bilgileri göz önüne alındığında özellikle normal diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenmenin PVN bölgesindeki DA reseptör aktivitesi üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır. Çalışmamızda YYD grubundaki PVN DA'erjik aktivitesi normal diyetle beslenen ND grubuna göre düşük olma eğilimindeydi (Şekil 4.4.). Yüksek yağlı diyet ile beslenme ile DA reseptörlerinin azalmış sinyal etkisi Stice ve Dagher'ın (Stice ve Dagher, 2010) söylemlerini desteklemektedir. Bu sonuç, PVN DA'erjik aktivitenin, yüksek yağlı diyetle beslenme ve obezite durumundaki önemini ve mevcut mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik araştırmaların önemini artırabilir.

Günümüzde, özellikle Parkinson hastalığının (PH) en temel mekanizmalarından olan SN'deki DA'erjik nöronal kaybın apelin tarafından engellendiği ve azaltıldığı birçok çalışmada belirtilmiştir. Apelin-13'ün beyin içi enjeksiyonu, rotenonla oluşturulan PH'de striatumdaki DA'erjik nöron kaybını ve SN'deki tirozin hidroksilaz seviyelerini düzenleyebilir (Chen ve ark., 2020). PH tedavisinde kullanılan *1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine*'in, apelin-13'ün intranigral enjeksiyonu ile uygulanmasının farelerin SNpc'sindeki DA'erjik nöron kaybını engelleyebildiği bildirilmiştir (Zhu, Dou, Jiang, ve ark., 2019). Diğer bir çalışmada ise Apelin-36'nın DA'erjik nöronlarda GRP78, CHOP ve parçalanmış kaspaz-12 birikimini azalttığını gösterilmiştir (Zhu, Dou, Wang, ve ark., 2019). Bu çalışmaların yanında apelinin

PVN'de oksidatif stresi artırarak, DA'erjik nöronların da mekanizmasına katıldığı, uzun süreli yüksek kan basıncını ve sempatik aktiviteyi indüklediği de gösterilmiştir (Ji ve ark., 2019).

İmmünofloresan boyama, SNpc'nin DA'erjik nöronlarında apelin ve TH'nin lokalizasyonunu ortaya çıkarmıştır. Nigral DA'erjik nöronlar ayrıca apelin reseptörlerini de eksprese ederek apelinin DA'erjik nöronların fonksiyonlarını otokrin veya parakrin bir şekilde modüle edebileceğini düşündürmektedir (Zhu, Dou, Jiang, ve ark., 2019). Yüksek yağlı diyet ile beslenen 6 aylık farelerde apelinin genetik inaktivasyonu, VTA'daki DA'erjik nöron aktivitelerini azaltır. DA nöronlarının elektrofizyolojik ateşleme frekans analizi yüksek yağlı diyet ile beslenen genç $Ap^{-/-}$ farelerde daha düşük, yüksek yağlı diyet ile beslenen $Ap^{+/+}$ farelerde ise daha yüksek olduğunu göstermiştir. Gerçekten de, bu farelerde, apelinin genetik olarak etkisizleştirilmesi, obezogenik bir ortamla birleştiğinde, daha yüksek bir insülin direnci, daha şiddetli bir anksiyete ve vahşi tiplere göre VTA DA nöronal aktivitelerinde bir azalma ile ilişkilidir (Bullich ve ark., 2022). PVN üzerine yaptığımız çalışmamızda YYD grubuna göre A+YYD grubundaki DA'erjik aktivitenin yükselme eğiliminde olması bu çalışma ile bölge farklılığı dikkate alınarak benzerlik göstermektedir. Apelinin DA'erjik aktiviteye olan etkisi ile ilgili farklı çalışmalarda zıt sonuçlar da mevcuttur. Apelin tarafından uyarılan HPA aktivasyonu haloperidol tarafından inhibe edilmemiştir, bu da apelinin HPA sistemi üzerindeki etkilerinin DA'erjik iletimi içermediği görüşünü de ortaya koymaktadır (Jászberényi ve ark., 2004). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada, endojen olarak salınan apelinin SNpc DA nöronlarının ateşleme hızını artırdığını, eksojen apelin-13'ün ise nöronların çoğunda ateşleme hızını artırdığını ve nöronların azınlığında ateşleme hızını azalttığını gösterilmiştir. Bu çalışma bu tezatlığı SNpc'deki DA'erjik nöronların heterojenliği ve olası farklı iyonik mekanizmaların tutarsızlığıyla bağdaştırmıştır (Chen ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda da fiber fotometri yöntemi ile PVN bölgesinden ölçülen DA'erjik aktivitenin A+ND grubunda ND grubuna göre özellikle 20 dakika civarında maksimum seviyede gözlemlenmesi apelinin PVN bölgesi DA'erjik aktivite üzerindeki uyarıcı etkisini göstermektedir. Onkosin ailesinden olan apelin gibi peptit yapılı Onc112'nin intraperitoneal enjeksiyonundan sonra yaklaşık 20. dakikada beyin homojenatlarında maksimum konsantrasyona ulaştığı tespit edilmiştir (Schmidt ve ark., 2016). Apelinin, PVN DA'erjik aktivitedeki en belirgin etkisini 19-21. dakikalarda görmemiz Schmidt ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma sonuçları ile örtüşmektedir (Şekil 4.16.). Aynı zamanda DA'erjik aktivitenin en az olduğu YYD grubundaki vücut ağırlığının ve glukoz seviyesinin A+YYD'ye göre yüksek olması eğilimine, PVN DA'erjik aktivitenin bu grupta düşük olması katkı sağlamış olabilir. Bu görüşümüz doğuştan obez farelerde, DA agonistlerinin

hiperfaji ve vücut ağırlığı artışını normalleştirdiği sonucuna ulaşıldığı (Bina ve Cincotta, 2000) çalışmayla paraleldi. 28. gün ağırlık ortalaması ve günlük tüketilen yem miktarı ortalaması parametreleri açısından YYD ve A+YYD grupları arasındaki fark azdı (Şekil 4.1 ve 4.2.). Pan ve arkadaşlarının yaptığı (Pan ve ark., 2024), çalışmaya göre PVNTH nöronlarının inhibisyonu glukoz seviyesini yükseltmiştir. Çalışmamızda da PVN DA'erjik aktivitenin en az olduğu YYD grubundaki glukoz seviyesi ve kilo artışı en üst düzeydeyken, PVN DA'erjik aktivitenin en çok olduğu A+ND grubundaki glukoz seviyesi ve kilo artışı en alt düzeydeydi (Şekil 4.6.). Bu etki, PVNTH nöronlarından ya da PVN bölgesine gelen DA'erjik projeksiyon değişiminden (özellikle ARC'den) kaynaklanabilir. Sonuçlarımızın sadece PVN'deki nöronların DA'erjik aktivitesinden kaynaklanmadığı, bu bölgeye gelen DA'erjik projeksiyonlarında bu sonuçlara katkı sağladığı göz ardı edilmemelidir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Çalışma sonuçlarımızı özetleyecek olursak;

- 1- Uzun süreli apelin uygulanması günlük yem tüketim miktarını etkilememişken vücut ağırlığını önemli düzeyde baskılamaktadır,
- 2- Apelin normal diyetle beslenen farelerde PVN DA'ejik aktiviteyi artırırken, yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanlarda etki göstermemektedir.

6.2. Öneriler

Yüksek yağlı diyet ile beslenme durumunda, apelin ve DA'ejik aktivitenin besin alımı süreçlerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için PVN bölgesine özgü spesifik nöronal gruplar ve bu bölgeye DA'ejik projeksiyon yapan diğer spesifik bölgeler ve nöronları ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., ve ark. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128· 9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627-2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
- Adams, W. K., Sussman, J. L., Kaur, S., D'souza, A. M., Kieffer, T. J., ve ark. (2015). Long-term, calorie-restricted intake of a high-fat diet in rats reduces impulse control and ventral striatal D2 receptor signalling—two markers of addiction vulnerability. *European Journal of Neuroscience*, 42(12), 3095-3104.
- Agar, E. (2021). *İnsan Fizyolojisi* (E. Agar, Ed.). İstanbul Tıp Kitapevi.
- Ainslie, D. A., Proietto, J., Fam, B. C., & Thorburn, A. W. (2000). Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *The American journal of clinical nutrition*, 71(2), 438-442.
- Aponte, Y., Atasoy, D., & Sternson, S. M. (2011). AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nature neuroscience*, 14(3), 351-355.
- Arreola, R., Alvarez-Herrera, S., Pérez-Sánchez, G., Becerril-Villanueva, E., Cruz-Fuentes, C., ve ark. (2016). Immunomodulatory effects mediated by dopamine. *Journal of immunology research*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3160486>.
- Ataey, A., Jafarvand, E., Adham, D., & Moradi-Asl, E. (2020). The relationship between obesity, overweight, and the human development index in world health organization eastern mediterranean region countries. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 53(2), 98. <https://doi.org/10.3961/jpmph.19.100>
- Attané, C., Foussal, C., Le Gonidec, S., Benani, A., Daviaud, D., ve ark. (2012). Apelin treatment increases complete Fatty Acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice. *Diabetes*, 61(2), 310-320. <https://doi.org/10.2337/db11-0100>
- Baik, J.-H. (2021). Dopaminergic control of the feeding circuit. *Endocrinology and Metabolism*, 36(2), 229-239. <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.979>
- Bailey, P., & Bremer, f. (1921). Experimental Diabetes Insipidus and Genital Atrophy. *Endocrinology*, 5(6), 761-762.
- Balthasar, N., Dalgaard, L. T., Lee, C. E., Yu, J., Funahashi, H., ve ark. (2005). Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell*, 123(3), 493-505. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.035>.
- Beaulieu, J.-M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews*, 63(1), 182-217.
- Beaulieu, J. M., Espinoza, S., & Gainetdinov, R. R. (2015). Dopamine receptors—IUPHAR R eview 13. *British journal of pharmacology*, 172(1), 1-23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/bph.12906>
- Bell, M. E., Bhatnagar, S., Akana, S. F., Choi, S., & Dallman, M. F. (2000). Disruption of arcuate/paraventricular nucleus connections changes body energy balance and response to acute stress. *J Neurosci*, 20(17), 6707-6713. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-17-06707.2000>
- Berrington de Gonzalez, A., Hartge, P., Cerhan, J. R., Flint, A. J., Hannan, L., ve ark. (2010). Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *New England Journal of Medicine*, 363(23), 2211-2219. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1000367>
- Bina, K. G., & Cincotta, A. H. (2000). Dopaminergic agonists normalize elevated hypothalamic neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone, body weight gain, and hyperglycemia in ob/ob mice. *Neuroendocrinology*, 71(1), 68-78. <https://doi.org/10.1159/000054522>
- Björklund, A., & Hökfelt, T. (2003). *Handbook of Chemical Neuroanatomy* (Vol. 20). Elsevier.
- Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*, 15(5), 288-298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Boucher, J. r. m., Masri, B., Daviaud, D. l., Gesta, S. p., Guigné, C., ve ark. (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-1771.
- Bray, G. A., Kim, K.-K., Wilding, J. P., & Federation, W. O. (2017). Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity reviews*, 18(7), 715-723. <https://doi.org/10.1111/obr.12551>
- Bromberg-Martin, E. S., Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2010). Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, 68(5), 815-834. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.022>
- Bullich, S., de Souto Barreto, P., Dortignac, A., He, L., Dray, C., ve ark. (2022). Apelin controls emotional behavior in age-and metabolic state-dependent manner. *Psychoneuroendocrinology*, 140, 105711. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105711>
- Burbach, J. P. H., Luckman, S. M., Murphy, D., & Gainer, H. (2001). Gene regulation in the magnocellular hypothalamo-neurohypophysial system. *Physiological reviews*, 81(3), 1197-1267.

- Canetti, L., Bachar, E., & Bonne, O. (2016). Deterioration of mental health in bariatric surgery after 10 years despite successful weight loss. *European journal of clinical nutrition*, 70(1), 17-22. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2015.112>
- Carlsson, A. (1959). The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological reviews*, 11(2), 490-493.
- Carlsson, A. (2003). A Half-Century of Neurotransmitter Research: Impact on Neurology and Psychiatry. *Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1996-2000*, 303-322. <https://doi.org/10.1023/a:1015556204669>.
- Cavallo, M. G., Sentinelli, F., Barchetta, I., Costantino, C., Incani, M., ve ark. (2012). Altered glucose homeostasis is associated with increased serum apelin levels in type 2 diabetes mellitus. *PloS one*, 7(12), e51236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051236>
- Chapman, N. A., Dupré, D. J., & Rainey, J. K. (2014). The apelin receptor: physiology, pathology, cell signalling, and ligand modulation of a peptide-activated class A GPCR. *Biochemistry and cell biology*, 92(6), 431-440. <https://doi.org/10.1139/bcb-2014-0072>
- Chen, H., Zheng, C., Zhang, X., Li, J., Li, J., ve ark. (2011). Apelin alleviates diabetes-associated endoplasmic reticulum stress in the pancreas of Akita mice. *Peptides*, 32(8), 1634-1639. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.06.025>
- Chen, L., Liu, C., Xue, Y., & Chen, X.-Y. (2023). Several neuropeptides involved in parkinsonian neuroprotection modulate the firing properties of nigral dopaminergic neurons. *Neuropeptides*, 99, 102337. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.npep.2023.102337>
- Chen, P., Wang, Y., Chen, L., Song, N., & Xie, J. (2020). Apelin-13 protects dopaminergic neurons against rotenone—induced neurotoxicity through the AMPK/mTOR/ULK-1 mediated autophagy activation. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8376. <https://doi.org/10.3390/ijms21218376>
- Chen, Z., Wu, D., Li, L., & Chen, L. (2016). Apelin/APJ system: a novel therapeutic target for myocardial ischemia/reperfusion injury. *DNA and Cell Biology*, 35(12), 766-775.
- Chio, C. L., Lajiness, M. E., & Huff, R. M. (1994). Activation of heterologously expressed D3 dopamine receptors: comparison with D2 dopamine receptors. *Molecular pharmacology*, 45(1), 51-60.
- Chocyk, A., Czyrak, A., & Wedzony, K. (2008). Dopamine d1-like receptors agonist skf 38393 increases. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59(3), 425-440.
- Choe, W., Albright, A., Sulcove, J., Jaffer, S., Hesselgesser, J., ve ark. (2000). Functional expression of the seventransmembrane. *J Neurovirol*, 6(1), 61-69.
- Chooi, Y. C., Ding, C., & Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism*, 92, 6-10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005>
- Christenson, J. G., Dairman, W., & Udenfriend, S. (1970). Preparation and properties of a homogeneous aromatic L-amino acid decarboxylase from hog kidney. *Archives of biochemistry and biophysics*, 141(1), 356-367.
- Clarke, K., Whitaker, K., & Reyes, T. (2009). Diminished metabolic responses to centrally-administered apelin-13 in diet-induced obese rats fed a high-fat diet. *Journal of neuroendocrinology*, 21(2), 83-89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01815.x>
- Collaboration, P. S. (2009). Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *The Lancet*, 373(9669), 1083-1096. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60318-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60318-4)
- Cosentino, M., Fietta, A. M., Ferrari, M., Rasini, E., Bombelli, R., ve ark. (2007). Human CD4+ CD25+ regulatory T cells selectively express tyrosine hydroxylase and contain endogenous catecholamines subserving an autocrine/paracrine inhibitory functional loop. *Blood*, 109(2), 632-642. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-01-028423>
- Cowley, M. A., Pronchuk, N., Fan, W., Dinulescu, D. M., Colmers, W. F., ve ark. (1999). Integration of NPY, AGRP, and melanocortin signals in the hypothalamic paraventricular nucleus: evidence of a cellular basis for the adipostat. *Neuron*, 24(1), 155-163. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80829-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80829-6)
- Cowley, M. A., Smith, R. G., Diano, S., Tschöp, M., Pronchuk, N., ve ark. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 37(4), 649-661.
- Dai, T.-T., Wang, B., Xiao, Z.-Y., You, Y., & Tian, S.-W. (2018). Apelin-13 upregulates BDNF against chronic stress-induced depression-like phenotypes by ameliorating HPA axis and hippocampal glucocorticoid receptor dysfunctions. *Neuroscience*, 390, 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.08.018>
- De Falco, M., De Luca, L., Onori, N., Cavallotti, I., Artigiano, F., ve ark. (2002). Apelin expression in normal human tissues. *IN VIVO-ATHENS*, 16(5), 333-336.
- De Hert, E., Bracke, A., Pintelon, I., Janssens, E., Lambeir, A.-M., ve ark. (2021). Prolyl carboxypeptidase mediates the C-terminal cleavage of (Pyr)-apelin-13 in human umbilical vein and aortic endothelial cells. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 6698.

- Devic, E., Paquereau, L., Vernier, P., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (1996). Expression of a new G protein-coupled receptor X-msr is associated with an endothelial lineage in *Xenopus laevis*. *Mechanisms of development*, 59(2), 129-140.
- Donovan, M., & Tecott, L. (2013). Serotonin and the regulation of mammalian energy balance. *Front Neurosci* 7: 1–15. In.
- Dray, C., Debard, C., Jager, J., Disse, E., Daviaud, D., ve ark. (2010). Apelin and APJ regulation in adipose tissue and skeletal muscle of type 2 diabetic mice and humans. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 298(6), E1161-E1169.
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., ve ark. (2008). Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell metabolism*, 8(5), 437-445.
- Drougard, A., Duparc, T., Brenachot, X., Carneiro, L., Gouazé, A., ve ark. (2014). Hypothalamic apelin/reactive oxygen species signaling controls hepatic glucose metabolism in the onset of diabetes. *Antioxidants & redox signaling*, 20(4), 557-573.
- Dubern, B. (2019). Genetics and epigenetics of obesity: keys to understand. *La Revue du Praticien*, 69(9), 1016-1019.
- Duffey, K. J., Gordon-Larsen, P., Jacobs Jr, D. R., Williams, O. D., & Popkin, B. M. (2007). Differential associations of fast food and restaurant food consumption with 3-y change in body mass index: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *The American journal of clinical nutrition*, 85(1), 201-208. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.1.201>
- Duparc, T., Colom, A., Cani, P. D., Massaly, N., Rastrelli, S., ve ark. (2011). Central apelin controls glucose homeostasis via a nitric oxide-dependent pathway in mice. *Antioxidants & redox signaling*, 15(6), 1477-1496. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3454>
- Eiden, L. E., & Weihe, E. (2011). VMAT2: a dynamic regulator of brain monoaminergic neuronal function interacting with drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1216(1), 86-98. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05906.x>
- El Dayem, S. M., Battah, A. A., El Bohy, A. E. M., Yousef, R. N., Ahmed, A. M., ve ark. (2017). Apelin, nitric oxide and vascular affection in adolescent type 1 diabetic patients. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5(7), 934-939. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.204>
- Esmaili-Mahani, S., Haghparast, E., Nezhadi, A., Abbasnejad, M., & Sheibani, V. (2021). Apelin-13 prevents hippocampal synaptic plasticity impairment in Parkinsonism rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 111, 101884.
- Espinoza García, A. S., Martínez Moreno, A. G., & Reyes Castillo, Z. (2021). The role of ghrelin and leptin in feeding behavior: Genetic and molecular evidence. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)*, 68(9), 654-663. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.endien.2020.10.009>
- Esposito, M., Gallai, B., Roccella, M., Marotta, R., Lavano, F., ve ark. (2014). Anxiety and depression levels in prepubertal obese children: a case-control study. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 1897-1902. <https://doi.org/10.2147/NDT.S69795>
- Farino, Z. J., Morgenstern, T. J., Maffei, A., Quick, M., De Solis, A. J., ve ark. (2020). New roles for dopamine D2 and D3 receptors in pancreatic beta cell insulin secretion. *Molecular psychiatry*, 25(9), 2070-2085. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0344-6>
- Fetissov, S., Meguid, M., Chen, C., & Miyata, G. (2000). Synchronized release of dopamine and serotonin in the medial and lateral hypothalamus of rats. *Neuroscience*, 101(3), 657-663.
- Fontaine, K. R., Redden, D. T., Wang, C., Westfall, A. O., & Allison, D. B. (2003). Years of life lost due to obesity. *Jama*, 289(2), 187-193. <https://doi.org/10.1001/jama.289.2.187>
- Füzesi, T. s., Wittmann, G. b., Liposits, Z., Lechan, R. M., & Fekete, C. (2007). Contribution of noradrenergic and adrenergic cell groups of the brainstem and agouti-related protein-synthesizing neurons of the arcuate nucleus to neuropeptide-y innervation of corticotropin-releasing hormone neurons in hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Endocrinology*, 148(11), 5442-5450.
- Ganesana, M., Lee, S. T., Wang, Y., & Venton, B. J. (2017). Analytical Techniques in Neuroscience: Recent Advances in Imaging, Separation, and Electrochemical Methods. *Anal Chem*, 89(1), 314-341. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04278>
- Gao, Z., Zhong, X., Tan, Y.-X., & Liu, D. (2021). Apelin-13 alleviates diabetic nephropathy by enhancing nitric oxide production and suppressing kidney tissue fibrosis. *International Journal of Molecular Medicine*, 48(3), 1-9. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.5008>
- Gillespie, C. F., & Nemeroff, C. B. (2005). Hypercortisolemia and depression. *Psychosomatic medicine*, 67, S26-S28. <https://doi.org/10.1097/01.psy.0000163456.22154.d2>
- Gok Oguz, E., Akoglu, H., Ulusal Okyay, G., Yayar, O., Karaveli Gursoy, G., ve ark. (2016). Serum apelin is associated with affective disorders in peritoneal dialysis patients. *Renal Failure*, 38(7), 1059-1066. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2016.1193873>

- Goldfield, G. S., Lorello, C., & Doucet, E. (2007). Methylphenidate reduces energy intake and dietary fat intake in adults: a mechanism of reduced reinforcing value of food? *The American journal of clinical nutrition*, *86*(2), 308-315. <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.2.308>.
- Gourdy, P., Cazals, L., Thalamos, C., Sommet, A., Calvas, F., ve ark. (2018). Apelin administration improves insulin sensitivity in overweight men during hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, *20*(1), 157-164.
- Guo, L., Li, Q., Wang, W., Yu, P., Pan, H., ve ark. (2009). Apelin inhibits insulin secretion in pancreatic β -cells by activation of PI3-kinase-phosphodiesterase 3B. *Endocrine research*, *34*(4), 142-154. <https://doi.org/10.3109/07435800903287079>
- Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kawamata, Y., ve ark. (1999). Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *1452*(1), 25-35. [https://doi.org/10.1016/s0167-4889\(99\)00114-7](https://doi.org/10.1016/s0167-4889(99)00114-7)
- Haghighparast, E., Esmaili-Mahani, S., Abbasnejad, M., & Sheibani, V. (2018). Apelin-13 ameliorates cognitive impairments in 6-hydroxydopamine-induced substantia nigra lesion in rats. *Neuropeptides*, *68*, 28-35.
- Handler, A., Graham, T. G., Cohn, R., Morante, I., Siliciano, A. F., ve ark. (2019). Distinct dopamine receptor pathways underlie the temporal sensitivity of associative learning. *Cell*, *178*(1), 60-75. e19.
- Hao, J., Liu, Q., Zhang, X., Wu, Y., Zhu, J., ve ark. (2017). The evidence of apelin has the bidirectional effects on feeding regulation in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Peptides*, *94*, 78-85. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.05.007>
- Harman-Boehm, I., Blüher, M., Redel, H., Sion-Vardy, N., Ovadia, S., ve ark. (2007). Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *92*(6), 2240-2247. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1811>
- Hermes, S. M., Mitchell, J. L., & Aicher, S. A. (2006). Most neurons in the nucleus tractus solitarius do not send collateral projections to multiple autonomic targets in the rat brain. *Experimental neurology*, *198*(2), 539-551.
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. *New England Journal of Medicine*, *376*(3), 254-266. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1701944>
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., ve ark. (2007). Apelin, an APJ Receptor Ligand, Regulates Body Adiposity and Favors the Messenger Ribonucleic Acid Expression of Uncoupling Proteins in Mice. *Endocrinology*, *148*(6), 2690-2697. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1270>
- Hill, J. W. (2012). PVN pathways controlling energy homeostasis. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, *16*(Suppl 3), S627-S636.
- Hodes, G. E., Kana, V., Menard, C., Merad, M., & Russo, S. J. (2015). Neuroimmune mechanisms of depression. *Nature neuroscience*, *18*(10), 1386-1393. <https://doi.org/10.1038/nn.4113>
- Hornykiewicz, O. (1966). Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacological reviews*, *18*(2), 925-964.
- Hu, G., Wang, Z., Zhang, R., Sun, W., & Chen, X. (2021). The role of apelin/apelin receptor in energy metabolism and water homeostasis: a comprehensive narrative review. *Frontiers in physiology*, *12*, 632886.
- Janssen, L. K., Herzog, N., Waltmann, M., Breuer, N., Wiencke, K., ve ark. (2019). Lost in translation? On the need for convergence in animal and human studies on the role of dopamine in diet-induced obesity. *Current addiction reports*, *6*, 229-257.
- Janssen, L. K., & Horstmann, A. (2022). Molecular imaging of central dopamine in obesity: A qualitative review across substrates and radiotracers. *Brain sciences*, *12*(4), 486.
- Jaquins-Gerstl, A., & Michael, A. C. (2015). A review of the effects of FSCV and microdialysis measurements on dopamine release in the surrounding tissue. *Analyst*, *140*(11), 3696-3708. <https://doi.org/10.1039/c4an02065k>
- Jászberényi, M., Bujdosó, E., & Telegdy, G. (2004). Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. *Neuroscience*, *129*(3), 811-816. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.007>
- JH, H. (2017). *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji* (A. İ. Çağlayan Yeğen B, Solakoğlu Z. , Ed. 13. Basım ed., Vol. 13. Basım). Güneş Tıp Kitap Evi.
- Ji, M., Wang, Q., Zhao, Y., Shi, L., Zhou, Z., ve ark. (2019). Targeting Hypertension: Superoxide Anions are Involved in Apelin-induced Long-term High Blood Pressure and Sympathetic Activity in the Paraventricular Nucleus. *Curr Neurovasc Res*, *16*(5), 455-464. <https://doi.org/10.2174/1567202616666191023111839>
- Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J., & Woodgett, J. R. (2011). Assessment of social interaction behaviors. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(48), e2473.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C.-S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*, *32*(9), 1431-1437.
- Kenny, P. J. (2011). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron*, *69*(4), 664-679.
- Khoshsirat, S., Abbaszadeh, H.-A., Peyvandi, A. A., Heidari, F., Peyvandi, M., ve ark. (2021). Apelin-13 prevents apoptosis in the cochlear tissue of noise-exposed rat via Sirt-1 regulation. *Journal of chemical neuroanatomy*, *114*, 101956. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2021.101956>

- Kim, M. S., Rossi, M., Abusnana, S., Sunter, D., Morgan, D., ve ark. (2000). Hypothalamic localization of the feeding effect of agouti-related peptide and alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Diabetes*, 49(2), 177-182.
- Kim, R. Y., Shin, S. W., Kim, B. J., Lee, W., & Baik, J.-H. (2005). Dynamic regulation of hypothalamic neuropeptide gene expression and food intake by melanocortin analogues and reversal with melanocortin-4 receptor antagonist. *Biochemical and biophysical research communications*, 329(4), 1178-1185.
- Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A. R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., ve ark. (2019). Dopamine: functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cellular and molecular neurobiology*, 39(1), 31-59. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3>
- Kormos, V., & Gaszner, B. (2013). Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: from animals to humans. *Neuropeptides*, 47(6), 401-419. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2013.10.014>
- Krude, H., Biebermann, H., & Grüters, A. (2003). Mutations in the human proopiomelanocortin gene. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 994(1), 233-239.
- Langelaan, D. N., Bebbington, E. M., Reddy, T., & Rainey, J. K. (2009). Structural insight into G-protein coupled receptor binding by apelin. *Biochemistry*, 48(3), 537-548.
- Larsen, P. J., Hay-Schmidt, A., & Mikkelsen, J. D. (1994). Efferent connections from the lateral hypothalamic region and the lateral preoptic area to the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 342(2), 299-319.
- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., ve ark. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of neurochemistry*, 74(1), 34-41. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0740034.x>
- Lee, D. K., Saldivia, V. R., Nguyen, T., Cheng, R., George, S. R., ve ark. (2005). Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*, 146(1), 231-236. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0359>
- Leite, F., & Ribeiro, L. (2020). Dopaminergic pathways in obesity-associated inflammation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 15, 93-113. <https://doi.org/10.1007/s11481-019-09863-0>
- Levite, M. (2015). Dopamine and T cells: receptors, direct and potent effects, endogenous production and abnormalities in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. *Acta Physiol.(Oxf.) doi*, 10.
- Li, C., Cheng, H., Adhikari, B. K., Wang, S., Yang, N., ve ark. (2022). The Role of Apelin-APJ System in Diabetes and Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 13, 820002. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.820002>
- Li, E., Deng, H., Wang, B., Fu, W., You, Y., ve ark. (2016). Apelin-13 exerts antidepressant-like and recognition memory improving activities in stressed rats. *European Neuropsychopharmacology*, 26(3), 420-430. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.01.007>
- Li, H., Ericsson, A., & Sawchenko, P. (1996). Distinct mechanisms underlie activation of hypothalamic neurosecretory neurons and their medullary catecholaminergic afferents in categorically different stress paradigms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(6), 2359-2364.
- Liu, C., Kang, N.-W., Wang, Y., Xue, Y., Chen, X.-Y., ve ark. (2022). Neuropeptide apelin presented in the dopaminergic neurons modulates the neuronal excitability in the substantia nigra pars compacta. *Neuropharmacology*, 219, 109235. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109235>
- Liu, J., Liu, M., & Chen, L. (2017). Novel pathogenesis: regulation of apoptosis by Apelin/APJ system. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 49(6), 471-478.
- Lopomo, A., Burgio, E., & Migliore, L. (2016). Epigenetics of obesity. *Progress in molecular biology and translational science*, 140, 151-184. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2016.02.002>
- Lowe, C. J., Reichelt, A. C., & Hall, P. A. (2019). The prefrontal cortex and obesity: a health neuroscience perspective. *Trends in cognitive sciences*, 23(4), 349-361. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2019.01.005>
- Lv, S.-Y., Qin, Y.-J., Wang, H.-T., Xu, N., Yang, Y.-J., ve ark. (2012). Centrally administered apelin-13 induces depression-like behavior in mice. *Brain research bulletin*, 88(6), 574-580. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.06.003>
- Martianova, E., Aronson, S., & Proulx, C. D. (2019). Multi-fiber photometry to record neural activity in freely-moving animals. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(152), e60278. <https://doi.org/10.3791/60278>
- Masri, B., Lahlou, H., Mazarguil, H., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2002). The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *Biochemical and biophysical research communications*, 290(1), 539-545. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600606200>
- Masri, B., Morin, N., Pedebernade, L., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2006). The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *Journal of Biological Chemistry*, 281(27), 18317-18326. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600606200>
- McQuade, J.-A., Benoit, S. C., Xu, M., Woods, S. C., & Seeley, R. J. (2004). High-fat diet induced adiposity in mice with targeted disruption of the dopamine-3 receptor gene. *Behavioural brain research*, 151(1-2), 313-319. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.034>

- Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., ve ark. (2003). Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of neurochemistry*, 84(5), 1162-1172.
- Meguid, M. M., Fetissov, S. O., Varma, M., Sato, T., Zhang, L., ve ark. (2000). Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition*, 16(10), 843-857. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(00\)00449-4](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(00)00449-4).
- Mirmohammadsadeghi, Z., Brojeni, M. S., Haghparast, A., & Eliassi, A. (2018). Role of paraventricular hypothalamic dopaminergic D1 receptors in food intake regulation of food-deprived rats. *European journal of pharmacology*, 818, 43-49.
- Montesi, L., El Ghoch, M., Brodosi, L., Calugi, S., Marchesini, G., ve ark. (2016). Long-term weight loss maintenance for obesity: a multidisciplinary approach. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 37-46. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S89836>
- Morton, G., Cummings, D., Baskin, D., Barsh, G., & Schwartz, M. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, 443(7109), 289-295.
- Mughal, A., & O'Rourke, S. T. (2018). Vascular effects of apelin: Mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacology & therapeutics*, 190, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.05.013>
- Muir, J., Lopez, J., & Bagot, R. C. (2019). Wiring the depressed brain: optogenetic and chemogenetic circuit interrogation in animal models of depression. *Neuropsychopharmacology*, 44(6), 1013-1026.
- Nagatsu, T., Levitt, M., & Udenfriend, S. (1964). Tyrosine hydroxylase: the initial step in norepinephrine biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 239(9), 2910-2917.
- Narayanan, S., Wang, S., Vasukuttan, V., Vyas Devambatla, R. K., Dai, D., ve ark. (2021). Pyrazole agonist of the apelin receptor improves symptoms of metabolic syndrome in mice. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(6), 3006-3025.
- Negishi, K., Payant, M. A., Schumacker, K. S., Wittmann, G., Butler, R. M., ve ark. (2020). Distributions of hypothalamic neuron populations coexpressing tyrosine hydroxylase and the vesicular GABA transporter in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, 528(11), 1833-1855. <https://doi.org/10.1002/cne.24857>
- Newson, M. J., Pope, G. R., Roberts, E. M., Lolait, S. J., & O'Carroll, A.-M. (2013). Stress-dependent and gender-specific neuroregulatory roles of the apelin receptor in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to acute stress. *The Journal of endocrinology*, 216(1), 99.
- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L.-C., ve ark. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2), 355-360. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(93\)90495-o](https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90495-o).
- O'Harte, F. P., Parthasarathy, V., & Flatt, P. R. (2020). Chronic apelin analogue administration is more effective than established incretin therapies for alleviating metabolic dysfunction in diabetic db/db mice. *Molecular and cellular endocrinology*, 504, 110695.
- O'Harte, F. P., Parthasarathy, V., Hogg, C., & Flatt, P. R. (2017). Acylated apelin-13 amide analogues exhibit enzyme resistance and prolonged insulin releasing, glucose lowering and anorexic properties. *Biochemical pharmacology*, 146, 165-173. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.10.002>
- O'Shea, M., Hansen, M. J., Tatemoto, K., & Morris, M. J. (2003). Inhibitory effect of apelin-12 on nocturnal food intake in the rat. *Nutritional neuroscience*, 6(3), 163-167. <https://doi.org/10.1080/1028415031000111273>
- Obri, A., & Claret, M. (2019). The role of epigenetics in hypothalamic energy balance control: implications for obesity. *Cell stress*, 3(7), 208. <https://doi.org/10.15698/cst2019.07.191>.
- Organization, W. H. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation.
- Organization, W. H. (2012). *Political declaration of the high-level meeting of the general assembly on the prevention and control of non-communicable diseases*.
- Organization, W. H. (2016). *Obesity and overweight*. <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- Ozen, D.Ö. (2021). The effects of hypothalamic paraventricular oxytocin neurons on the hypofrontality in transgenic male mice. [Master Thesis, Yeditepe University]. Institute of Health Sciences.
- Pan, S., Souza, L. A., Worker, C. J., Mendez, M. E. R., Gayban, A. J. B., ve ark. (2024). (Pro) renin receptor signaling in hypothalamic tyrosine hydroxylase neurons is required for obesity-associated glucose metabolic impairment. *JCI insight*. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.174294>
- Paolisso, G., Tataranni, P., Foley, J., Bogardus, C., Howard, B., ve ark. (1995). A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia*, 38, 1213-1217.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. Elsevier.
- Pei, H., Sutton, A. K., Burnett, K. H., Fuller, P. M., & Olson, D. P. (2014). AVP neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus regulate feeding. *Molecular metabolism*, 3(2), 209-215.
- Pinoli, M., Marino, F., & Cosentino, M. (2017). Dopaminergic regulation of innate immunity: a review. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 12, 602-623. <https://doi.org/10.1007/s11481-017-9749-2>
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., ve ark. (2017). Parkinson disease. *Nature reviews Disease primers*, 3(1), 1-21. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>

- Pratchayasakul, W., Kerdphoo, S., Petsophonakul, P., Pongchaidecha, A., Chattipakorn, N., ve ark. (2011). Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone. *Life sciences*, 88(13), 619-627. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.02.003>
- Pryor, S., & Dietz, W. (2022). The COVID-19, Obesity, and Food Insecurity Syndemic. *Curr Obes Rep*, 11(3), 70-79. <https://doi.org/10.1007/s13679-021-00462-w>
- Ramos, E. J., Meguid, M. M., Campos, A. C., & Coelho, J. C. (2005). Neuropeptide Y, α -melanocyte-stimulating hormone, and monoamines in food intake regulation. *Nutrition*, 21(2), 269-279.
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., ve ark. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of neurochemistry*, 77(4), 1085-1096.
- Ringström, C., Nitert, M. D., Bennet, H., Fex, M., Valet, P., ve ark. (2010). Apelin is a novel islet peptide. *Regulatory peptides*, 162(1-3), 44-51.
- Romanova, I. V., Derkach, K. V., Mikhrina, A. L., Sukhov, I. B., Mikhailova, E. V., ve ark. (2018). The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents. *Neurochemical Research*, 43, 821-837. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2485-z>
- Sacks, F. M., Bray, G. A., Carey, V. J., Smith, S. R., Ryan, D. H., ve ark. (2009). Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *New England Journal of Medicine*, 360(9), 859-873. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0804748>
- Sadeghirad, B., Duhaney, T., Motaghipisheh, S., Campbell, N. R., & Johnston, B. C. (2016). Influence of unhealthy food and beverage marketing on children's dietary intake and preference: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Obesity reviews*, 17(10), 945-959. <https://doi.org/10.1111/obr.12445>
- Sak, K. Z. Ç. (2019). *Apelinin 'in Sosyal İzolasyon Uygulanan Genç Sıçanlarda Davranış Üzerine Etkisi* [Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi]. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Sasaki, K., Yamano, Y., Bardhan, S., Iwai, N., Murray, J. J., ve ark. (1991). Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature*, 351(6323), 230-233. <https://doi.org/10.1038/351230a0>
- Schapira, A. H., Chaudhuri, K. R., & Jenner, P. (2017). Non-motor features of Parkinson disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(7), 435-450. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.62>
- Schmidt, R., Ostorházi, E., Wende, E., Knappe, D., & Hoffmann, R. (2016). Pharmacokinetics and in vivo efficacy of optimized oncocin derivatives. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(4), 1003-1011. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv454>
- Sentinelli, F., Bertocini, L., Incani, M., Pani, M. G., David, F., ve ark. (2020). Association of apelin levels in overweight-obese children with pubertal development, but not with insulin sensitivity: 6.5 years follow up evaluation. *Endocrine research*, 45(4), 233-240. <https://doi.org/10.1080/07435800.2020.1804929>
- Seong, J., Kang, J. Y., Sun, J. S., & Kim, K. W. (2019). Hypothalamic inflammation and obesity: a mechanistic review. *Archives of pharmacal research*, 42, 383-392. <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01138-9>
- Shelton, R. C. (2007). The molecular neurobiology of depression. *Psychiatric Clinics of North America*, 30(1), 1-11.
- Singer-Englar, T., Barlow, G., & Mathur, R. (2019). Obesity, diabetes, and the gut microbiome: an updated review. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 13(1), 3-15. <https://doi.org/10.1080/17474124.2019.1543023>
- Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes rendus biologies*, 340(2), 87-108. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.11.007>
- Soriguer, F., Garrido-Sanchez, L., Garcia-Serrano, S., Garcia-Almeida, J. M., Garcia-Arnes, J., ve ark. (2009). Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obesity surgery*, 19, 1574-1580. <https://doi.org/10.1007/s11695-009-9955-y>
- Spiegel, A., Shvitiel, S., Kalinkovich, A., Ludin, A., Netzer, N., ve ark. (2007). Catecholaminergic neurotransmitters regulate migration and repopulation of immature human CD34+ cells through Wnt signaling. *Nature immunology*, 8(10), 1123-1131.
- Steele, K. E., Prokopowicz, G. P., Schweitzer, M. A., Magunson, T. H., Lidor, A. O., ve ark. (2010). Alterations of central dopamine receptors before and after gastric bypass surgery. *Obesity surgery*, 20, 369-374. <https://doi.org/10.1007/s11695-009-0015-4>
- Stice, E., & Dagher, A. (2010). Genetic variation in dopaminergic reward in humans. *Frontiers in eating and weight regulation*, 63, 176-185.
- Stoop, R. (2012). Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*, 76(1), 142-159. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.025>
- Sun, F., Zeng, J., Jing, M., Zhou, J., Feng, J., ve ark. (2018). A Genetically Encoded Fluorescent Sensor Enables Rapid and Specific Detection of Dopamine in Flies, Fish, and Mice. *Cell*, 174(2), 481-496.e419. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.042>
- Sunter, D., Hewson, A. K., & Dickson, S. L. (2003). Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neuroscience letters*, 353(1), 1-4. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(03\)00351-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(03)00351-3)

- Swanson, L., & Kuypers, H. (1980). The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *Journal of Comparative Neurology*, *194*(3), 555-570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cne.901940306>
- Swanson, L., & Sawchenko, P. E. (1983). Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annual review of neuroscience*, *6*(1), 269-324. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.001413>
- Szczypka, M. S., Rainey, M. A., & Palmiter, R. D. (2000). Dopamine is required for hyperphagia in Lepob/ob mice. *Nature genetics*, *25*(1), 102-104.
- Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G. b., Voutilainen-Myllylä, S., Ilves, M., ve ark. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circulation research*, *91*(5), 434-440.
- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., ve ark. (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochemical and biophysical research communications*, *291*(5), 1208-1212. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6575>
- Takahashi, K., Mizuno, K., Sasaki, A. T., Wada, Y., Tanaka, M., ve ark. (2015). Imaging the passionate stage of romantic love by dopamine dynamics. *Frontiers in Human Neuroscience*, *9*, 191. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00191>
- Tanaka, M., Sun, F., Li, Y., & Mooney, R. (2018). A mesocortical dopamine circuit enables the cultural transmission of vocal behaviour. *Nature*, *563*(7729), 117-120.
- Tasci, I., Dogru, T., Naharci, I., Erdem, G., Yilmaz, M., ve ark. (2007). Plasma apelin is lower in patients with elevated LDL-cholesterol. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, *115*(07), 428-432.
- Tasci, I., Erdem, G., Ozgur, G., Tapan, S., Dogru, T., ve ark. (2009). LDL-cholesterol lowering increases plasma apelin in isolated hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, *204*(1), 222-228.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., ve ark. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and biophysical research communications*, *251*(2), 471-476.
- Tillet, Y., & Kitahama, K. (1998). Distribution of central catecholaminergic neurons: a comparison between ungulates, humans and other species. *Histology and histopathology*, *13*, 1163-1177.
- Tschöp, M., Smiley, D. L., & Heiman, M. L. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, *407*(6806), 908-913.
- Valle, A., Hoggard, N., Adams, A., Roca, P., & Speakman, J. (2008). Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *Journal of neuroendocrinology*, *20*(1), 79-84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2007.01617.x>
- Vallone, D., Picetti, R., & Borrelli, E. (2000). Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, *24*(1), 125-132.
- van Galen, K. A., Ter Horst, K. W., & Serlie, M. J. (2021). Serotonin, food intake, and obesity. *Obesity reviews*, *22*(7), e13210.
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., & Baler, R. D. (2011). Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. *Trends in cognitive sciences*, *15*(1), 37-46.
- Volkow, N. D., Wise, R. A., & Baler, R. (2017). The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, *18*(12), 741-752. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130>
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, *2*(2), 322-328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>.
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open-field test: a critical review. *Psychological bulletin*, *83*(3), 482.
- Wan, T., Fu, M., Jiang, Y., Jiang, W., Li, P., ve ark. (2022). Research progress on mechanism of neuroprotective roles of Apelin-13 in prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*, 1-13.
- Wang, G.-J., Volkow, N. D., Logan, J., Pappas, N. R., Wong, C. T., ve ark. (2001). Brain dopamine and obesity. *The Lancet*, *357*(9253), 354-357. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)03643-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)03643-6).
- Wang, W., Zhang, D., Yang, R., Xia, W., Qian, K., ve ark. (2018). Hepatic and cardiac beneficial effects of a long-acting Fc-apelin fusion protein in diet-induced obese mice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, *34*(5), e2997. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2997>
- Weinshilboum, R. M., Thoa, N. B., Johnson, D. G., Kopin, I. J., & Axelrod, J. (1971). Proportional release of norepinephrine and dopamine- β -hydroxylase from sympathetic nerves. *Science*, *174*(4016), 1349-1351.
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., ve ark. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of clinical investigation*, *112*(12), 1796-1808. <https://doi.org/10.1172/JCI19246>.
- Winzell, M. S., Magnusson, C., & Ahrén, B. (2005). The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regulatory peptides*, *131*(1-3), 12-17.
- Wolf, A. D., & Pfleger, B. (2003). Burden of major musculoskeletal conditions. *Bulletin of the world health organization*, *81*(9), 646-656.

- Wsol, A., Cudnoch-Jedrzejewska, A., Szczepanska-Sadowska, E., Kowalewski, S., & Puchalska, L. (2008). Oxytocin in the cardiovascular responses to stress. *J Physiol Pharmacol*, 59(Suppl 8), 123-127.
- Xiao, Z.-Y., Wang, B., Fu, W., Jin, X., You, Y., & ark. (2018). The hippocampus is a critical site mediating antidepressant-like activity of apelin-13 in rats. *Neuroscience*, 375, 1-9.
- Yamamoto, T., Habata, Y., Matsumoto, Y., Yasuhara, Y., Hashimoto, T., & ark. (2011). Apelin-transgenic mice exhibit a resistance against diet-induced obesity by increasing vascular mass and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1810(9), 853-862. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.05.004>
- Yoo, S. (2018). Dynamic energy balance and obesity prevention. *Journal of obesity & metabolic syndrome*, 27(4), 203. <https://doi.org/10.7570/jomes.2018.27.4.203>
- Yue, P., Jin, H., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., & ark. (2010). Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 298(1), E59-E67. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00385.2009>
- Yue, P., Jin, H., Xu, S., Aillaud, M., Deng, A. C., & ark. (2011). Apelin decreases lipolysis via Gq, Gi, and AMPK-dependent mechanisms. *Endocrinology*, 152(1), 59-68.
- Zeng, X.-S., Geng, W.-S., Jia, J.-J., Chen, L., & Zhang, P.-P. (2018). Cellular and molecular basis of neurodegeneration in Parkinson disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 10, 109. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00109>
- Zhang, Q., Tang, Q., Purohit, N. M., Davenport, J. B., Brennan, C., & ark. (2022). Food-induced dopamine signaling in AgRP neurons promotes feeding. *Cell Reports*, 41(9).
- Zhang, X., & Van Den Pol, A. N. (2015). Dopamine/tyrosine hydroxylase neurons of the hypothalamic arcuate nucleus release GABA, communicate with dopaminergic and other arcuate neurons, and respond to dynorphin, met-enkephalin, and oxytocin. *Journal of Neuroscience*, 35(45), 14966-14982. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0293-15.2015>
- Zhang, X., & van den Pol, A. N. (2016). Hypothalamic arcuate nucleus tyrosine hydroxylase neurons play orexigenic role in energy homeostasis. *Nature neuroscience*, 19(10), 1341-1347. <https://doi.org/10.1038/nn.4372>
- Zhou, Q.-Y., & Palmiter, R. D. (1995). Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell*, 83(7), 1197-1209.
- Zhou, Q., Chen, L., Tang, M., Guo, Y., & Li, L. (2018). Apelin/APJ system: a novel promising target for anti-aging intervention. *Clinica Chimica Acta*, 487, 233-240.
- Zhu, J., Dou, S., Jiang, Y., Chen, J., Wang, C., & ark. (2019). Apelin-13 protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease model mice through inhibiting endoplasmic reticulum stress and promoting autophagy. *Brain Research*, 1715, 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.03.027>
- Zhu, J., Dou, S., Wang, C., Jiang, Y., Wang, C., & ark. (2019). Apelin-36 mitigates MPTP/MPP+-induced neurotoxicity: Involvement of α -synuclein and endoplasmic reticulum stress. *Brain Research*, 1721, 146334. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146334>
- Zorena, K., Jachimowicz-Duda, O., Ślęzak, D., Robakowska, M., & Mrugacz, M. (2020). Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. *Int J Mol Sci*, 21(10). <https://doi.org/10.3390/ijms21103570>

8. EKLER

8.1. EK 1 Etik kurul kararı

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararları/Tarih ve Sayı: 07.12.2023-E.131336



T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ

DOSYA NO: 2023-56

21.11.2023

KONU: Etik Kurul Kararı – Prof. Dr. Selim KUTLU

Sayın, Prof. Dr. Selim KUTLU

“Yüksek Kalorili Diyet Uygulanan Farelerde Hipotalamik Paraventriküler Nükleustaki Dopamin Sinyalleşmesi Üzerinde Apelin Etkisinin Fiber Fotometri Yöntemiyle Araştırılması” başlıklı projenize ait başvurunuz 21.11.2023 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

- Necmettin Erbakan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik kuruluna başvuru yaparak çalışmanın Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik kurulunda yapılacağı dilekçe ile bildirilmeli.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Fare
	Sayısı	40

Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Doç. Dr. Sedat AKBAŞ
Üye

Doç. Dr. Özgün Yusuf ÖZYILMAZ
Üye

Doç. Dr. Renzi DOĞAN
Üye

Doç. Dr. Ömer Faruk ÖZER
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Emine Rümeyza HEKİMOĞLU
Üye

Doç. Dr. Özge PASİN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZTÜRK CİVELEK
Üye

Dr. Vet. Hek. Mert ÇELİKTEN
Üye

Şerife GÖNCÜ
Üye

Dr. Necmeddin GÜNAY
Üye

- Etik kurumuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tür, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deneysel Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.Evrak sorgulaması
<https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&eD=BSF4TYF2UC&eS=131336> adresinden yapılabilir.