

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER İRİSİN
UYGULAMASININ BEYİNDEKİ EŞLEŞME BOZUCU
(UNCOUPLING) PROTEİN AİLESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Yavuz ERDEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ

ELAZIĞ – 2014

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER İRİSİN
UYGULAMASININ BEYİNDEKİ EŞLEŞME BOZUCU
(UNCOUPLING) PROTEİN AİLESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ
Yavuz ERDEN
(111110201)

Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Genel Biyoloji

Danışman : Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ
(İkinci Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 23 Eylül 2014

EKİM-2014

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER İRİSİN UYGULAMASININ
BEYİNDEKİ EŞLEŞME BOZUCU (UNCOUPLING) PROTEİN AİLESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ

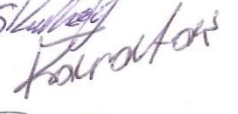
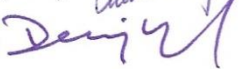
DOKTORA TEZİ

Yavuz ERDEN

(111110201)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 23 EYLÜL 2014

Tezin Savunulduğu Tarih : 16 EKİM 2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ (F.Ü) 
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Fikret KARATAŞ (F.Ü) 
Doç. Dr. Cemil ÇOLAK (İ.Ü) 
Yrd. Doç Dr. Ebru ÖNALAN (F.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU (F.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Abdullah ASLAN (F.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Deniz EROL (F.Ü) 

EKİM-2014

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde çalışmanın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana destek olan ve tez çalışmamı yönlendiren danışman hocalarım Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ ve Yrd. Doç Dr. Ebru ÖNALAN'a, değerli önerileriyle ve deneysel süreçteki desteklerinden dolayı hocam Doç Dr. Süleyman SANDAL'a, çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Suat TEKİN ve Arş. Gör. Ahmet TEKTEMUR'a, çalışmalarım sırasında yardım ve desteğini esirgemeyen arkadaşlarım Büşra AKSOY, Arş. Gör. Ersen ERASLAN ve Burak BİRCAN'a, bu çalışmanın gerçekleşmesinde FF.13.26 nolu proje ile mali destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Yavuz ERDEN
ELAZIĞ - 2014

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. İrisin.....	1
1.1.1. İrisinin Yapısı, İzolasyonu ve İsimlendirilmesi.....	2
1.1.2. İrisin Reseptörü.....	4
1.1.3. Dolaşımdaki İrisin Düzeyi ve Egzersizle İlişkisi.....	4
1.1.4. İrisinin Santral Nöron Sistemdeki Potansiyel Rollerini.....	5
1.2. Uncoupling (Eşleşme Bozucu) Proteinler.....	6
1.2.1. UCP Homologları ve Yapısal Özellikleri	7
1.2.2. UCP'ler ve Merkezi Sinir Sistemi	8
1.2.2.1. Termal Sinapslar.....	8
1.2.2.2. Kalsiyum Regülasyonu.....	9
1.2.2.3. ATP Üretimi ve Mitokondriyal Biyogenez	10
1.2.2.4. Nöronal UCP'ler ve Reaktif Oksijen Türleri.....	10
1.2.2.5. Sinaptik İletim ve Plastisite	11
1.2.2.6. Ağrı ve Tolerans	12
1.2.2.7. Nörodejenarasyonda UCP'ler.....	12
1.3. Merkezi Sinir Sistem Bölümleri ve Fizyolojik Önemi	14
1.3.1. Korteks.....	14
1.3.2. Hipotalamus.....	15
1.3.3. Hipofiz	17
1.3.4. Hipokampus.....	18
1.3.5. Striatum.....	19
1.3.6. Serebellum	20

2.	MATERYAL ve METOT.....	22
2.1.	Yapay Beyin Omurilik Sıvısı ve İrisin Konsantrasyonları	22
2.2.	Deney Hayvanları	23
2.3.	Stereotaksi.....	25
2.3.1.	Koordinatların Belirlenmesi	25
2.3.2.	Hayvanların Hazırlanması	26
2.3.3.	Hayvanların Sterotaksik Cihaza Yerleştirilmesi.....	26
2.4.	Hayvanların Vücut Sıcaklığının Takibi	28
2.5.	Beyin Dokularının Toplanması.....	28
2.6.	Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR).....	29
2.6.1.	Kullanılan Gereç ve Cihazlar.....	29
2.6.2.	Kullanılan Sarf Maddeler	30
2.6.3.	RT-PZR Yöntemi.....	30
2.6.3.1.	Total RNA İzolasyonu.....	30
2.6.3.2.	Spektrofotometrik RNA Ölçümü.....	31
2.6.3.3.	Komplementer DNA Sentezi.....	31
2.6.3.4.	RT-PZR ile cDNA Amplifikasyonu	32
2.7.	İstatistiksel Değerlendirme	34
3.	BULGULAR.....	35
3.1.	Icv İrisin Uygulamasının Hipokampusta UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri ..	35
3.2.	Icv İrisin Uygulamasının Hipotalamusta UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri ..	36
3.3.	Icv İrisin Uygulamasının Serebellumda UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri ...	37
3.4.	Icv İrisin Uygulamasının Striatumda UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri.....	38
3.5.	Icv İrisin Uygulamasının Kortekste UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri.....	39
3.6.	Icv İrisin Uygulamasının Hipofizde UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri	40
3.7.	Icv İrisin Uygulamasının Hayvanların Vücut Sıcaklığı Üzerine Etkisi.....	41
4.	SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	43
5.	ÖNERİLER.....	48
	KAYNAKLAR	49
	EK1. ETİK KURUL BELGESİ.....	63
	ÖZGEÇMİŞ.....	64

ÖZET

İrisin egzersiz esnasında kas dokudan serbestlenen termojenik bir proteindir. İrisinin en önemli fizyolojik rolü, beyaz yağ dokudan kahverengi yağ doku gelişimini sağlamasıdır. İrisin bu gelişimi başta UCP1 olmak üzere diğer kahverengileşmeyi sağlayan proteinlerin düzeylerini arttırarak gerçekleştirir. UCP'ler mitokondrinin zarlar arası alanında ki proton gradyanını azaltarak ATP oluşumunun kısmen azaltırlar ve ısı oluşumuna neden olurlar. İrisinin UCP1 ile olan ilişkisi kısmen biliniyor olursa da, UCP1 ile yakın akrabalık gösteren UCP2-5 ile muhtemel ilişkisi hala gizemini korumaktadır. Yapılan bu çalışmayla irisinin merkezi alanda yer alan UCP2-5 proteinleri üzerine muhtemel etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada ağırlıkları 200-250 g olan Sprague Dawley cinsi toplam 80 adet dişi sıçan kullanıldı. Hayvanların ağırlıkları göz önüne alınarak deney grupları oluşturuldu ve irisinin hazırlanan 1 μ M (düşük doz), 3 μ M (orta doz) ve 10 μ M (yüksek doz) konsantrasyonları intraserebroventriküler enjeksiyonla uygulandı. Uygulama sonrası farklı bekleme zamanları dikkate alınarak gruplarda bulunan hayvanlar dekapite edildi. Ayrıca gruplardaki hayvanların operasyon öncesi ve operasyon sonrası vücut sıcaklıkları ölçüldü. Hayvanlar dekapite edildikten sonra beyin dokuları (hipotalamus, hipofiz, hipokampus, serebellum, striatum ve korteks) toplandı ve RT-PZR ile UCP2-5 mRNA düzeyleri belirlendi. Gruplar arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Student's t testi kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Merkezi uygulanan irisinin yüksek dozu bütün beyin bölgelerinde UCP5 ifadesini anlamlı düzeyde arttırdı ($p < 0.05$). Buna karşın uygulanan irisinin dozları hipofiz hariç diğer beyin bölgelerindeki UCP4 ifadesini azaltıcı etki gösterdi. UCP2 mRNA düzeyi hipotalamus, hipofiz ve hipofizde irisin uygulaması sonrası azalma gösterirken, özellikle serebellumda doz ve zaman bağımlı olarak UCP2 ifadesi ciddi artışlar sergiledi ($p < 0.05$). Ayrıca icv irisin enjeksiyonu sonrası gruptaki hayvanların vücut ısıları anlamlı düzeyde yükseldi ($p < 0.05$). Bütün bu sonuçlar dikkate alındığı zaman irisinin sadece UCP1 üzerine etki göstermediğini, aynı zamanda diğer UCP'ler üzerine de doğrudan veya dolaylı olarak etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: İrisin, UCP2, UCP3, UCP4, UCP5, Beyin, Vücut sıcaklığı

SUMMARY

The effect of intracerebroventricular irisin application to the rats on the uncoupling protein family in brain

Irisin is a thermogenic protein that is secreted from muscle tissues. The most important physiological role of irisin is its promoting the conversion of white adipose tissue to brown adipose tissue. Irisin promotes this conversion by increasing the level of especially UCP1 and other proteins that stimulate browning in adipose tissue. UCPs reduce the rate of ATP production partially by decreasing the protein gradient in intermembrane space of a mitochondrion and generate heat. The probable relationship between irisin and UCP2-5 which are close relatives of UCP1 remains still a mystery although its relationship with UCP1 is known partially. With this study it was aimed to determine the probable effect of irisin on UCP2-5 proteins that are located in the inner membrane.

80 female Sprague Dawley rats which weighed in a range of 200 g to 250 g were used in the study. Experiment groups were formed by taking weights of the rats into account and irisin prepared at concentration of 1 μ M (low dose), 3 μ M (mid dose) and 10 μ M (high dose) was applied via intracerebroventricular injection. After the application, the rats were decapitated by considering different waiting duration. In addition, preoperative and postoperative body temperatures of the rats in groups were measured. After decapitation, brain tissues (hypothalamus, hypophysis, hippocampus, cerebellum, striatum and cortex) were gathered and RT-PCR and UCP2-5 mRNA levels were detected. Student's t test was benefited from in determining differences between expression levels and $p < 0.05$ value was accepted as meaningful.

Applying high dose of irisin increased the UCP5 at a meaningful manner ($p < 0.05$). On the other hand it reduced UCP4 in regions of brain except hypophysis. While UCP2 mRNA levels decreased in hypothalamus and hypophysis after irisin application, significant increases were observed especially in cerebellum in terms of doses and time ($p < 0.05$). Moreover, after icv injection of irisin, body temperatures of the rats increased at a meaningful manner ($p < 0.05$). All results considered, it is concluded that irisin can have effects not only on UCP1 and but also other UCPs directly or indirectly.

Keywords: Irisin, UCP2, UCP3, UCP4, UCP5, Brain, Body temperature

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. FNDC5 protein yapısının şematik gösterimi (üstte) ve proteolitik parçalanma ile irisinin oluşumu (altta).....	2
Şekil 1.2. Mitokondriyal enerji düzenlenmesi ve UCP'ler.....	6
Şekil 1.3. UCP'lerin üçlü tekrardan oluşmuş yapısının şematik gösterimi.....	8
Şekil 1.4. İnsan serebral korteksinin Brodman alanları olarak adlandırılan yapısal olarak farklı bölgeleri.....	15
Şekil 2.1. Çalışmanın araştırma planı.....	24
Şekil 2.2. Sıçan beyin atlasına göre lateral ventrikül koordinatları.....	25
Şekil 2.3. Bregmanın referans noktasının belirlenmesi.....	26
Şekil 2.4. Merkezi irisin uygulamasının basamakları.....	27
Şekil 2.5. Hayvanların vücut sıcaklıklarının kayıt altına alınması.....	28
Şekil 2.6. Beyin dokusundan RNA izolasyon basamakları.....	31
Şekil 3.1. Icv irisin uygulamasının hipokampustaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	35
Şekil 3.2. Icv irisin uygulamasının hipotalamusdaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	36
Şekil 3.3. Icv irisin uygulamasının serebellumdaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	37
Şekil 3.4. Icv irisin uygulamasının striatumdaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	38
Şekil 3.5. Icv irisin uygulamasının korteksdeki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	39
Şekil 3.6. Icv irisin uygulamasının hipofizde ki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi.....	40
Şekil 3.7. Yüksek doz (10 µM) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri.....	41
Şekil 3.8. Orta doz (3 µM) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri.....	42
Şekil 3.9. Düşük doz (1 µM) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri.....	42

TABLÖLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. UCP1'in diğer UCP'ler ile homolojisi	7
Tablo 1.2. Ön hipofiz bezinin salgısını kontrol eden serbestletici ve baskılayıcı hipotalamusun hormonları	16
Tablo 1.3. Ön hipofizde yer alan hücre grupları ve salgıladıkları hormonlar	18
Tablo 2.1. Yapay beyin omurilik sıvısının içeriği	22
Tablo 2.2. cDNA karışım miktarı	32
Tablo 2.3. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı	32
Tablo 2.4. RT-PZR'de kullanılan primerler	33
Tablo 2.5. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	33
Tablo 2.6. Uygulanan RT-PZR programı (RT-PZR X 40 döngü)	33

SEMBOLLER LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ADP	: Adenozin difosfat
AgRP	: Agouti-ilişkili peptid
ARC	: Arkuat çekirdek
ATP	: Adenozin trifosfat
BDNF	: Beyin türevli nörotrofik faktör
BMCP1	: Beyin mitokondriyal taşıyıcı protein-1
CRH	: Kortikotropin serbestleştirici hormon
FNDC5	: Fibronektin tip III domain içeren protein
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GABA	: Gamma-aminobütirik asit
GAPDH	: Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz
GH	: Büyüme hormonu
GHRH	: Büyüme hormonu serbestleştirici hormon
GnRH	: Gonadotropin serbestleştirici hormon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
LH	: Luteinleştirici hormon
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
NO	: Nitrik oksit
NPY	: Nöropeptid Y
PGC1- α	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama koaktivatör 1 alfa
PIH	: Prolaktin
PPAR γ	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama
PVN	: Paraventriküler çekirdek
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RT-PZR	: Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TRH	: Tirotropin serbestleştirici hormon
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
UCP	: Eşleşme bozucu protein
UCP1	: Eşleşme bozucu protein 1

UCP2	: Eşleşme bozucu protein 2
UCP3	: Eşleşme bozucu protein 3
UCP4	: Eşleşme bozucu protein 4
UCP5	: Eşleşme bozucu protein 5
yBOS	: Yapay beyin omurilik sıvısı

1. GİRİŞ

Hayatın devamı için bütün canlıların enerjiye ihtiyaç duyduğu bir gerçektir. Hücrenin enerji santrali olarak isimlendirilen mitokondriler, kendilerine özgü kalıtsal materyali ve hücredeki önemli işlevleri nedeniyle dikkat çekici bir yapıya sahiptir [1]. Mitokondriyal zar proteinlerinden olan eşleşme bozucu proteinler (UCP) hücresel enerji oluşumunda kilit rol oynar. Bu protein grubu 5 üyeden (UCP1-5) oluşur ve her bir UCP türü vücudun farklı bölgelerine özgü olarak ifade edilir [2, 3]. Mitokondriyal aktiviteyi başta egzersiz gibi enerji ihtiyacının yüksek olduğu durumların yanında birçok fiziksel ve hormonal faktör etkiler. Egzersiz esnasında kas dokudan salgılanan miyokinler dolaşıma katılırlar ve bu biyomoleküller canlıda birtakım fizyolojik süreçlerin gerçekleşmesinde doğrudan yada dolaylı olarak rol üstlenirler. Örneğin irisin egzersiz esnasında kas dokudan sentezlenir ve beyaz yağ dokuda UCP1 ifadesini arttırarak mitokondriyal fonksiyonları düzenleyebilen bir miyokindir [4].

Beynin farklı bölgelerinde bulunan UCP'ler fizyolojik ve patolojik birtakım olayların gerçekleşmesinde etkili olan proteinlerdir [2]. İrisin hormonu esas olarak kas dokudan sentezlenmesine rağmen yapılan az sayıdaki çalışma nöronal alanlarda irisinin varlığını göstermektedir [5]. İrisinin beyaz yağ dokuda UCP1 ifadesini arttırdığı düşünülürse, diğer UCP'ler ile muhtemel bir ilişkisinin olabileceği akıllara gelmektedir. Bu çalışma, nöronal alanlarda yayılım gösteren ve mitokondriyal zar proteinleri olan UCP2, UCP3, UCP4 ve UCP5 üzerine irisin hormonunun doz ve zaman bağımlı etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

1.1. İrisin

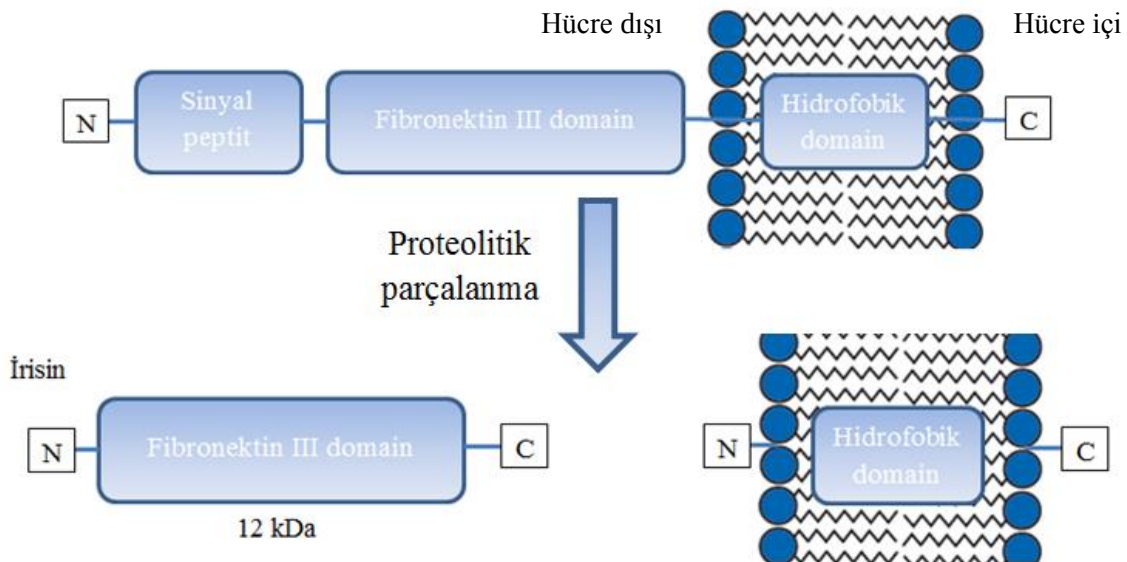
İrisin, beyaz yağ dokunun kahverengi yağ dokuya dönüşmesini sağlayarak enerji kullanımını teşvik eden termojenik bir proteindir. İrisin egzersiz esnasında iskelet kasında ki fibronektin tip III domain içeren protein 5 (FNDC5) moleküllerinin parçalanmasıyla dolaşıma katılmaktadır [4]. Bu hormonun bilinen en önemli fizyolojik rolü, beyaz yağ dokudan kahverengi yağ doku gelişimini sağlamasıdır [6]. İrisin bu gelişimi başta UCP1 olmak üzere diğer kahverengileşmeyi sağlayan proteinlerin düzeylerini arttırarak

gerçekleştirir. Sonuç olarak enerji deposu olarak isimlendirilen beyaz yağ doku düzeyi azalır ve depolanan enerji açığa çıkar.

İrisin keşfi ile birlikte araştırmacıların ilgisini üzerinde toplamayı başaran bir hormondur ve gelecekte obezite ile tip 2 diyabet başta olmak üzere birçok metabolik rahatsızlığın tedavisinde umut ışığı olarak öngörülmektedir. Yapılan araştırmalar ile irisinin bu hastalıklar ile ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmaktadır [7-9]. Ayrıca egzersizin sağlık üzerine bilinen faydalarına irisinin ne gibi bir katkısının olduğu diğer araştırma konularındandır.

1.1.1. İrisinin Yapısı, İzolasyonu ve İsimlendirilmesi

2012 yılında kas dokusundan izole edilen irisin 112 aminoasitten oluşan (12 kDa) bir proteindir [4]. Araştırmacılar irisin molekülünün glikoprotein yapısında olduğunu bildirmiştir. İrisin, iskelet kasında ki FNDC5'in (aynı zamanda FRCP2 ve PeP olarak bilinir) bilinmeyen bir proteaz tarafından koparılmasıyla oluşan bir parçalanma ürünüdür (Şekil 1.1). Yapılan araştırmalar ile irisinin varlığı subkutan adipoz doku, kalp kası, beyin-omurilik sıvısı, insan anne sütü, tükürük ve serebellumdaki purkinje hücrelerinde gösterilmiştir [5, 10, 11].



Şekil 1.1. FNDC5 protein yapısının şematik gösterimi (üstte) ve proteolitik parçalanma ile irisinin oluşumu (altta) [6].

FNDC5 iki fibronektin bölgesine ve membran içinde bulunma olasılığı yüksek bir hidrofobik bölge içeren bir sinyal peptide sahiptir [12, 13]. FNDC5'in insanlarda başta kas, perikardiyum, rektum ve beyin olmak üzere 47 farklı dokuda varlığı gösterilmiştir [14]. Yapılan çalışmalar transmembran FNDC5'in hücresele FNDC5'den daha büyük olduğunu bildirmektedir [4, 15]. Bu durum araştırmacıların proteinin bir parçasının salgılanıp salgılanmadığını sorgulamalarına neden olmuştur. Bu yapıyı dikkate alan araştırmacılar FNDC5'in tip I membran protein olarak sentezlendiği, ardından proteolitik olarak kesildiği ve proteinin amino (N) terminal kısmının ekstrasellüler ortama bırakıldığı hipotezini ortaya atmışlardır. Bu varsayım doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucunda, irisinin henüz belirlenmeyen bir proteaz tarafından FNDC5'in parçalanmasıyla dolaşıma katıldığını, fare (*Mus musculus*) ve insandaki bu peptidin %100 oranında benzerlik gösterdiğini, diğer canlılarda ise bu benzerliğin önemli düzeyde korunduğunu belirlenmiştir. Daha önceden tanımlanmamış bu peptide, kastan diğer dokulara sinyal ilettiğinden dolayı Yunan ulak tanrıçası İris anısına irisin adı verilmiştir [4]. İrisinin meydana geliş şekli (bölünmesi ve serbestleşmesi) epidermal büyüme faktörü ve alfa dönüştürücü büyüme faktörü gibi transmembran polipeptidler ile benzerdir [4].

FNDC5 gen ifadesinin artışına egzersiz tarafından uyarılan ve enerji harcanmasına neden olan peroksizom proliferatör aktive reseptör gama (PPAR γ) ve PPAR γ koaktivatör 1 alfa (PGC1- α) aracılık eder. PGC1- α biyolojik sistemlerde enerji metabolizmasının programlanmasında arabulucudur ve birçok hücre tipinde mitokondriyal biyogenez ile oksidatif metabolizmayı kontrol eder [16, 17]. PGC1- α aracılığı ile kas dokusundan sentezlendiği ve salgılandığı düşünülen beş farklı protein vardır: FNDC5, interlökin-15 (IL-15), vasküler endotelial büyüme faktörü beta (VEGF β), lösin-zengini alfa-2-glikoprotein-1 (Lrg1) ve metaloproteinaz doku inhibitörü-4 (TIMP4) [18]. FNDC5 kahverengileşmeyi sağlayan UCP1, Elov13, Cox7a ve OTOPI1'in de aralarında bulunduğu genlerin ifadelerini düzenler [4, 19]. Örneğin yağ doku kültür ortamına eklenen 20 nM FNDC5 yaklaşık 7 kat UCP1 ifadesini arttırmıştır [4]. Artan UCP1 ifadesi adenosin trifosfat (ATP) sentezini engeller ve ısı oluşumuna yol açarak enerji harcanmasına neden olur [20]. Bütün bu sonuçlar kahverengi adipoz dokuda termogenez aktivasyonunu FNDC5'in düzenlediğini göstermektedir.

1.1.2. İrisin Reseptörü

İrisinin dolaşımdaki etkileri hakkında artan bilgilere rağmen, bu etkilere aracılık eden reseptör (veya reseptörler) keşfedilmeyi beklemektedir. Yapılan ilk çalışmada, irisinin bir hücre yüzey reseptörü aracılığıyla fizyolojik özelliklerini gerçekleştirdiği öngörülmüştür [4]. Diğer bir çalışmada ise, ligand-reseptör etkileşimi için önemli olabilen irisin dimerleri gösterilmiştir [21]. İrisinin etki ettiği reseptör veya reseptörlerin hangi dokularda bulunduğu ve ekspresyon yerlerinin tanımlanması, irisinin fizyolojik öneminin anlaşılmasında büyük bir atılım olacaktır.

1.1.3. Dolaşımdaki İrisin Düzeyi ve Egzersizle İlişkisi

Bostrom vd. irisinin keşfini duyurdukları çalışmalarında, farklı irisin fragmentlerinin insan ve fare plazmasında mevcut olduğunu ve iskelet kasındaki FNDC5 ifadesindeki değişimlerin bu yapıların seviyelerinde etkili olduğunu belirtmiştir. Çalışmada egzersiz sonrası iskelet kasındaki FNDC5 ekspresyon düzeyindeki artışa paralel olarak bir süre sonra dolaşımdaki irisin düzeyinin de artış gösterdiğini bildirilmektedir [4].

İnsanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar Bostrom vd. destekler niteliktedir. Örneğin Kraemer vd. egzersiz sonrası ilk birkaç saat içerisinde dolaşımdaki irisin düzeyinin geçici olarak yükseldiğini belirtmiştir [22]. Başka bir çalışmada ise akut egzersiz ile dolaşımdaki irisin düzeyinin yaklaşık %20 oranında arttığı gösterilmiştir [14]. Araştırmacılar FNDC5 ve irisin ekspresyon düzeylerini göz önüne aldıkları bu çalışmalarda kronik egzersize kıyasla akut egzersizin dolaşımdaki irisin seviyesini önemli düzeyde etkilediğini rapor etmektedir. Buna karşın yapılan diğer birkaç çalışma dolaşımdaki irisin düzeyinin ne kronik nede akut egzersiz sonrası değişmediğini vurgulamaktadır [23, 24]. Hecksteden vd. hem güce dayalı hem de normal kronik egzersiz sonrası dolaşımdaki irisin düzeyinin anlamlı şekilde etkilenmediğini bildirmiştir [25]. Diğer bir çalışmada ise kronik egzersiz sonrası PGC1- α ve FNDC5 ifadelerindeki artışa rağmen dolaşımdaki irisin düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir [26]. Yapılan çalışmalarda ki irisin düzeyini belirlemeye yönelik analiz metotlarının farklılığı (ELISA ve Western Blot gibi) muhtemel sonuçların da farklı değerlendirilmesine neden olabilir. Henüz yeni tanımlanmış olan bu peptidin hangi fizyolojik ve moleküler yollar ile etkileşimde olduğu aydınlatıldıkça, bu peptidin regülasyonu hakkındaki bilgilerde kesinlik kazanacaktır.

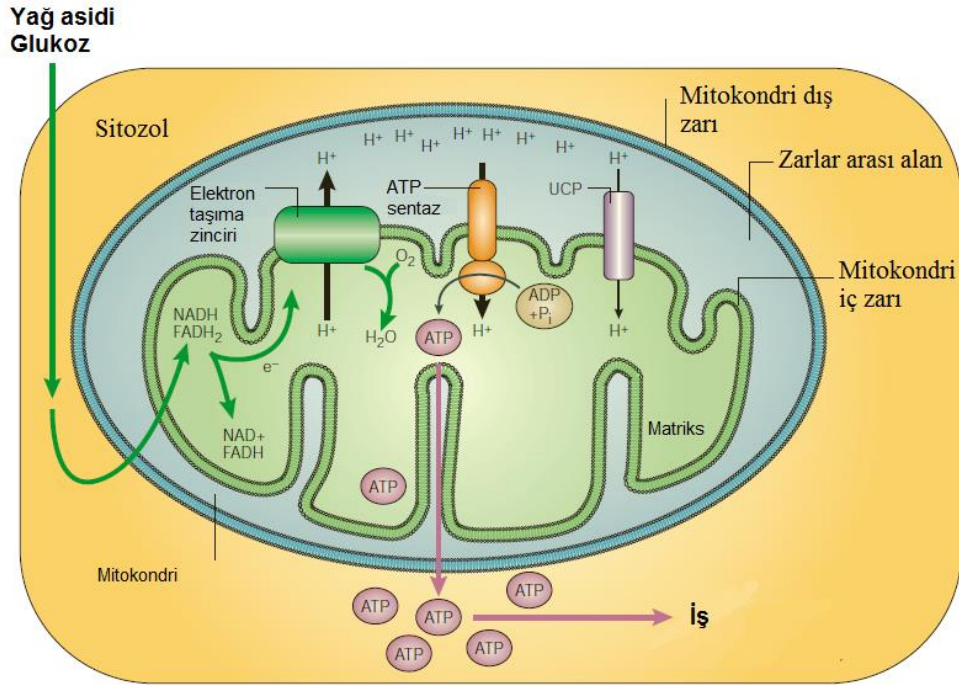
1.1.4. İrisinin Santral Nöron Sistemdeki Potansiyel Roller

FNDC5 ve irisinin iskelet kası ile adipoz doku arasındaki sinyal iletiminin yanında, merkezi sinir sisteminde bir takım rollere sahip olabileceği düşünülmektedir. Aslında PGC1- α 'nın FNDC5 üzerine olan etkisi yapılan çalışmalar ile aydınlatılmış olursa da, örneğin beyin gibi önemli dokularda bu moleküllerin öncelikli fizyolojik fonksiyonları açık değildir [27-29].

Bu kapsamda yapılan son immünohistokimyasal çalışmalar, sıçan ve fare beyincisindeki Purkinje hücrelerinin irisin ifade ettiğini ortaya koymuştur [5]. Ayrıca aynı araştırmacılar “beyincikte üretilen irisinin medulla ve omurilikte birçok aracı sinaps ile adiposit metabolizmasını düzenleyici bir faktör olabileceğini” teyit edilmesi gereken bir hipotez olarak ortaya atmışlardır [5]. Hashemi vd. FNDC5'in fare embriyonik kök hücrelerinde yeterli sinir farklılaşmasının gerçekleşmesinde gerekli olduğunu ortaya koymuştur [30]. Araştırmacılar bu çalışmada hem nöronal progenitör oluşumu hem de onların farklılaşması esnasında fare embriyonik kök hücrelerindeki FNDC5'in azaldığını belirlemiştir [30]. Diğer bir çalışmada hipokampal nörogenezin irisin tarafından doz bağımlı olarak düzenlendiği belirtilmiştir [31]. İrisinin fizyolojik konsantrasyonları (5-10 nmol/L) fare H19-7 hipokampal nöronal hücre çoğalması üzerinde herhangi bir etkiye sahip değilken farmakolojik konsantrasyonlarda (50-100 nmol/L) proliferasyon düzeyi artmıştır [31]. Bu kanıtların hepsi irisinin merkezi bir takım roller üstlenebileceğini göstermektedir. Bu bakımdan irisin alzheimer hastalığında başlıca etkilenen bölge olarak hipokampus üzerine egzersizin nörogenez etkisine aracılık edebilir [32, 33]. İrisinin parkinson ve diğer bazı nörodejeneratif hastalıklar üzerine egzersizin olumlu etkilerinde aracılık edebileceği düşünülmektedir [34-36]. Buna ek olarak bir termoregülatör peptid olan irisin vücut sıcaklığının merkezi kontrolünde hipotalamusun ilgili alanlarını uyarak bu süreçte aktif rol oynayabilir. İrisinin merkezi sinir sistem üzerine etkilerini belirten çalışma sayısı oldukça azdır. Yapılacak çalışmalar irisinin merkezi sinir sisteminde ne gibi roller üstlendiğini veya hangi fizyolojik ve moleküler süreçlere aracılık ettiğini belirlemede etkili olacaktır.

1.2. Uncoupling (Eşleşme Bozucu) Proteinler

Mitokondriyal taşıyıcı proteinler ailesinden olan UCP'ler mitokondrinin iç membranında sentezlenir [37]. Bu proteinler mitokondriyal membranın fonksiyonunda ve hücresel enerji düzenlenmesinde rol alırlar [38, 39]. Yağ asitleri ve glukoz tarafından aktivitesi artan UCP'ler pürin nükleotidleri tarafından inhibe edilir [40, 41]. UCP'ler, mitokondrinin membranlar arası alandaki protonları mitokondri iç zarı içerisine taşıyarak, mitokondriyal proton gradiyentini azaltırlar ve sonuç olarak oksidatif fosforilasyon aracılığı ile ATP üretimini engellemiş olurlar (Şekil 1.2) [3, 42].



Şekil 1.2. Mitokondriyal enerji düzenlenmesi ve UCP'ler. Elektron taşıma zinciri boyunca elektronların aktarılması, mitokondriyal matrikste bulunan sabit sayıdaki protonun mitokondrinin iç membranından geçerek membranlar arası alanda birikmesine ve buda iç membrana karşı bir proton gradiyentinin oluşmasına neden olur. Protonlar mitokondriyal iç membran alanından mitokondriyal matrikse doğru geri aktarıldıkça bu proton gradiyentinde korunan enerji adenozin difosfat (ADP) ve inorganik fosfatlardan ATP'nin sentezine kadar ATPsentaz tarafından kullanılır. Mitokondrinin iç membranı üzerinde yer alan UCP'ler membranlar arasında bulunan bu protonları mitokondriyal matrikse tekrardan geçiren bir kanal görevi görür. UCP'ler tarafından gerçekleştirilen bu aktarım süresinde, ATP sentazdaki proton akışı azalır ve ATP sentezi kısmen engellenmiş olur. Sonuç olarak okside substratlardan sağlanan enerji proton gradiyenti ile dağıtılır ve biriken enerji ısı olarak ortama yayılır [38].

1.2.1. UCP Homologları ve Yapısal Özellikleri

UCP1 arketip (orijinal) eşleşme bozucu protein olarak kabul edilir ve UCP'lerin anlaşılmasında UCP1 hakkındaki çalışmalar oldukça önemlidir [43]. UCP2 ve UCP3, UCP1 ile yakından ilişkilidir ve yapısal olarak yaklaşık %60 benzerlik gösterdiklerinden UCP1 homologları olarak kabul edilir. Bunun aksine UCP4 ve UCP5 (BMCP1; Beyin mitokondriyal taşıyıcı protein-1 olarak da bilinir) daha farklıdır ve UCP1 ile yaklaşık olarak %30 benzerlik gösterirler (Tablo 1.1) [38].

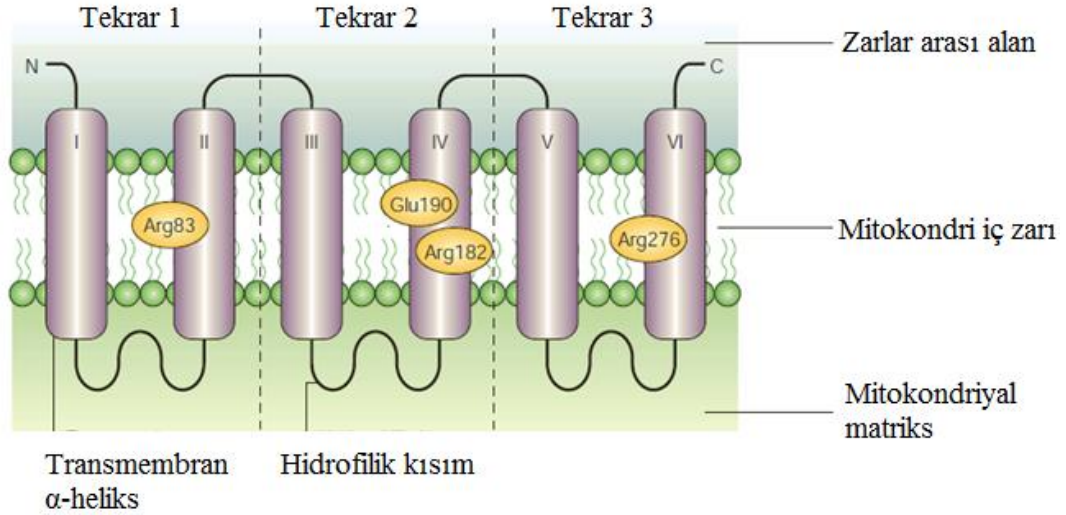
Tablo 1.1. UCP1'in diğer UCP'ler ile homolojisi [38].

Protein	% Özdeşlik
UCP1	100
UCP2	59
UCP3	57
UCP4	30
UCP5 (BMCP1)	33

UCP'lerin farklı üyelerinin belirli hücre dağılımları vardır. UCP1 kahverengi yağ dokuya spesifik bir proteindir [44, 45]. UCP2 dalak, pankreas adacık hücreleri, akciğer, mide, beyaz yağ doku, beyin ve periferik nöronların arka kök gangliyonlarında eksprese edilir [44-48]. UCP3 öncelikle kaslarda ve az miktarda nöronlarda tespit edilmiştir [45, 48, 49]. Yapılan çalışmalarda UCP4 ve UCP5'in merkezi sinir sisteminde yüksek düzeyde bulunduğu ayrıca UCP5'in testis dokusunda varlığı belirtilmiştir [50-52].

Şimdiye kadar sadece UCP2'nin kristal yapısını belirlemeye yönelik birtakım çalışmalar mevcut olmasına karşın [53], genel olarak UCP'lerin sahip olduğu kristal yapının mitokondri iç zarında bulunan ADP/ATP taşıyıcı proteinler ile benzer olduğu düşünülmektedir [54, 55]. Buna göre UCP'ler her biri yaklaşık 100 aminoasitten oluşan üç tekrarlı bir yapıya sahiptir. Her bir tekrar transmembran α -heliks oluşturan iki hidrofobik bölge içerir. Her bir tekrar içinde, membranın matriks tarafına doğru yönlendirilmiş uzun bir hidrofilik döngü (ilmik) iki ekli heliksleri bağlar (Şekil 1.3). Fonksiyonel UCP'lerin iki özdeş alt birimden oluşan bir dimer olduğu düşünülmektedir [56]. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda, α -heliks demetlerinin UCP çekirdeğinde hidrofilik bir

kanal oluşturduğunu ve bu çekirdeğe erişimin kapılar (hidrofilik döngüler tarafından oluşturulan) aracılığı ile kontrol edildiği öngörüsü oluşmuştur [57].



Şekil 1.3. UCP'lerin üçlü tekrardan oluşmuş yapısının şematik gösterimi [38].

1.2.2. UCP'ler ve Merkezi Sinir Sistemi

Merkezi sinir sistemi vücudun organizasyonunu gerçekleştiren, çevresel uyarılara karşı cevap oluşturmamızı sağlayan ve içerisinde yüz milyonlarca sinirsel bağlantıyı barındıran oldukça karmaşık bir yapıdır. Bu yapı içerisinde yer alan nöronlar işlevleri gereği mitokondri yoğunluğu fazla olan hücrelerdir. Nöronal ağ içerisinde yer alan mitokondriler başta sinirsel ileti için gerekli olan enerjiyi üretmenin yanı sıra nöronal yaşamın devamı için gerekli olan kalsiyum dengesini de sağlayan bir yapıdır. Yapılan araştırmalar doğrultusunda mitokondri iç zarında eksprese edilen UCP'lerin merkezi sinir sistemi içerisinde ki rolleri aşağıda sınıflandırılmıştır.

1.2.2.1. Termal Sinapslar

Kahverengi yağ doku içerisindeki UCP1 vücut sıcaklığının düzenlenmesinde anahtar protein olmasına karşın, bu sürece UCP2-5 çok az katkıda bulunur [52, 58-60]. Nöronal UCP'ler presinaptik sinir terminallerindeki mikro ortamın sıcaklığını etkileme yeteneğindedir. Gerçekten de UCP'lerce zengin merkezi sinir sistemi bölgelerinin

(hipotalamus gibi) lokal sıcaklıkları, UCP'lerce yoksun diğer alanlara kıyasla daha yüksektir. Örneğin hipotalamus ile karşılaştırıldığında striatum ve talamusta ki lokal sıcaklık yaklaşık %2.7 oranında daha düşüktür. Nöronal mikro ortamda gözlenen bu sıcaklık artışının artan UCP aktivitesi ile ilişkili olduğu ve ortamdaki ısı üretiminin UCP'lerce etkilendiği gösterilmiştir [61]. UCP'lerin nöronal mitokondrilerdeki ifade düzeyi göz önüne alındığında, akson terminalinde bulunan sinaptik veziküllerin sayısı arttıkça UCP aktivasyonuna bağlı olarak sıcaklık oluşumu gözlenir. Bu presinaptik sıcaklık değişiminin sinir iletimi ve nörotransmitter salınımı ile geri alımı süreçlerinden etkilediğini varsayabiliriz.

1.2.2.2. Kalsiyum Regülasyonu

Mitokondriler hücre içerisine kalsiyum alımı ve kalsiyumun depolanmasında önemli bir yere sahiptir. Mitokondriyal kalsiyumun içe veya dışa akımı (potansiyel-odaklı kalsiyum uniporter yoluyla) iç mitokondriyal membranın potansiyeline bağlıdır [62]. Mitokondriyal membran potansiyelindeki önemli bir artış mitokondri içine kalsiyum girişine, membran potansiyelindeki önemli bir düşüş ise mitokondriyal kalsiyumun serbest bırakılmasına neden olur. Mitokondri içerisinde önemli sitozolik kalsiyum tamponlarını barındırır, çünkü alınan kalsiyum diğer ikinci haberci moleküllerine benzer şekilde metabolize olmaz. Bu nedenle, hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesi oldukça önemlidir [2]. Örneğin, nöronal hücre kültürüne kısa süreli uygulanan eşleşme bozucu (uncoupling) ajanların mitokondriyal membran potansiyelini düşürerek kalsiyum girişini engellediği ve hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir [63]. Diğer bir araştırmada ise kardiyomiyositlerde UCP2 düzeyindeki artışa bağlı olarak mitokondriyal membran potansiyelinin kısmen düştüğü ve buna bağlı olarak mitokondriyal kalsiyum girişinin azaldığı bildirilmiştir [64]. Nöronal UCP'lerin mitokondriyal membran potansiyelini düzenleyici etkisi, nöronal kalsiyum homeostazının korunmasına temel oluşturmaktadır. Bu bakımdan UCP'lerin hem presinaptik kalsiyum seviyesinin ve akson terminalindeki kalsiyum ortamının düzenlenmesinde hem de doğrudan sinir iletiminin gerçekleşmesinde etkili olması beklenir.

1.2.2.3. ATP Üretimi ve Mitokondriyal Biyogenez

Hücrenin enerji üretiminde UCP'ler oldukça önemli proteinlerdir. Örneğin, pankreatik beta hücrelerindeki UCP2 düzeyinin artışı ATP/ADP oranının azalmasına ve bu durum sonuç olarak daha az insülin salgılanmasına neden olur [65]. Bununla birlikte mitokondriyal eşleşmemişliğin indüklenmesi hipokampus ve kas dokuda ATP ve ADP seviyesini yükseltir [66, 67]. Mitokondriyal eşleşmemişlik mitokondri başına ATP üretimini azaltır. Buna rağmen UCP'ler nöronal ve adipoz dokuda mitokondriyal çoğalmayı tetikler ve böylece belirgin şekilde hücrede üretilen ATP ve ADP artmış olur [66, 68, 69]. PGC1- α kas hücrelerinde UCP2 indüksiyonu ile mitokondriyal biyogenezi ve solunumu uyarır [70]. Ayrıca yüksek kapasiteli aerobik serum insülin düzeyini ve iskelet kasında UCP2 ifadesini artırır [71]. Nöronal ve kas dokuda mitokondriyal biyogenezin oluşması ve ATP üretiminin artması olaylarında farklı UCP'lerin görev alması bu proteinlerin dokuya özgü roller üstlendiğinin bir göstergesi olabilir.

1.2.2.4. Nöronal UCP'ler ve Reaktif Oksijen Türleri

Nöronal UCP'ler reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azaltarak, buna bağlı oluşan oksidatif stres ile nörodejeneratif hasarın önlenmesinde önemli yapılardır. Mitokondriyal membran potansiyelindeki bir artış iç mitokondriyal zarın yakınında ROS üretimini teşvik etmektedir, buda moleküler oksijene elektron taşıma zinciri bileşenlerinden “rastgele” tek elektron transfer reaksiyonlarını artırır [72]. UCP2 yoluyla artmış mitokondriyal eşleşmemişlik ROS üretimini veya oksidatif stresi azaltır, farmakolojik ve fiziksel hareketlere tepki olarak nöron koruyucu etki gösterir [66, 73, 74]. UCP4'ün aşırı ekspresyonu nöron kültüründe bazal mitokondriyal ROS üretimini azaltır ve neyrotoksinlere maruz kaldıktan sonra ROS üretimini sınırlar [75]. Benzer şekilde, BMCP1 (UCP5) ifade eden hücrelerde mitokondriyal ROS üretimi baskılanmış ve mitokondriyal eşleşmemişlik artmıştır [45]. Sonuç olarak yapılan çalışmalar ile UCP'lerin farklı dokulardaki oksidatif ürünleri ve buna bağlı doku hasarını azaltabileceği vurgulanmaktadır.

1.2.2.5. Sinaptik İletim ve Plastisite

Sinaptik iletim sırasında nöronlar, iyon gradyanları ve ATP kullanımındaki dalgalanmanın bir sonucu olarak oksidatif ve metabolik stres ile tekrarlanan nöbetlere maruz kalmaktadır. Mitokondri, sinaptik iletkenliğin devamı için ATP üretimini ve kalsiyum homeostazını düzenleyen bir yapıdır [76]. Sinaptik fonksiyon UCP ekspresyonunu etkileyen hipotermi, hipertermi ve oksidatif stres gibi durumlar karşısında değişmektedir [77-80]. Bu nedenle, UCP2, UCP4 ve UCP5'in mitokondriyal membran potansiyeli ve serbest radikal üretimini azaltıcı özellikleri ve nöronlarda mitokondriyal biyogenezi geliştirmeleri, bu proteinlerin sinapslarda lokal sıcaklık değişimi, ATP ve ROS üretimi ile kalsiyum düzenlenmesinde değişiklik yapabileceğini gösterir. Aşırı UCP2 aktivasyonu sonucu hücre içi ATP seviyesinin azaldığı ve dopamin salgılanmasının inhibe edildiği belirlenmiştir [81]. Bu proteinin aşırı ekspresyonu mitokondriyal membran potansiyelini değiştireceği ve ATP konsantrasyonunu düşüreceği için hücrenin fonksiyonunda önemlidir. Bu nedenle, ATP seviyesi ve dopamin salgılanmasındaki azalma şaşırtıcı değildir [73]. Araştırmacılar sınırlı bir süre boyunca akut fazda aktive olan UCP'ler ile kronik fonksiyonunu sürdüren nöronal UCP'ler arasında belirgin bir farklılığın olduğunu belirtmektedir. Akut olarak, mitokondriyal çoğalma gerçekleşmeden önce, artan eşleşmemişlik ATP üretimini azaltacağından mitokondri fonksiyonunu olumsuz etkiler [2]. Ancak artan eşleşmemişlik en azından bazı nöronal alanlarda moleküler mekanizması hala aydınlatılmamış olmasına rağmen mitokondriyal çoğalmayı tetiklemektedir. Bu durum artan mitokondri sayısına paralel olarak ATP konsantrasyonunda genel bir artışla sonuçlanmaktadır [66].

Morfolojik plastisite dentritik uzantılar içerisindeki mitokondriyal hareketlilik ile ilişkilidir ve mitokondrilerin dendritik dağılımı sinapslara destek için önemlidir. Dentritlerdeki mitokondriyal dağılımı sinaptik etkinliğin hareketliliği ve mitokondrinin füzyon/fisyon dengesi kontrol eder [82, 83]. Bu durum mitokondrinin doğrudan sinaps düzenlenmesinde önemli roller üstlendiğini göstermektedir. Ayrıca UCP'lerin mitokondri çoğalmasını teşvik ettiği düşünüldüğünde, nöronal alanda etkin olan başta UCP2 ve diğer UCP'lerin doğrudan sinaptik plastisiteyi etkileyebileceklerini varsaymak mantıklı olacaktır.

1.2.2.6. Ağrı ve Tolerans

Ağrı hissi, duyarlılığı ve toleransı santral ve periferik mekanizmalar içerir. Nöronal UCP'ler subkortikal bölgelerde ve omurilikte gösterilmiş olup, özellikle UCP2 çeşitli beyin bölgelerinde primer duyuşal aferentlerinin yoğun olarak bulunduğı alanlarda ifade edilmektedir [84, 85]. Omuriliğın dorsal boynuzunda UCP2 ile birlikte nonspesifik uyarılara aracılık eden P maddesi ve N-metil-D-aspartik asit (NMDA) glutamat reseptörlerinin ekspresyonu belirlenmiştir [86, 87]. Bu çalışmalar UCP2'nin ağrı ve sıcaklık regölasyonuna dahil olduğunu göstermektedir. UCP2'nin aşırı ekspresyonu farelerde ağrı eşiğini artırmaktadır. UCP2 nakavt farelerde artmış etanol hassasiyetine kıyasla vahşi tip farelerde etanol duyarlılığının azaldığı gösterilmiştir [88]. Ayrıca etanol ile indüklenen UCP2 ifadesi ağrı ve sıcaklık hissi düşüklüğü ile ters korelasyon göstermektedir. UCP2'nin hangi mekanizmalar üzerinden bu süreçlere etki ettiğı kesin olarak bilinmemektedir. Fakat UCP2 aracılığı ile düzenlenen bazı olayların (ATP konsantrasyonu, kalsiyum homeostazı ve serbest radikal üretimi) bu süreçlerde etkili olduğu düşünülmektedir [89, 90]. Ağrının iletimi ve algılanması gibi süreçlerde UCP3, UCP4 ve UCP5'in rolünü açıklayan herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır.

1.2.2.7. Nörodejenarasyonda UCP'ler

Sinaptik plastisite ve sinaptik nörotransmisyonlar üzerine nöronal UCP'lerin etkileri henüz tam olarak tespit edilememiştir. Bununla birlikte, mevcut kanıtlar mitokondriyal homeostazın sürdürülebilmesinde UCP'lerin hayati öneme sahip proteinler olduğunu göstermektedir [91]. Nöronal UCP'lerin eksikliği mitokondriyal disfonksiyonu (ATP azalması, oksidatif stres ve artan kalsiyum düzensizliği) başlatır ve nörodejeneratif patolojiyi etkileyen bütün bu olumsuzluklar sonuç olarak plastisite ve sinir iletimini etkileyebilir. Araştırmacılar epilepsi, parkinson, şizofreni, iskemi ve travmatik beyin hasarı, alzheimerda nöronal UCP'lerin birtakım roller üstlenebileceğini düşünmektedir [2]. Bu ve buna benzer nöronal hastalıkların UCP'ler ile doğrudan veya dolaylı ilişkisi yapılan çalışmalar ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır [92, 93]. Örneğın epilepsi dünya nüfusunun %1'inden fazlasını etkileyen ve aşırı uyarıcı aktivite ile karakterize edilen bir hastalıktır. Epilepsi moleküler yolları tetikleyerek eksitotoksik nöronal ölüme yol açtığından nöronlar için zararlıdır [94]. Ayrıca epileptik hareketlilik hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik

oksitin (NO) dahil olduğu serbest radikal metabolitlerinin ortaya çıkmasına ve apoptoza neden olur [95, 96]. Mitokondrinin eksitotoksik hücre ölümünde belirgin bir rolü vardır. Bu hücre ölümleri spesifik olarak hücre kalsiyum homeostazı ile ilgilidir. Mitokondriyal kalsiyum akını ve kalsiyum homeostazının korunması mitokondriyal membran potansiyeli ile doğrudan ilişkili bir srettir [62]. Nöronal UCP'lerin aktivasyonu bu potansiyeli azaltarak mitokondri içerisine aşırı kalsiyum akışını engeller ve kalsiyum homeostazının dengelenmesiyle de nöronların hayat akışını olumlu yönden etkileyebilir. Gerçekten de bazı *in vitro* alışmalar, mitokondriyal eşleşmemişliğin mitokondriyal kalsiyum yükünü azalttığını ve eksitotoksik hücre ölümünü inhibe ettiğini göstermiştir [63, 97, 98]. Ayrıca UCP2 transfer edilen PC12 hücrelerinde, H₂O₂ ve NO ile indüklenen oksidatif stres kaynaklı ölümlerin engellediği belirlenmiştir [66]. Bundan başka, UCP2'nin aşırı ifadesi fare hipokampal CA1 hücrelerinde nöronal hayatta kalmayı arttırmış ve kainik aside (deneysel epilepsi modellerinde kullanılan güçlü bir merkezi sinir sistem uyaranı) maruz kaldıktan sonra oluşan oksidatif stresi de azaltmıştır [2, 99]. Sonuç olarak mevcut çalışmalar ışığında UCP aktivitesinin epilepsi sonucu oluşan nöron hasarını ve oksidatif stresi engelleyebildiği söylenebilir.

Dünyada alzheimer hastalığından sonra ikinci en sık görülen nörodejeneratif rahatsızlık olan parkinson hastalığı, beyindeki dopaminerjik nöronların haraplanması veya ölümüyle ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu hastalık ile mitokondriyal eşleşmemişlik arasındaki bağıntı irdelenmeye çalışılmıştır. Örneğin UCP2-nakavt farelerin uygulanan 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP; Substantia nigra'daki dopaminerjik nöronları tahrip eden bir ajan) nörotoksik ajanına karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Özellikle, UCP2 eksikliği substantia nigra'da mitokondri sayısını ve mitokondriyal eşleşmemişliği azaltmış, nöron başına ROS üretimini ise arttırmıştır [68]. Buna ek olarak, UCP2 ifadesinin artması mitokondriyal eşleşmemişliğin artmasına ve vahşi tip kontrollere kıyasla *in vivo* ROS retiminde azalmaya neden olmuştur. Aynı çalışmada araştırmacılar UCP2-nakavt farelere MPTP uygulamasından sonra substantia nigra'daki dopaminerjik nöron kaybının vahşi tip farelere göre daha fazla olduğu ve strial dopamin içeriğinin azaldığı belirlenmiştir [68]. Bu değişiklikler UCP2'nin substantia nigra'da stres faktörlerini engellediğini, dopamin işlevi için önemli olduğunu ve nöronların zararlı endojen veya eksojen toksinlere karşı duyarlılığı azalttığını göstermektedir. Dahası parkinson hastalığı modellerinde UCP2, UCP4 ve UCP5 seviyesini arttıran diyet kısıtlaması ve 2-deoksiglukoz yönetimin davranışsal sonuçları geliştirdiği ve dopaminerjik

nörodejenerasyonu azalttığı bildirilmiştir [100-102]. Bütün bu sonuçlar mitokondriyal biyogenezi doğrudan teşvik eden UCP'lerin parkinson hastalığına neden olan faktörleri kısmen de olsa engellediğini ve nöron koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

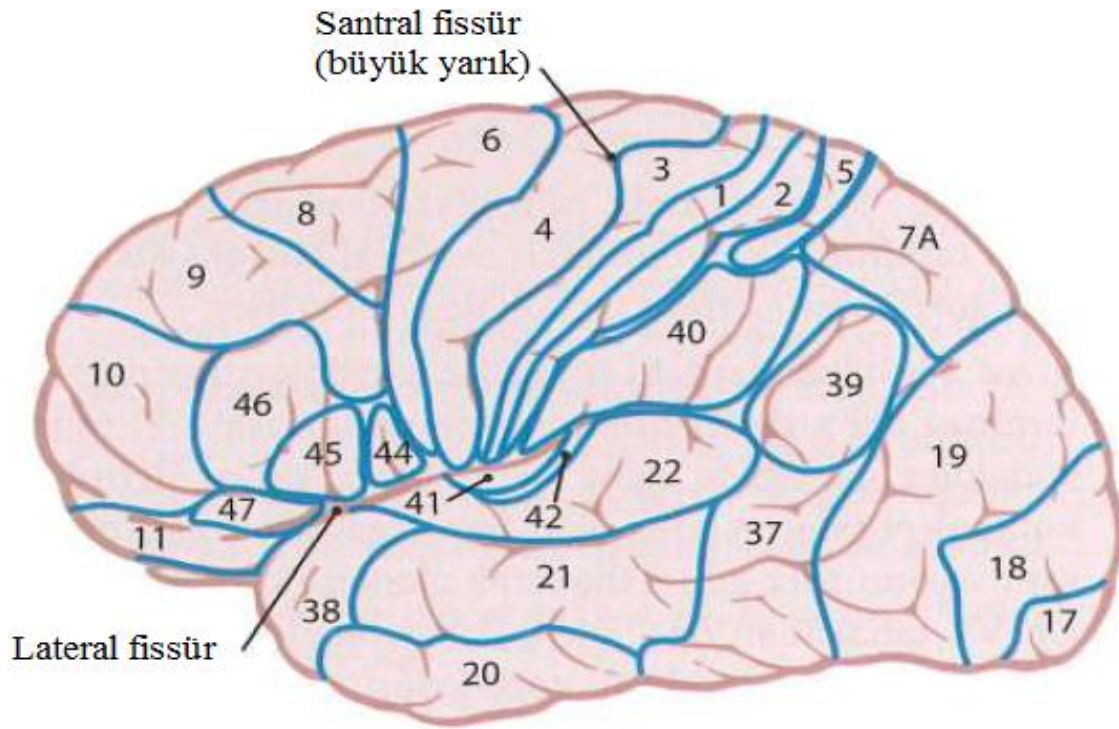
Yapılan araştırmalar insan yaşamını olumsuz etkileyen ve henüz tedavisi kesin olarak bulunamayan birçok nörolojik hastalığın gelişiminde mitokondrilerin doğrudan veya dolaylı olarak etki edebileceğini göstermektedir. Nöron hücrelerindeki mitokondriyal yoğunluk ve bu organelin fizyolojik işlevi nöronların canlılığını etkileyen önemli bir faktördür. Nöronal canlılığın sağlıklı bir şekilde devamı mevcut birçok nörodejenaratif hastalığın önlenmesinde oldukça önemlidir. Mevcut literatür bilgileri doğrultusunda UCP'lerin mitokondriyal proliferasyonu arttırdığı ve oksidatif stresi azaltarak hücre ölümünü geciktirdiği düşünülürse, bu proteinlerin nörodejenaratif hasarın kısmen de olsa engellenmesinde rol oynayabileceği söylenebilir.

1.3. Merkezi Sinir Sistem Bölümleri ve Fizyolojik Önemi

1.3.1. Korteks

Beyin korteksi periferik ve içsel duyuvarın algılanması, duyuvar arasında ilişkinin kurulması ve değerlendirilmesi, öğrenme ve bellek oluşumu, hareketlerin yürütülmesi ve iç dengenin korunması gibi olaylarda kontrol noktası olarak görev yapar. Serebral hemisferin (telensefalon) çatısını bilateral şekilde kaplayan serebral korteks, nöronlar, astrositler, oligodendrositler, kan damarları ve endimadan oluşur. Endimal katman lateral ventriküldeki beyin-omurilik sıvısı ile temas halinde, korteksin dış yüzeyi ise meninks ile kaplıdır [103]. Korteksin toplam alanı 285 bin mm², hacmi ise 300 cm³'dür [104]. Serebral korteksin büyük bölümünü oluşturan neokorteks altı katman halinde organize olmuş nöronlardan oluşur. Her katmanın korteks içinde ve subkortikal yapılar ile ayrı bağlantıları vardır. İki ana kortikal nöron grubu bulunur: yaklaşık %80 oranında projeksiyon nöronlar (aksonları uzun sinaptik sonlanmalar gerçekleştirir) ve geriye kalan %20 oranında lokal devre nöronları (internöronlar). Projeksiyon nöronlar uyarıcıdır ve nörotransmitter olarak büyük oranda glutamati kullanırlar. Bunun aksine internöronlar genellikle baskılayıcı nöronlar olarak görev yaparlar ve gamma-aminobütirik asit (GABA) ile diğer nörotransmitterleri kullanırlar [103].

Yapısal olarak farklılıklar gösteren korteks fonksiyonel olarak da birçok farklılığı içinde barındırır. Esas olarak histolojik yapısal farklılıklar içeren ve Brodmann alanları olarak adlandırılan 52 farklı alan serebral kortekste yer alır ve kendi hücre organizasyonlarına sahiptir. Bu sınıflandırma birçok açıdan önemlidir, çünkü insan korteksinin farklı işlevsel alanlarını belirtmek için bu alanda çalışan bilim insanları fiilen bu haritayı kullanır (Şekil 1.4) [105].



Şekil 1.4. İnsan serebral korteksinin Brodman alanları olarak adlandırılan yapısal olarak farklı bölgeleri [105].

1.3.2. Hipotalamus

Omurgalılarda hipotalamus merkezi sinir sisteminin mediobasal bölgesinde, hipofiz bezinin dorsalinde ve talamusun ise ventralinde yer almaktadır. Bu yapı anteriorda bulunan optik kiazma ve posteriorda bulunan mamiller gövdeye kadar uzanır. Hipotalamus periventriküler, medial ve lateral olarak üç bölgeye ayrılmıştır. Periventriküler alan; paraventriküler çekirdek (PVN), arkuat çekirdek (ARC), suprakiazmatik çekirdek ve periventriküler çekirdek olarak isimlendirilen dört farklı hücre kümesi içerir. Medial hipotalamik bölge medial preoptik çekirdek, anterior hipotalamus, dorsomedial çekirdek,

ventromedial çekirdek ve mamiler çekirdekten oluşur. Lateral hipotalamus preoptik alanı ve hipotalamik alanı oluşur. Parvoselüler ve magnoselüler nörosekretuar sistemler hipotalamik nörosekretuar hücre gruplarından oluşurlar ve hipotalamus boyunca yer alırlar [106].

Hipotalamustan salgılanan tiotropin serbestleştirici hormon (TRH; PVN'nin medial parvoselüler alt ünitesinin medyalinde yer alır), kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH; medial parvoselüler alt ünitesinin lateralinde yer alır), büyüme hormonu serbestleştirici hormon (GHRH; ARC'nin lateral bölgesinde yer alır), somatostatin (PVN'de yer alır), gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH; preoptik alanın medyalinde yer alır), dopamin (ARC'nin medyalinde yer alır) ve son zamanlarda keşfedilen gonadotropin-inhibe edici hormon (GnIH, kemirgenlerde dorsomedial çekirdeklerin içinde yer alır) ön hipofizden hormon salgısını düzenler (Tablo 1.2). Magnoselüler nörosekretuar sistemin nöronal hücreleri vazopressin ve oksitosin salgılar ve bu hormonlar arka hipofize taşınarak buradan sistemik dolaşıma geçerler [106, 107]. Hipotalamus, hipofiz bezindeki hormon sentezini ve salgılanmasını, otonom sinir sistemi aktivitesini, enerji alımı ve harcamasını, vücut sıcaklığının düzenlenmesini, üreme ve üreme davranışı gibi birçok fizyolojik olayı geniş bir yelpazede etkiler.

Tablo 1.2. Ön hipofiz bezinin salgısını kontrol eden serbestletici ve baskılayıcı hipotalamusun hormonları

Hormon	Ön hipofiz bezindeki birincil etkisi
Tiotropin Serbestleştirici Hormon (TRH)	Tirotroplardan TSH salgılanmasını uyarır
Gonadotropin Serbestleştirici Hormon (GnRH)	Gonadotroplardan LH ve FSH salgılanmasını uyarır
Kortikotropin Serbestleştirici Hormon (CRH)	Kortikotroplardan ACTH salgılanmasını uyarır
Büyüme Hormonu Serbestleştirici Hormon (GHRH)	Somatotroplardan büyüme hormonu salgılanmasını uyarır
Büyüme Hormonu Baskılayıcı Hormon (Somatostatin)	Somatotroplardan büyüme hormonu salgılanmasını baskılar
Prolaktin Baskılayıcı Hormon (PIH)	Laktotroplardan prolaktin salgılanmasını baskılar

TSH, Tiroid uyarıcı hormon; LH, Luteinleştirici hormon; FSH, Folikül uyarıcı hormon; ACTH, Adrenokortikotropik hormon

1.3.3. Hipofiz

Hipofiz bezi vücut homeostazının gelişim süreci, stres ve diğer fizyolojik süreçlerde anahtar rol oynayan bir düzenleyici, hipotalamus ve periferik organlar arasında fizyolojik sinyal alışverişinin gerçekleştiği bir aracı organdır. Yaklaşık 1 cm çapında ve 0.5-1 g ağırlığındaki hipofiz bezi beyin tabanında sella turcica adında kemik bir kovuk içine yerleşmiş, diaphragm sellae adındaki duranın kıvrımıyla kaplıdır. Hipofizin hipotalamusa fonksiyonel ve anatomik bağlantısı infundibular sap üzerinden medyan eminens aracılığı ile gerçekleşir ve bu yapı hipotalamik faktörlerin hipofiz bezine ulaşımını sağlar [108]. Anatomik ve fonksiyonel olarak hipofiz bezi iki loba ayrılır: adenohipofiz (ön hipofiz) ve nörohipofiz (arka hipofiz).

Adenohipofiz anatomik ve fizyolojik olarak üç bölgeye ayrılmıştır:

1. Pars tuberalis (aynı zamanda pars infundibular olarak da bilinir) alt hipofizyel sapın dış bölgesini çevreleyen birkaç kat hücre tabakasından oluşan dış kısımdır. Bu kısım tuberalin olarak isimlendirilen bir faktör aracılığıyla prolaktin sekresyonunu uyarır [109]. Ayrıca pars tuberalis üzerinde lokalize olan melatonin reseptörlerinin varlığı bu alanın fotoperiyodik işlevselliğide düşündürmektedir [110].
2. Pars intermedia (aynı zamanda ara lob olarak da bilinir) arka hipofiz ve ön hipofiz arasındaki marjinal alanda lokalize olmuştur. İnsanlarda ara lob fazla gelişmemiştir ve Rathke kesesinin körelmiş arka uzantısı şeklindedir. Bu alan daha düşük omurgalılarda melanotrop hücreleri içerir ve endorfinlerde dahil olmak üzere melanosit stimüle edici hormon gibi birtakım biyoaktif peptidi salgılar, melanin üretimi ve dağılımını düzenlerler [111]. Bazı türlerde pars intermedya ve melanotroplar hipotalamustan kaynaklanan sinir lifleri tarafından desteklenmektedir. Memeli türlerinde dopamin, nörepinefrin, GABA ve serotonin içeren farklı sinir sonlanmaları tanımlanmıştır.
3. Pars distalis, ön hipofizin yaklaşık %80'lik kısmını oluşturur ve ön lob olarak isimlendirilir. Fonksiyonel birim olarak farklı hücre grupları içeren bu bölüm sitokinler, büyüme faktörleri ve birçok hormon yapımını gerçekleştirir (Tablo 1.3) [108]. Hormon salgısı büyük ölçüde kandaki faktörler tarafından düzenlenir. Hipotalamus-hipofiz portal sistem aracılığıyla hipotalamustaki özel nöronlarda meydana getirilen hipotalamusun serbestleştirici ve baskılayıcı hormonları ön hipofize taşınır. Serbestleştirici ve baskılayıcı hormonların işlevi ön hipofiz hormonlarının salgısını kontrol etmektir [105]. Bütün bu

düzenleyici mekanizmalar hipofiz bezinin homeostatik süreçte dinamik rol üstlenmesini sağlar.

Tablo 1.3. Ön hipofizde yer alan hücre grupları ve salgıladıkları hormonlar

Hücre grubu	Hormon	% Hücre miktarı
Laktotroplar	PIH	15
Gonadotroplar	LH, FSH	10
Tirotroplar	TSH	5
Somatotroplar	GH	40-50
Kortikotroplar	ACTH	15-20

PIH, Prolaktin; LH, Luteinleştirici hormon; FSH, Folikül uyarıcı hormon; TSH, Tiroid uyarıcı hormon; GH, Büyüme hormonu; ACTH, Adrenokortikotropik hormon

Nörohipofiz olarak bilinen arka hipofiz bezi asıl olarak özelleşmiş glia hücreleri olan pituisit hücrelerden oluşmuştur. Bu hücreler esas olarak hipotalamusun supraoptik ve PVN çekirdeklerinden arka hipofize kadar uzanan terminal sinir sonlanmalarını (magnoselüler nöronlar) çevreleyerek destek doku görevi üstlenir ve aynı zamanda nörohipofiziyal hormon üretiminin düzenlenmesine katkıda bulunabilir [112]. Hipotalamustaki magnoselüler nöronlarda sentezlenen antidiüretik hormon (vazopresin) ve oksitosin sinir yolağı boyunca taşınarak arka hipofize salgılanır.

1.3.4. Hipokampus

Hipokampus filogenetik olarak en eski beyin bölgelerinden birisidir. Bu yapı lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanan, yaklaşık 5-8 cm uzunluğunda ve C harfi şeklinde bir gri cevher tabakasıdır. Ventriküle bakan yüzü konveks, hemisferin alt kısmına bakan yüzü ise konkavdır [113]. Hipokampusun bir ucu amigdaloid çekirdeklere dayanır, bir kenarı da temporal lobun ventromedyal korteksini oluşturan ara hipokampal girus ile kaynaşır [105].

Hipokampus kendisiyle bağlantılı temporal ve paryetal lob yapıları ile birlikte hipokampal formasyon olarak adlandırılır ve hipotalamus, serebral korteks ve amigdala gibi temel limbik sistem bölgeleriyle çok sayıda bağlantı gösterir. Çevresel etmenlerin oluşturduğu her türlü duysal deneyim hipokampusun küçük bir bölümünü dahi olsa aktive

eder; buna karşılık hipokampus, özellikle en büyük iletişim yolu olan forniks yoluyla ön talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece hipokampus gelen duysal sinyalleri, farklı amaçlar için uygun davranışları başlatmak üzere içerisinden geçiren ek bir kanal rolü oynar [105].

Hipokampusun gerek beynin diğer bölgeleri ile olan bağlantıları gerekse kendi yapısının karmaşıklığı nedeniyle fonksiyonu uzun yıllar anlaşılamamıştır. İlk olarak hipokampusun sadece koku duyusunu algılamada görevli olduğu ileri sürülmüş, ancak daha sonra yapılan çalışmalar ile koku duyusunun doğrudan hipokampusa iletilmediği gösterilmiştir [114]. Yapılan çalışmalar ile bu yapının endokrin fonksiyonunun yanı sıra kan basıncının düzenlenmesi, bağışıklık sistemi, üreme davranışları ve nörodejeneratif hastalıkların oluşumu gibi birçok olayda etkili olduğu belirtilmiştir [115-120].

Hipokampus hafızanın (özellikle kısa süreli hafızanın) oluşumunda oldukça önemli bir role sahiptir [121, 122]. Epilepsi tedavisi için çift taraflı olarak hipokampusları cerrahi olarak çıkartılan insanlar önceden öğrenilmiş anıları makul bir düzeyde hatırlayabilmekte, ancak sözel simgelere dayanan yeni bilgi edinememektedirler. Bu kişiler gün içerisinde yaşadıkları olayları bir an için hatırlayabilir, saniyeler ile birkaç dakika arasında değişen kısa süreli bellek oluşturabilirler. Bunun aksine birkaç dakikadan fazla uzun süreli bellek oluşturma yetenekleri ya kısmen yada tamamen yok olmuştur [105]. Hipokampusları zedelenmiş kişiler, sözel veya simgesel tipte zeka gerektirmeyen fiziksel (motor) becerileri öğrenmede çoğu kez güçlük çekmezler. Örneğin bu kişiler birçok spor türünün gerektirdiği el çabukluğu ve fiziksel becerileri edinebilirler. Bu tip öğrenmeye beceri öğrenme veya refleks öğrenme adı verilir. Bu tip öğrenmenin temeli; zihindeki simgesel yineleme veya pekiştirme yerine, gereken ödevleri fiziksel olarak tekrar tekrar yinelemeye dayanır [105].

1.3.5. Striatum

Striatum ön beynin subkortikal bir parçasıdır. Bu yapı bazal ganglionların ana giriş çekirdeğidir ve prosedürel öğrenme, bellek ve motor fonksiyonlar için önemli nöral yapıları bünyesinde bulundurur [123, 124]. Bazal ganglionlar istemli hareketlerin gerçekleştirilmesi ve istenmeyen hareketlerin engellenmesi için gerekli olarak kabul edilir. Bazal ganglionların işlevi için striatumun önemi, nörolojik bozukluklardaki süreçlerin incelenmesiyle daha iyi anlaşılmıştır. Örneğin, parkinson hastalığında striatumda ki

dopaminerjik afferentler kaybolur. Sonuç olarak doğrudan ve dolaylı yollardan striyatal çıkış değiştiği için hareket yeteneği engellenir [125].

Striatal nöronlar histokimyasal, anatomik ve fizyolojik düzeyde karakterize edilmiştir [126]. Anatomik olarak striatum hücreleri iki ana sınıfa ayrılır: dikenli projeksiyon nöronlar ve dikensiz internöronlar. Dikenli projeksiyon nöronlar (aynı zamanda orta dikenli nöronlar olarak da bilinir) GABAerjik nöronlardır ve striatal nöronların büyük çoğunluğu temsil ederler. Dikensiz internöronların sayısı çok azdır ve anatomik olarak orta ölçekli GABAerjik hücreler ve geniş kolinerjik hücreler içinde sınıflandırılır [126, 127].

Huntington hastalığında striatal projeksiyon nöronlar işlevsizleşir ve dejenere olur. Striatumdan bazal gangliyon çekirdeklerine ileti kaybı sonucu kişilerde ağır motor işlev eksiklikleri görülür [124, 128]. Ayrıca striatumun disfonksiyonunda distoni, obsesif-kompulsif bozukluk ve bağımlılık gibi diğer nörolojik bozukluklar da ortaya çıkar [124, 129, 130]. Sonuç olarak striatumun fizyolojisini anlamak, yaşam süresince bazal ganglionların işlevini deşifre edebilmek için büyük önem taşımaktadır.

1.3.6. Serebellum

Serebellum (beyincik veya küçük beyin) serebral korteksin oksipital ve temporal lobları altında yatan, beyin arka kısmında bulunan ve yaklaşık 150-200 g ağırlığında bir yapıdır [131]. Serebellum toplam beyin hacminin yaklaşık %10'unu kaplamasına rağmen, toplam beyin nöronlarının yarısından fazlası bu yapı içerisinde yer alır. Serebellum anatomik olarak 3 loba ayrılır: ön (anteriyor) lob, arka (posteriyor) lob, flokülodüler lob [131]. Bu üç lobu kendi içerisinde 10 alt loba ayırmak mümkündür. Bu alt loblardan I-V'i serebellumun ön lobunda, VI-IX'u arka lobunda ve X. alt lob ise flokülodiler lob içerisinde yer alır [132]. Serebellumun derin çekirdekleri olarak isimlendirilen nükleus fastigi, nükleus globosus, nükleus emboliformis ve nükleus dentatus beyaz maddenin ventrali içerisine gömülü haldedir. Serebellumun tüm çıkışları serebellar derin çekirdeklerden köken alır. Bu nedenle serebellar çekirdeklerdeki bir lezyon tüm serebellumun etkilenmesine neden olur.

Serebellum bir hareketten diğerine hızlı ve düzgün geçişte, öğrenme, konuşma ve motor aktivitelerin zamanlamasında önemli rol oynar [133, 134]. Ayrıca agonist ve antagonist kas grupları arasında gerekli etkileşimin düzenlenmesinde ve kas yükü

değiştiğinde kas kasılma şiddetinin kontrolünde yardımcı olur [105]. Serebellum özellikle koşma, daktilo ile yazı yazma, piyano çalma ve hatta konuşma gibi hızlı kas aktivitelerinde oldukça önemlidir. Beynin bu bölgesinde görülen lokalize lezyonların ataksi, konuşma bozukluğu, dismetri ve okülomotor disfonksiyonu gibi bir dizi motor rahatsızlıklara neden olduğu gösterilmiştir [135].

Sinir sistemi, motor kontrol işlevlerini eşgüdümlemek için serebellumu aşağıdaki gibi üç düzeyde kullanır [105].

1. Vestibuloserebellum, temel olarak posteriyor serebellumun altında bulunan küçük flokulonodüler serebellum lobları ile vermisin komşu kısımlarından oluşmuştur. Vücudun denge hareketlerinin birçoğunun nöron devrelerini sağlar.
2. Spinocerebellum, ön ve arka serebellumun vermis kısmının büyük bölümü ile vermişin her iki yanındaki komşu ara loblardan ibarettir. Özellikle eller ve el parmakları başta olmak üzere, başlıca ekstremitelerin uç kısımlarının hareketini koordine eden devreyi sağlar.
3. Serebroserebellum, ara lobların yan tarafında bulunan serebellum hemisferlerinin büyük yan bölgelerinden oluşmuştur. Bu kısım bütün girdilerini beynin motor korteksi ile ona komşu olan premotor ve somatik duyu kortekslerinden alır. Çıktı bilgisini serebral kortikal sensorimotor sisteme, ardışık ve istemli beden, kol ve bacak hareketlerinin planlanması için, hareketin gerçekleşmesinden saniyenin onda biri kadar önce planlayarak, geribildirim biçiminde yukarıya geri iletir. Buna yapılacak hareketlerin “motor hayalinin” oluşturulması adı verilir [105].

2. MATERYAL ve METOT

Bu tez çalışması deneysel bir araştırma olarak tasarlanmıştır. Çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜTDAM), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarları ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafınca onaylanan (2013/02, Karar no:29; Ek 1) çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı.

2.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısı ve İrisin Konsantrasyonları

Yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS) hazırlamak amacıyla içeriği aşağıdaki Tablo 2.1’de belirtilen bileşikler tartıldı ve 500 mL steril distile su içerisinde iki farklı solüsyon (A ve B solüsyonu) hazırlandı. A ve B solüsyonları 1:1 (v/v) oranında karıştırılarak yBOS elde edildi [136]. Tampon olarak HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit) kullanıldı ve çözeltinin pH değeri 7.4’e ayarlandı.

Tablo 2.1. Yapay beyin omurilik sıvısının içeriği

A solüsyonu		B solüsyonu	
Bileşik	Miktar (g)	Bileşik	Miktar (g)
NaCl	8.66	Na ₂ HPO ₄ . 7H ₂ O	0.214
KCl	0.224	NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	0.027
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0.206		
MgCl ₂ . 6H ₂ O	0.163		

Deneyde kullanılan irisin ticari olarak Phoenix Pharmaceuticals Inc.’dan (Katalog No: 067-16) temin edildi. İrisin, hazırlanan yBOS içerisinde çözöldü ve deneysel çalışmada kullanılacak olan üç farklı konsantrasyonu (düşük doz; 1 µM, orta doz; 3 µM ve yüksek doz; 10 µM) hazırlandı. Hazırlanan irisin konsantrasyonları uygulama zamanına kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

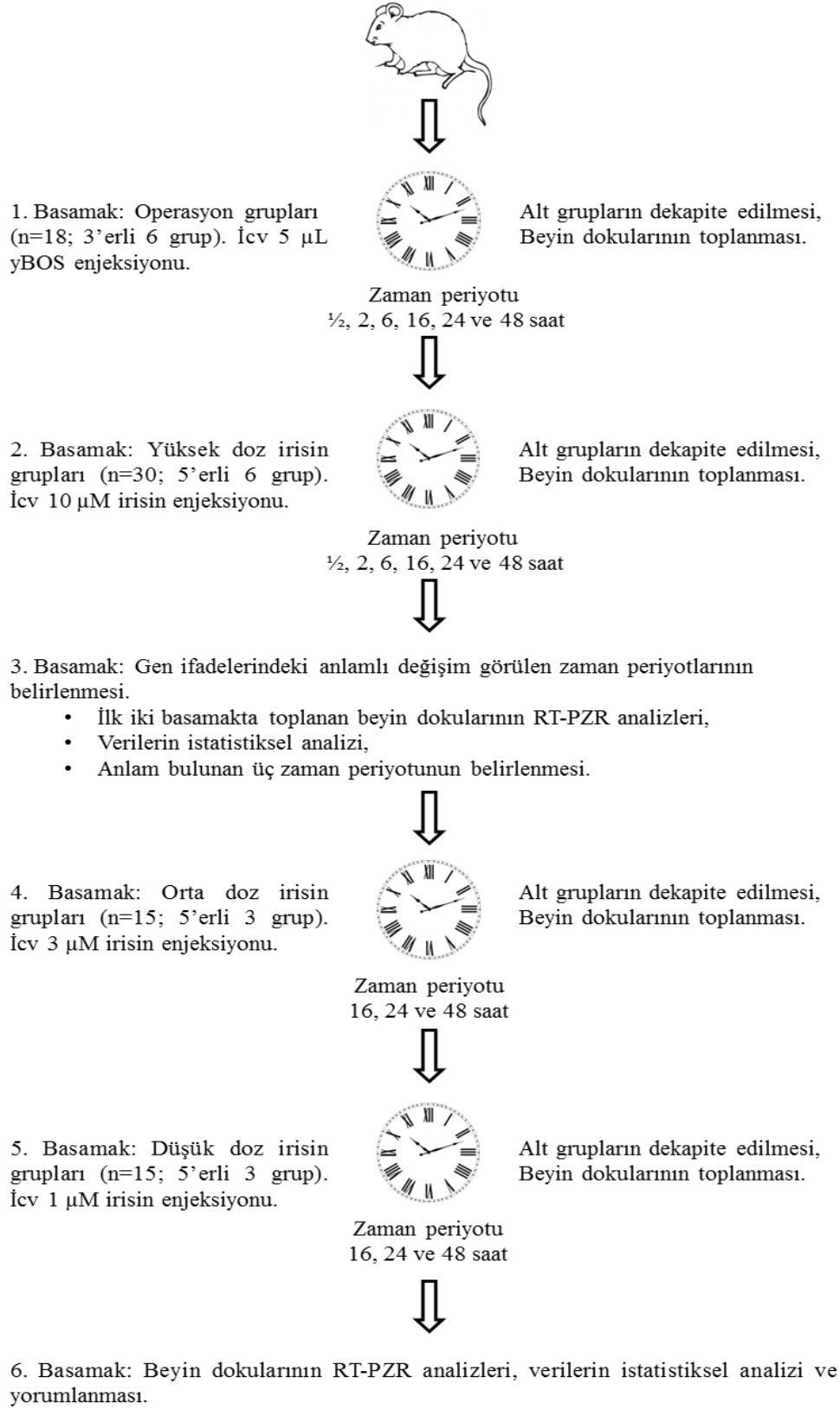
2.2. Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 200-250 g olan Sprague Dawley cinsi toplam 80 adet dişi sıçan kullanıldı. Deneysel çalışmaya başlamadan önce tüm sıçanların ağırlıkları belirlendi. Deney süresince hayvanlar 21 ± 1 °C sıcaklıkta ve 12 saat (s) aydınlık/karanlık ortamda tutuldu. Sıçanlar standart sıçan yemi yediler ve normal musluk suyu içtiler.

Deneyde kullanılacak hayvanların vücut ağırlıkları dikkate alınarak ortalama ağırlıkları birbirine yakın olan (223 ± 3.54 g) gruplar oluşturuldu. Grupların hayvan sayıları ve yapılan işlemler Şekil 2.1’de gösterilmiştir. İrisinin doz ve zaman bağımlı etkilerini belirlemek için yapılan deneysel çalışma basamakları aşağıda belirtilmiştir.

İlk olarak kontrol (operasyon) grubundaki 18 hayvan 6 alt gruba ($n=3$) ayrıldı ve gruplardaki hayvanlara intraserebroventriküler (icv) olarak 5µL yBOS sağ ventrikül içerisine enjekte edildi. Enjeksiyon zamanı başlangıç olarak belirlendi ve 3’erli alt gruplar sırasıyla 1/2s, 2s, 6s, 16s, 24s ve 48s sonra dekapite edildi. İkinci olarak 30 hayvan 6 alt gruba ($n=5$) ayrıldı ve alt gruptaki hayvanlara 10 µM irisin sağ lateral ventrikül içerisine tek seferlik uygulandı. Alt gruptaki hayvanlar bekleme süreleri sonrası dekapite edildi. Dekapite edilen hayvanların hipotalamus, hipofiz, hipokampus, korteks, serebellum ve striatum bölgeleri toplandı. İlk iki aşamadan sonra yüksek doz irisin uygulamasının beyindeki UCP2-5 mRNA düzeylerine etkisi RT-PZR ile belirlendi (bakınız RT-PZR analizi). İstatistiksel analiz (bakınız istatistiksel analiz) sonrası yüksek doz irisin uygulamasının UCP’ler üzerine anlamlı etki gösterdiği üç zaman periyodu (16s, 24s ve 48s) belirlendi ve diğer iki doz (1 µM ve 3 µM) uygulamasında bu zaman periyotları kullanıldı. Son olarak orta ve düşük doz irisinin UCP’ler üzerine etkilerini belirlemek amacıyla 30 hayvan 6 alt gruba ($n=5$) ayrıldı. Oluşturulan 3 alt gruba irisinin 3 µM, diğer 3 alt gruba ise irisinin 1 µM konsantrasyonu sağ lateral ventrikül içerisine enjekte edildi. Enjeksiyon zamanı başlangıç kabul edildi ve gruplar 16s, 24s ve 48s sonra dekapite edildi. Dekapite edilen hayvanların hipotalamus, hipofiz, hipokampus, korteks, serebellum ve striatum bölgeleri toplandı ve sıvı azot içerisinde saklandı.

Araştırma Planı



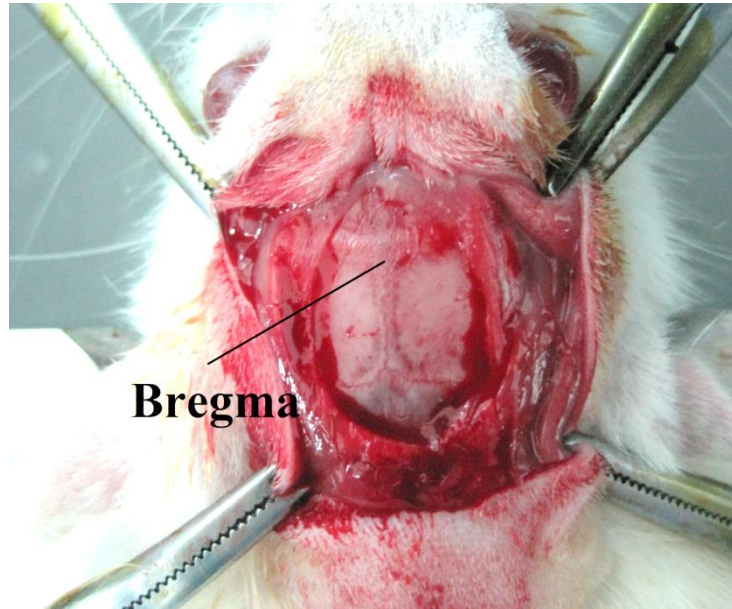
Şekil 2.1. Çalışmanın araştırma planı

2.3.2. Hayvanların Hazırlanması

Sıçanlar intramüsküler olarak 75 mg/kg ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya), 5 mg/kg ksilazin (Bioveta PLC, Çek Cumhuriyeti) ile anestezi altına alındı. Sıçanların anestezi altına girişleri parmak kısırtma yanıtları ve fizyolojik yanıtın izlenmesi sonunda saptandı ve spontan hareketleri kaybolan sıçanların kafa derileri tıraş edilerek operasyona hazır hale getirildi.

2.3.3. Hayvanların Sterotaksik Cihaza Yerleştirilmesi

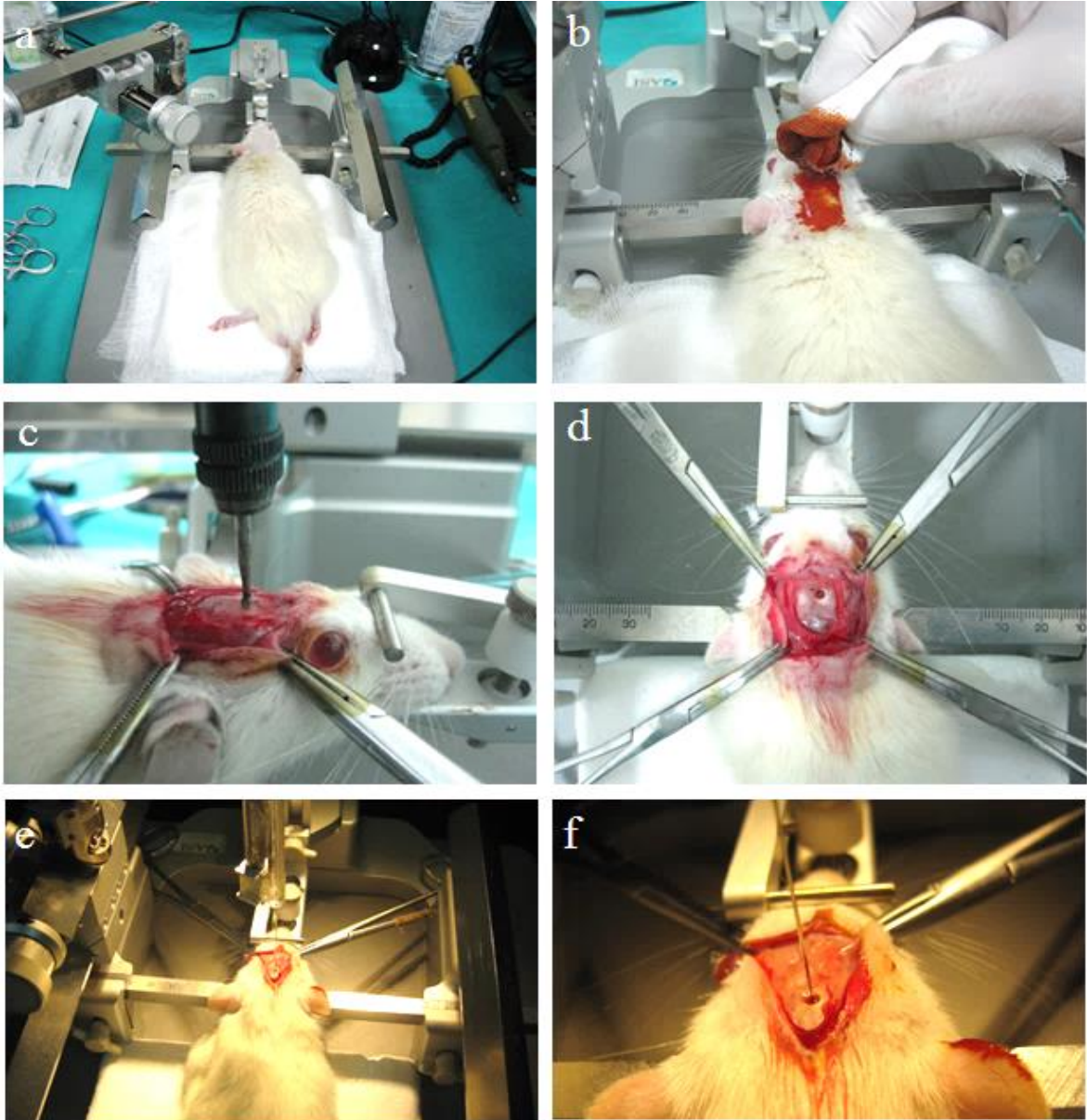
Hayvanlar stereotaksik cihaza kulaklarından ve ağız kısmından kafasının yüzeyi yere tam paralel olacak şekilde sabitlendiler (Small Animal Stereotaxic System, ASI Instruments, ABD). Kafa derisi %10 povidon iyodin sürülerek dezenfekte edildi ve deri bir bistüri ile kesilerek kemik yapıya ulaşıldı. Kemik yüzey temizlenerek bregmanın açık bir şekilde görülmesi sağlandı (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Bregmanın referans noktasının belirlenmesi

Referans noktası olarak kabul edilen bregmadan itibaren sıçan beyin atlasında önceden belirlenen koordinatlara göre (mediyal 1.40, posteriyör 0.8 mm) kafatasının delinecek kısmı belirlendi ve işaretlendi. İşaretlenen nokta matkap ile duraya zarar

vermeden delindi. Stereotaksik cihaz üzerine sabitlenen cam şırınga (Hamilton 701 RN/10 μ L) ucu açılan deliğin hizası referans alınarak vertikal (dikey) eksen boyunca 4.8 mm aşağı indirildi ve böylece lateral ventrikül içerisine enjeksiyonlar yapıldı (Şekil 2.4). Enjeksiyon sonrası insizyon bölgesi 3.0 ipek (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş. Trabzon/Türkiye) ile dikildi ve insizyon bölgesine %10 povidon iyodin sürüldü. Hayvanlar deneysel işlem sonrasında kafeslere alındı.



Şekil 2.4. Merkezi irisin uygulamasının basamakları (a, b: Hayvanların stereotaksik cihaza yerleştirilmesi ve dezenfeksiyon; c, d: Matkapla kafa tasının delinmesi; e, f: İrisin enjeksiyonu)

2.4. Hayvanların Vücut Sıcaklığının Takibi

Hayvanların vücut sıcaklıkları rektal prob (Animal Operating Table System Aot 0811) kullanılarak ölçüldü. Gruplardaki hayvanların vücut sıcaklıkları operasyon öncesi (kontrol olarak değerlendirildi) ve dekapite edilmeden hemen önce ölçülerek kayıt altına alındı (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Hayvanların vücut sıcaklıklarının kayıt altına alınması

2.5. Beyin Dokularının Toplanması

Gruplardaki hayvanlar bekleme zamanları sonrasında dekapite edildi ve hızlı bir şekilde beyin dokuları alındı. Bu kapsamda öncelikle kafa derisi açıldı ve ince ağızlı bir makas yardımı ile kafatası oksipital açıklıktan itibaren interpariyetal ve frontal lobun ön kısımlarına kadar sağlı sollu kesildi. Kesilen kafatası dişli bir pens yardımı ile kaldırıldı. Beyini dışarı çekerken beyin bütünlüğünün zarar görmemesi için meninks uzantıları dikkatli bir şekilde ayklandı. Sonrasında kranial sinirler kesilerek beyin tüm olarak içerisinde RNA koruyucu solüsyon bulunan petri kutusu içerisine alındı.

Diseksiyon aşamasında ilk olarak beyin tabanında sella turcica adında kemik bir kovuk içine yerleşmiş olarak kalan hipofiz bezi toplandı. Genel olarak hipofiz bezi beyin

tüm olarak çıkartıldığında beyin tabanında fikse durumdaydı. Diğer beyin bölgeleri ise aşağıdaki sıra ile disekte edildi.

1. Pons üzerinde bulunan serebellum bir pens yardımıyla bulunduğu yerden ayıklandı.
2. Beynin korteks kısmı ters çevrildi ve hipotalamus iki ucu ince ve sivri olan bir pens ile bulunduğu yerden çıkartıldı.
3. Tekrardan korteks üst kısma gelecek şekilde beyin ters çevrildi ve düz bir şekilde yerleştirildi.
4. Olfaktör bulbus olarakta bilinen koku soğancığı bisturi ile kesildi ve ardından beyin sağ ve sol lob olacak şekilde ortadan ikiye ayrıldı.
5. Ayrılan loblardan öncelikle beynin frontal korteks alanı korpus kallozumun başlangıcına kadar kesildi. Ardından korpus kallozumun başlangıcı ile fornikse kadar olan ara kısım kesildi ve yaklaşık 3 mm kalınlığındaki bu parçadan striatum çıkartıldı.
6. Son olarak orta beyin üzerindeki korteks kaldırıldı ve hipokampus bütün olarak çıkartıldı. Korteks örnekleri ise her hayvanda çıkartılan hipokampusun üzerini kaplayan alandan toplandı.
7. Toplanan beyin dokuları DNase-RNase free tüplere alındı ve sıvı azot içerisinde donduruldu. Örnekler daha sonra -80 °C'ye aktarıldı ve analizler gerçekleşinceye kadar burada muhafaza edildi.

2.6. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR)

2.6.1. Kullanılan Gereç ve Cihazlar

-20 °C derin dondurucu (Arçelik, Türkiye), -80 °C derin dondurucu (Nuair, Meksika), etüv (Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukranya), falkon tüp (Corning, Meksika), homojenizatör (Next Advance, Averill Park NY, Bullet Blender Storm, ABD), homojenizatör boncuğu (Next Advance, GB05-RNA 0.5 mm Dia, RNase-Free Glass Beads, ABD), mini plate spin (Labnet C1000, ABD), PZR ve kübit tüpleri (Neptune, Katalog: 3737.S.X, Biotix Laboratory Media, İngiltere), plate yapıştırıcı (AB Applied Biosystems, MicroAmp, Optical Adhesive Film, ABD), plate (AB Applied Biosystems, MicroAmp, Fast Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (0.1 mL), Singapur), polimeraz zincir reaksiyonu (Biometra, Almanya), kübit (2.0 Fluormeter: Invitrogen by

Life Teknotologies, Avusturalya), Real Time-PZR (AB Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, ABD), santrifüj (Sigma, Almanya), spin (Labnet International, Katalog No: C1031B-230V, Kore), vorteks (Elektro-Mag, Türkiye).

2.6.2. Kullanılan Sarf Maddeler

2-merkaptoethanol (C_2H_6OS , Biotechnology Grade, AMRESCO, Katalog No: 36/37/39.15, ABD) komplementer DNA sentez kiti (cDNA; AB Applied Biosystems, High-Capacity cDNA Reverse Trancription Kits, Part No: 437522 REVB, Foster City, ABD) Qubit RNA buffer (Invitrogen/Molecular Probes, ABD) Qubit RNA Reagent (Invitrogen/Molecular Probes, ABD), Qubit RNA Kit (Invitrogen/Molecular Probes, Qubit RNA Assay Kit For Use With The Qubit 2.0 Fluorometer, ABD) RNA kiti (Invitrogen, Ambion by life technologies, PureLink RNA Mini Kit, Katalog No: 12183018A, ABD), TaqMan gene expression master mix (AB Applied Biosystems, Katalog No: 4369016, ABD), temizleme solüsyonu (Bioshop, Nuclease Removal Reagent, Kanada).

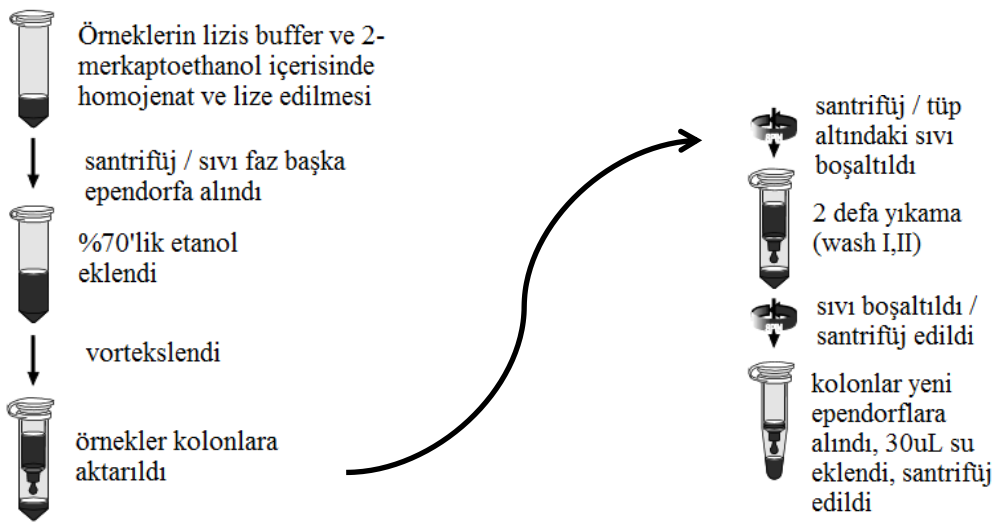
2.6.3. RT-PZR Yöntemi

2.6.3.1. Total RNA İzolasyonu

Beyin dokularından RNA izolasyonu için PureLink RNA mini kiti kullanıldı. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

Kit içerisindeki lizis solüsyonundan 1 mL ve 2-merkaptoetanol'dan 10 µL falkon tüpüne alınıp karıştırılarak lizis tampon çözeltisi elde edildi. Beyin dokuları, doku ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözeltiden 600 µL alınarak kilitli ependorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 3 dk 8. hızda parçalama işlemi yapıldı. Örnekler 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir ependorfa alınarak üzerine 500 µL %70'lik etanol eklendi ve vortekslendi. Örneklerden 700 µL alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12.000xg'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örneklerde kolonlara aktararak aynı şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II solüsyonları ile yapıldı. Örnekler 700 µL Wash I

solüsyonu eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi. Toplam tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µL Wash II solüsyonu eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12.000xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni ependorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µL RNase içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Ependorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA içermektedir (Şekil 2.6). RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklandı.



Şekil 2.6. Beyin dokusundan RNA izolasyon basamakları

2.6.3.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü

RNA ölçümü için Qubit RNA Assay Kit kullanıldı. RNA miktarı µg/mL olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. cDNA için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı.

2.6.3.3. Komplementer DNA Sentezi

cDNA sentezi için High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanıldı (kit içeriği; 10XRT Buffer, 25XdNTP mix, 10XRT Random Primers, MultiScribe Reverse

Transcriptase). cDNA sentezi için havuz yapılan RNA örneklerinden 10 µL kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20 µL hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10 µL RNA örneği, 2 µL 10XRT random primer, 2 µL 10XRT buffer, 0.8 µL 25XdNTP mix, 4.2 µL nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1 µL MultiScribe Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı (Tablo 2.2). Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25 °C’de 10 dk, 37 °C’de 120 dk, 85 °C’de 5 dk ve 4 °C’de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi (Tablo 2.3). Oluşan cDNA örnekleri -20 °C’de saklandı.

Tablo 2.2. cDNA karışım miktarı

Bileşik	Hacim (µL)	Katalog No
10XRT Tamponu	2.0	4319981
25XdNTP karışımı (100 mM)	0.8	4367381
MultiScribe Revers Transkriptaz	1.0	4319983
10XRT Random Primer	2.0	4319979
Nükleaz içermeyen H ₂ O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Tablo 2.3. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

2.6.3.4. RT-PZR ile cDNA Amplifikasyonu

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA’lar sekans spesifik primerlerin varlığında RT-PZR ile amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), UCP 2-5 genlerinin belirlenmesi için aşağıdaki Tablo 2.4’de verilen primerler kullanıldı. RT-PZR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanıldı. RT-PZR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2 µL kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5 µL TaqMan Master Mix, 2.5 µL nükleaz içermeyen su ve 0.5 µL primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara bırakıldı ve

vortekslendi. Platedeki cDNA örneklerinin üzerine 8 µL hazırlanan karışımdan bırakılarak platein üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı (Tablo 2.5). Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini plate spin cihazında 1 dk santrifüj edildi.

Tablo 2.4. RT-PZR’de kullanılan primerler

Primerler	Katalog numarası
GAPDH	Rn01775763_g1
UCP2	Rn01754856_m1
UCP3	Rn00565874_m1
UCP4	Rn00585237_m1
UCP5	Rn01475295_m1

Tablo 2.5. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşik	Miktar (µL)
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H ₂ O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 RT-PZR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Sıcaklık koşulları 50 °C’de 2 dk, 95 °C’de 10 dk X 40 siklüs, 95 °C’de 15 sn ve 60 °C’de 1 dk olacak şekilde ayarlandı (Tablo 2.6).

Tablo 2.6. Uygulanan RT-PZR programı (RT-PZR X 40 döngü)

	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım
Sıcaklık	50 °C	95 °C	95 °C	60 °C
Zaman	2 dk	10 dk	15 sn	1 dk

2.7. İstatistiksel Değerlendirme

24s gruplarında UCP2 mRNA ifade düzeyi (ortalama $\pm$ standart sapma); yüksek doz irisin uygulamasında 4.53 ± 1.56 , düşük doz irisin uygulamasında 1.87 ± 0.29 olarak hesaplandı ve tip 1 hata (alfa) 0.05 olduğunda gerçekleşen gücün %82.1 olduğu deneysel güç analizi ile hesaplandı.

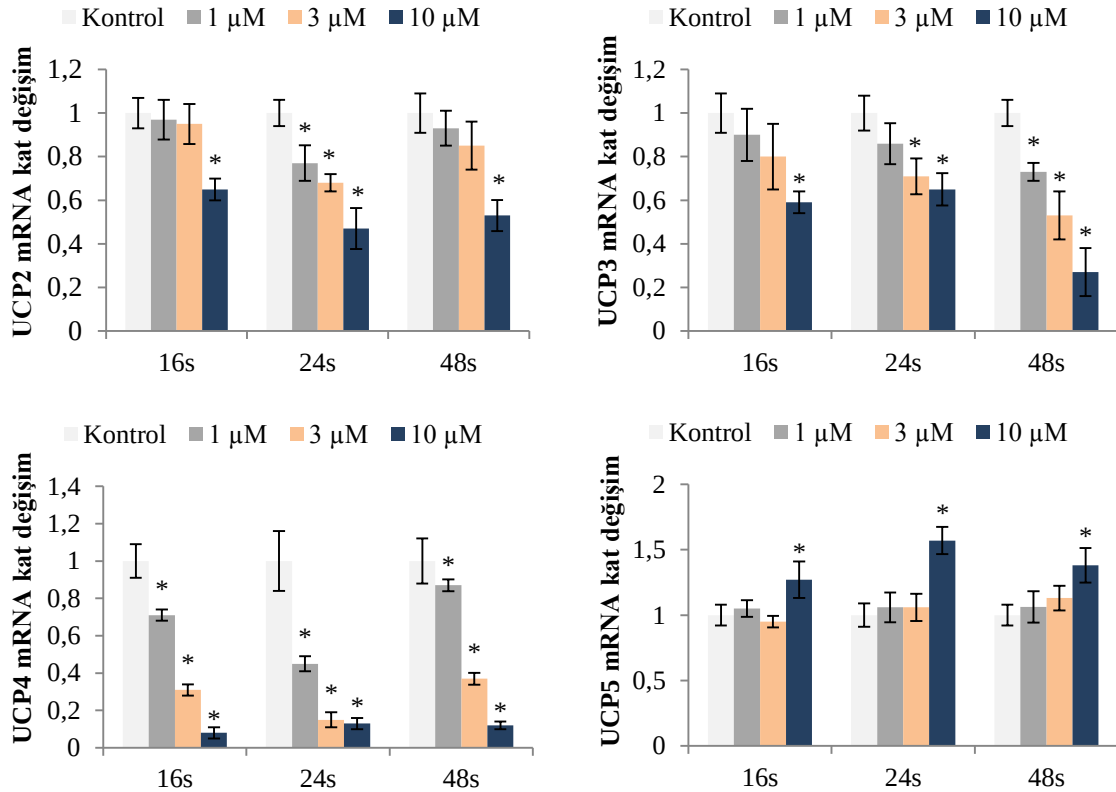
Bu tez çalışmasında elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS Statistics v. 21.0 paket program kullanılarak yapıldı. Grupların normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Grupların ekspresyon düzeylerindeki farklılıklar bağımsız örneklerde Student's t testi, vücut sıcaklıklarındaki değişim ise Mann-Whitney U testi kullanılarak belirlendi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (SH) olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Yüksek doz irisin uygulanan 1/2s, 2s ve 6s gruplarındaki anlam belirtmeyen sonuçlar tezin Bulgular kısmında gösterilmedi. Çalışma sonucunda anlamlı görülen 16s, 24s ve 48s gruplarına ait sonuçlar çubuk grafik çizilerek gösterildi.

3. BULGULAR

3.1. İcv İrisin Uygulamasının Hipokampusta UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

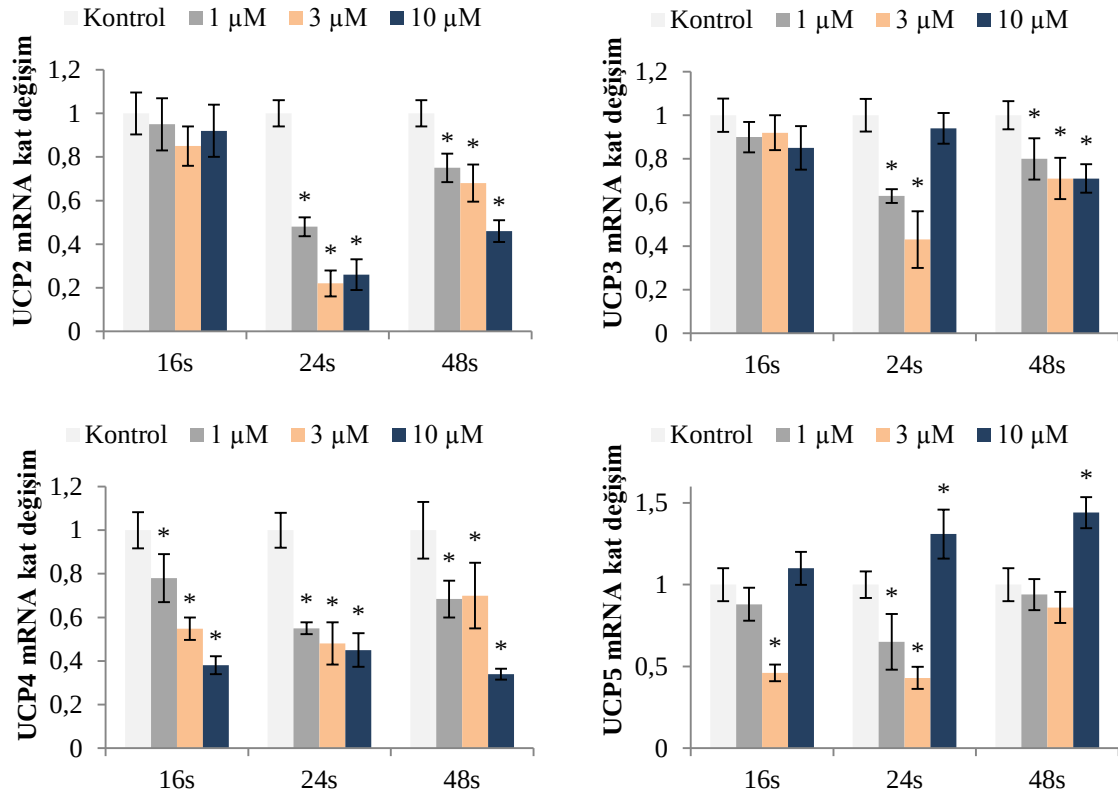
Merkezi uygulanan 1, 3 ve 10 μM 'lık irisin konsantrasyonlarının hipokampal alandaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkileri Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Buna göre irisinin uygulanan 1 ve 3 μM konsantrasyonu sadece 24s grubunda, 10 μM konsantrasyonu ise 16s, 24s ve 48s gruplarında UCP2 ifadesini anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.05$). UCP3 düzeyini her üç irisin konsantrasyonu ortak olarak 48s gruplarında, UCP4 düzeyini ise doz bağımlı olarak bütün zaman gruplarında anlamlı seviyede azalttı ($p<0.05$). Hipokampal alandaki UCP5 mRNA düzeyi sadece irisinin 10 μM 'lık dozunda artışa neden oldu ($p<0.05$).



Şekil 3.1. İcv irisin uygulamasının hipokampustaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student't testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

3.2. İcv İrisin Uygulamasının Hipotalamusta UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

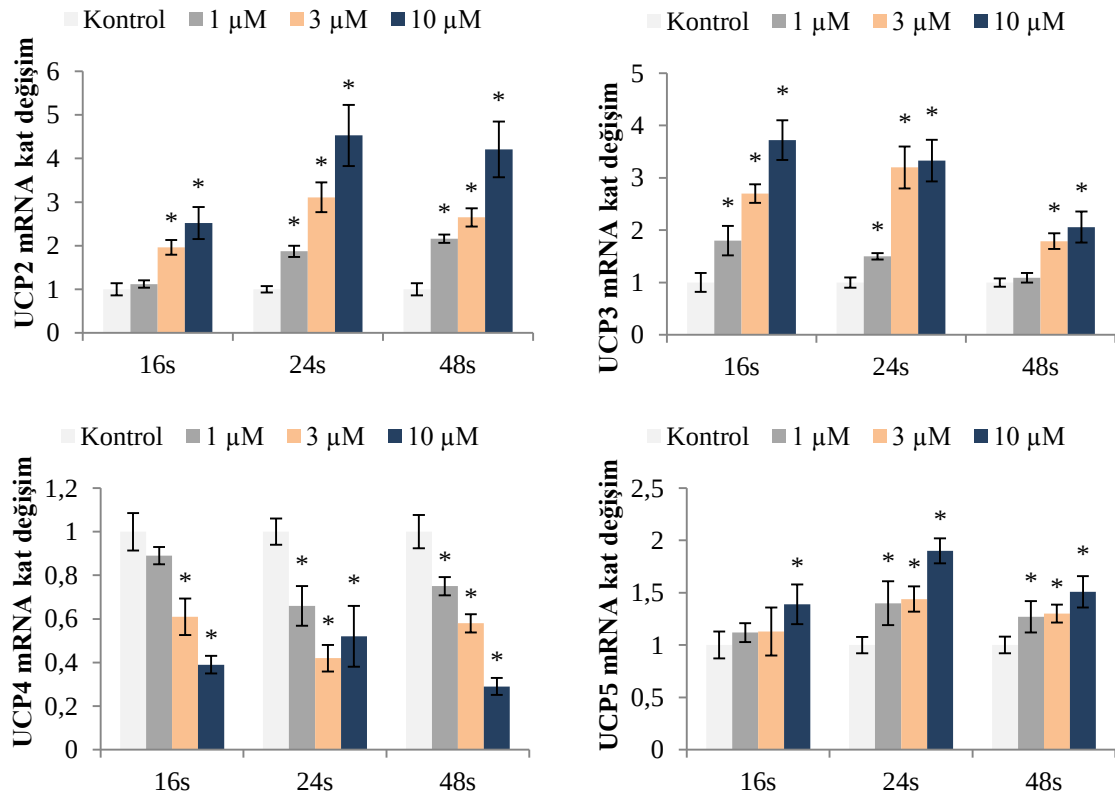
İrisinin 1, 3 ve 10 μM 'lık icv uygulanan konsantrasyonlarının hipotalamik alanda yer alan UCP2-5 gen ifadeleri üzerine etkileri Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Yapılan analizler sonucu her üç doz irisin enjeksiyonunun hipotalamik alanda yer alan UCP2 mRNA düzeyini azalttığı gözlemlendi. Buna göre irisin uygulamaları sonrası 24s ve 48s gruplarındaki hayvanların hipotalamik UCP2 düzeylerinde anlamlı azalmanın olduğu ($p<0.05$), fakat bu iki grup arasındaki en çok azalmanın 24s grubunda meydana geldiği belirlendi. Hipotalamik UCP3 ifadesinin de UCP2 ifadesine benzer şekilde azaldığı, özellikle bu azalmaların 24s ve 48s gruplarında belirgin şekilde gerçekleştiği sonucuna varıldı ($p<0.05$). Her üç irisin dozunun uygulanmasından sonra hipotalamusta ki UCP4 ifadesi azalma gösterirken ($p<0.05$), UCP5 ifadesinin düşük iki dozda (1 ve 3 μM) azaldığı ve yüksek doz irisin uygulamasının düşük dozlara kıyasla anlamlı düzeyde ilgili gen ifadesini arttırdığı belirlendi ($p<0.05$).



Şekil 3.2. İcv irisin uygulamasının hipotalamustaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student't testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

3.3. İcv İrisin Uygulamasının Serebellumda UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

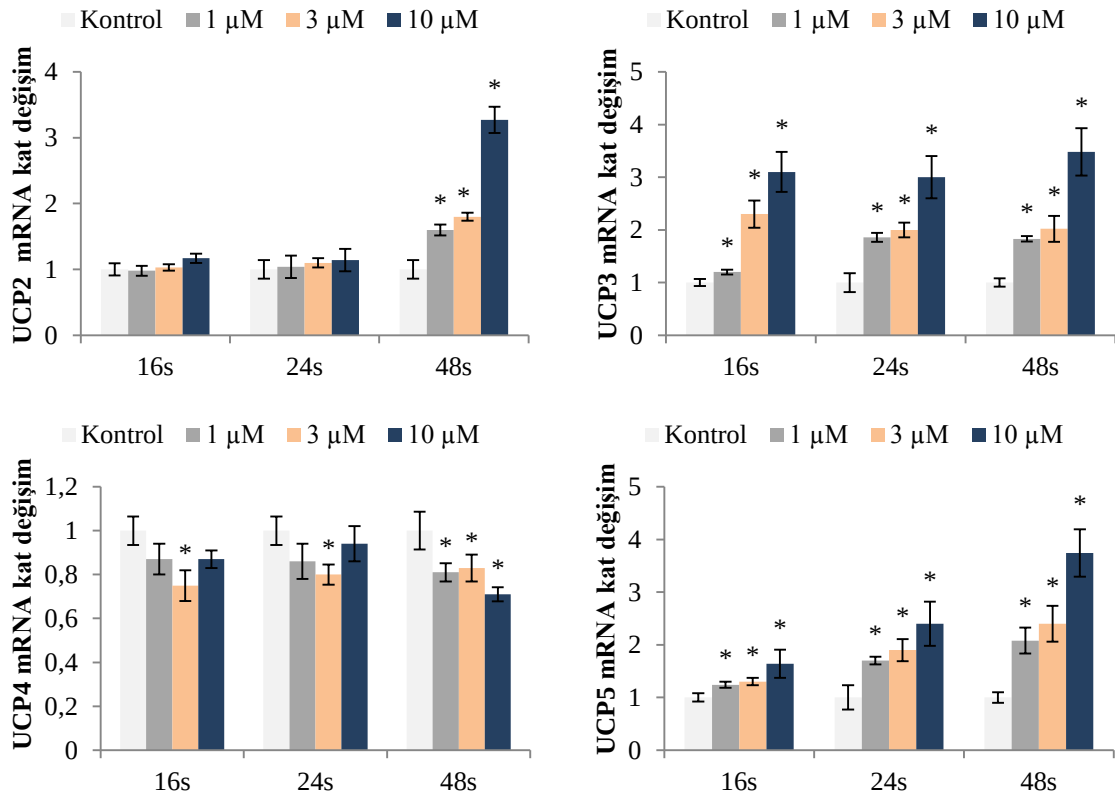
İrisin uygulaması sonrasında serebellumdaki UCP2-5 mRNA düzeyleri Şekil 3.3’de verilmiştir. İcv irisın uygulaması 16s, 24s ve 48s gruplarında bulunan hayvanların serebellumunda UCP2, UCP3 ve UCP5 mRNA düzeylerini anlamlı şekilde arttırdı ($p<0.05$). UCP2 düzeyindeki bu artış 10 μM doz uygulanan gruplarda oldukça belirgin bir şekilde görüldü. İrisinin her üç konsantrasyonu UCP3 mRNA ifadesini en fazla 16s gruplarında arttırdı ($p<0.05$) ve geçen zamana bağlı olarak 24s ve 48s gruplarında bu artışın kısmi düşüşler gösterdiği belirlendi. UCP5 mRNA düzeylerinde görülen artışın özellikle 24s gruplarında belirgin olduğu sonucuna varıldı. Buna ek olarak, irisın doz bağımlı olarak serebellumda ki UCP5 ifadesini arttırdığı belirlendi. İrisin uygulaması sonrası bu üç proteindeki artışın aksine UCP4 ifadesi irisın uygulaması sonrası azalma gösterdi ($p<0.05$).



Şekil 3.3. İcv irisın uygulamasının serebellumdaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student’t testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

3.4. İcv İrisin Uygulamasının Striatumda UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

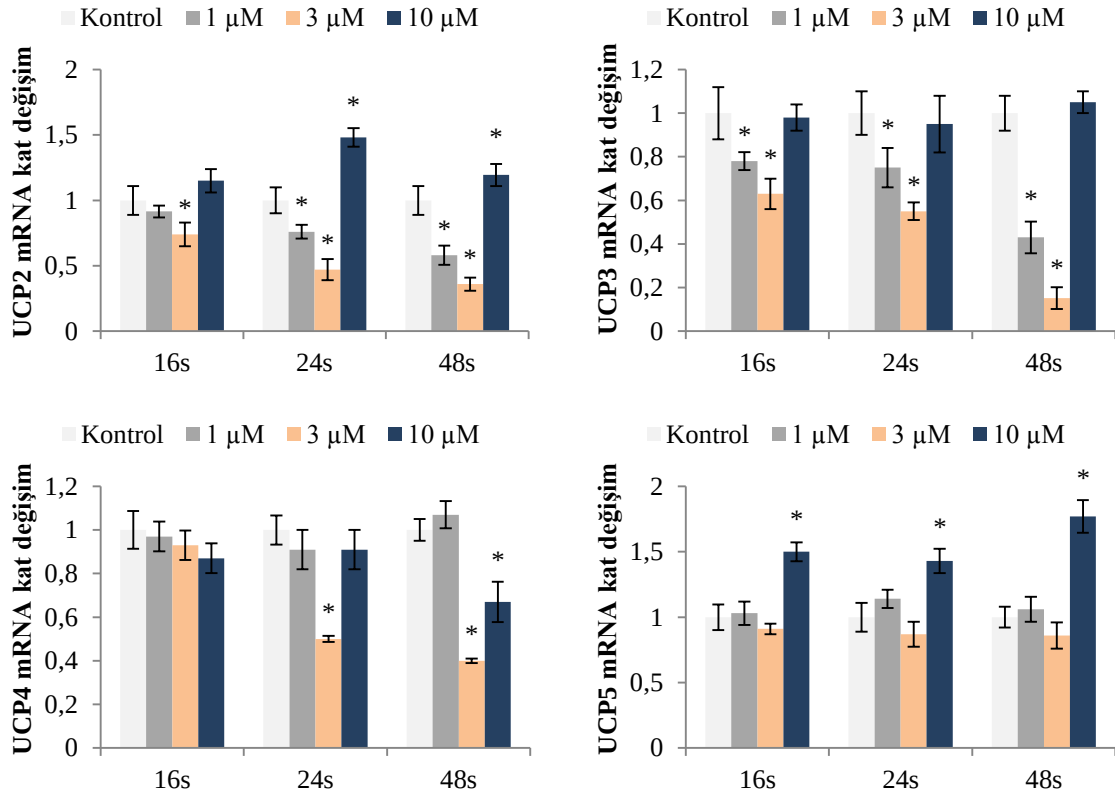
İrisinin 1, 3 ve 10 μM 'lık konsantrasyonlarının icv olarak uygulanmasından sonra grupların striatulumdaki UCP2-5 mRNA düzeyleri Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Buna göre merkezi irisin uygulaması sonrasında striatumdaki UCP2, UCP3 ve UCP5 ifade düzeylerinde artış belirlendi. UCP2 mRNA düzeyi irisinin uygulanan üç konsantrasyonunda ortak olarak 48s gruplarında anlamlı artış gösterirken, UCP3 ve UCP5 ifadeleri ise her üç zaman periyodunda (16s, 24s ve 48s) anlamlı düzeyde artış sergiledi ($p<0.05$). Özellikle UCP3 ifadesinde görülen bu artışta irisinin doz bağımlı bir etki ortaya koyduğu görüldü. Buna karşın, irisinin uygulanan bütün konsantrasyonları 48s gruplarındaki UCP4 mRNA ifadesinin anlamlı biçimde azalmasına neden oldu ($p<0.05$).



Şekil 3.4. İcv irisin uygulamasının striatumdaki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student't testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

3.5. İcv İrisin Uygulamasının Kortekste UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

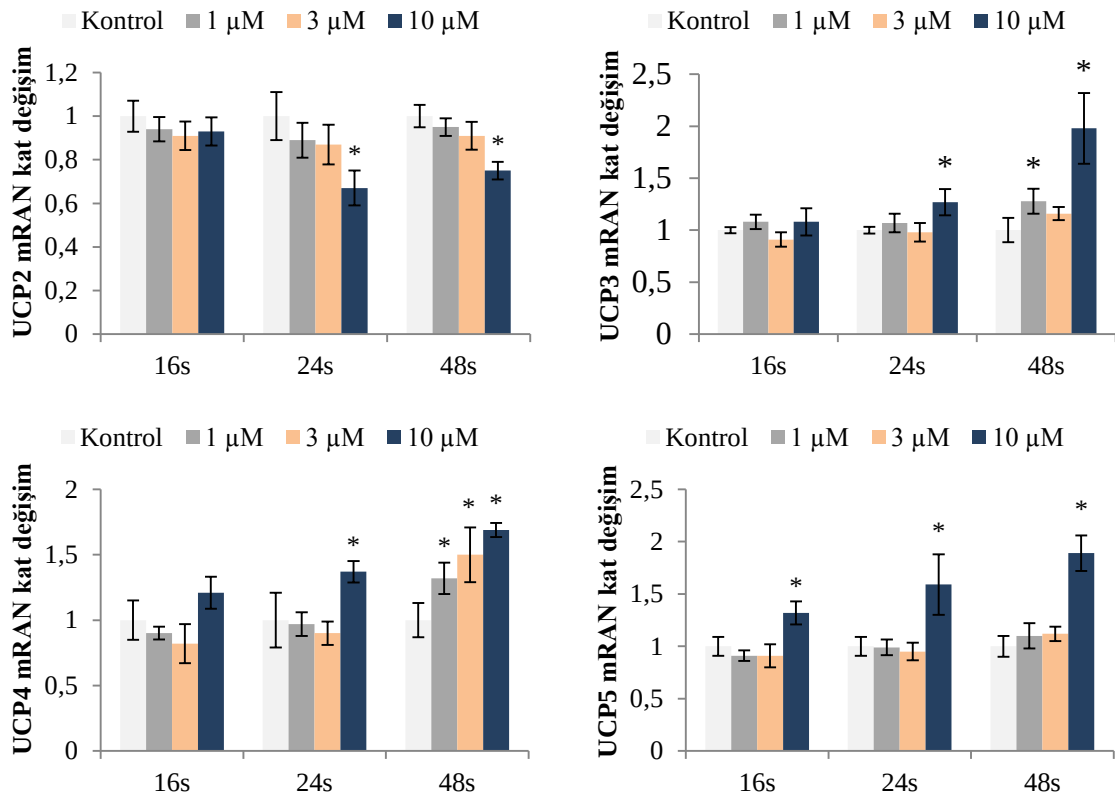
1, 3 ve 10 μM 'lık icv irisin uygulamasının kortekste UCP2-5 mRNA düzeyine etkileri Şekil 3.5'de gösterilmiştir. Tek seferlik merkezi irisin enjeksiyonu sonrası grupların UCP2 düzeyleri 1 ve 3 μM 'lık konsantrasyonlarda azalma gösterirken, 10 μM 'lık irisin uygulamasının UCP2 mRNA düzeyinde artışa neden olduğu belirlendi ($p<0.05$). İrisinin uygulanan 1 ve 3 μM 'lık dozları kortekste UCP3 ifadesini anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.05$) ancak 10 μM 'lık irisin uygulaması bu gen ifadesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Uygulanan 1 μM irisin dozu UCP4 ifadesinde herhangi bir anlamlı değişikliğe neden olmasada, 3 ve 10 μM irisin dozları UCP4 ifadesini 48s gruplarında anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.05$). Kortekste UCP5 mRNA düzeyi irisinin uygulanan 1 ve 3 μM 'lık konsantrasyonlarında değişikliğe uğramazken, irisinin 10 μM 'lık konsantrasyonu bu gen ifadesinde artışa neden oldu ($p<0.05$).



Şekil 3.5. İcv irisin uygulamasının kortekste UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student't testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

3.6. İcv İrisin Uygulamasının Hipofizde UCP2-5 Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

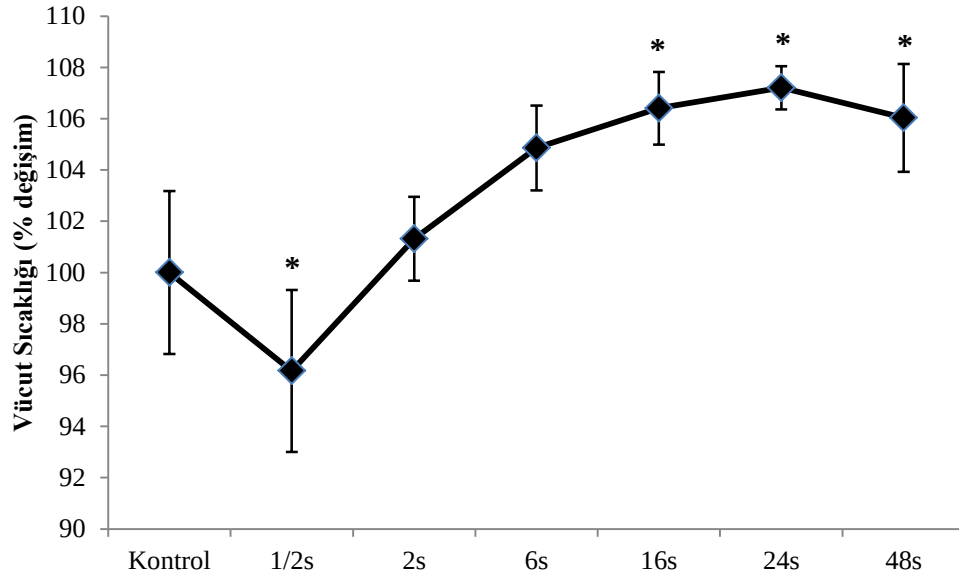
İrisinin 1, 3 ve 10 μM 'lık konsantrasyonlarının icv olarak uygulanmasından sonra hayvanların hipofiz bezindeki UCP2-5 mRNA düzeyleri Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Sonuç olarak 1 ve 3 μM irisin uygulamasının UCP2 ve UCP5 mRNA düzeylerinde herhangi bir anlamlı değişikliğe neden olamadığı belirlendi. Buna ek olarak 10 μM irisin uygulamasının UCP2 ifadesini azalttığı, UCP5 ifadesinde ise anlamlı artışa neden olduğu görüldü ($p<0.05$). İrisinin 1 ve 10 μM 'lık dozları 48s gruplarında UCP3 ifadesini anlamlı şekilde artırırken ($p<0.05$), 3 μM 'lık irisin dozu hipofizdeki UCP3 ifadesi üzerine anlamlı bir etki sergilemedi. Diğer beyin bölgelerinin aksine icv irisin uygulaması hipofizdeki UCP4 ifadesinin arttırdı ($p<0.05$).



Şekil 3.6. İcv irisin uygulamasının hipofizde ki UCP2-5 mRNA düzeyine etkisi (Grupların karşılaştırılması Student't testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

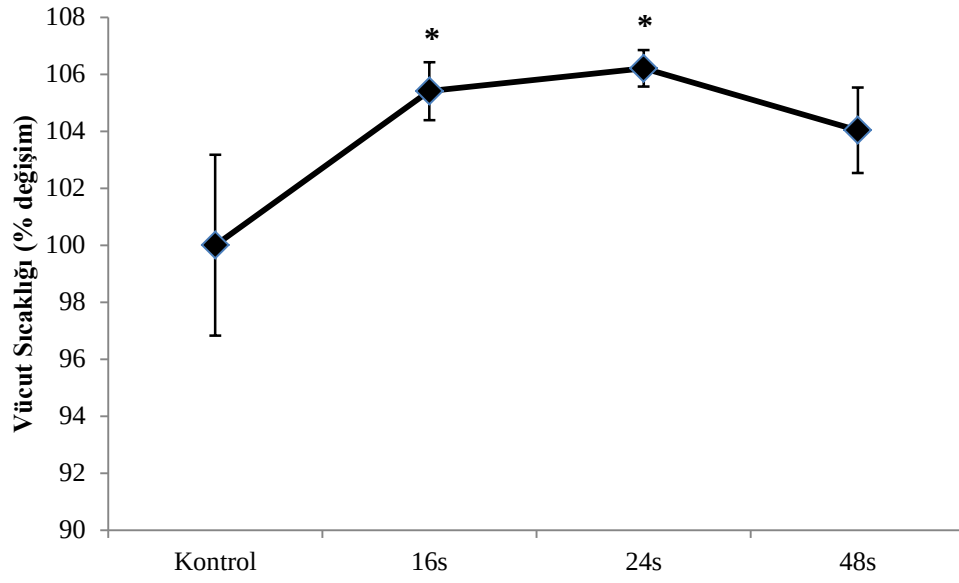
3.7. İcv İrisin Uygulamasının Hayvanların Vücut Sıcaklığı Üzerine Etkisi

Merkezi irisin uygulamasının hayvanların vücut sıcaklığında meydana getirdiği % değişimler Şekil 3.7, Şekil 3.8 ve Şekil 3.9’da verilmiştir. İrisinin uygulanan 10 μ M’lık konsantrasyonu sonrası 1/2s grubunda vücut sıcaklığı belirgin bir düşüş gösterdi ($p<0.05$). 2s ve 6s gruplarında ise 10 μ M’lık irisin uygulamasının vücut sıcaklığını kısmen arttırdığı görüldüyse de bu artış kontrole göre anlamlı bulunmadı. Diğer üç zaman grubundaki (16s, 24s ve 48s) hayvanların vücut sıcaklığı 10 μ M’lık irisin uygulamasından sonra önemli düzeyde artış sergiledi ($p<0.05$) ve bu üç grup arasında en yüksek artışın 24s grubunda gerçekleştiği belirlendi.

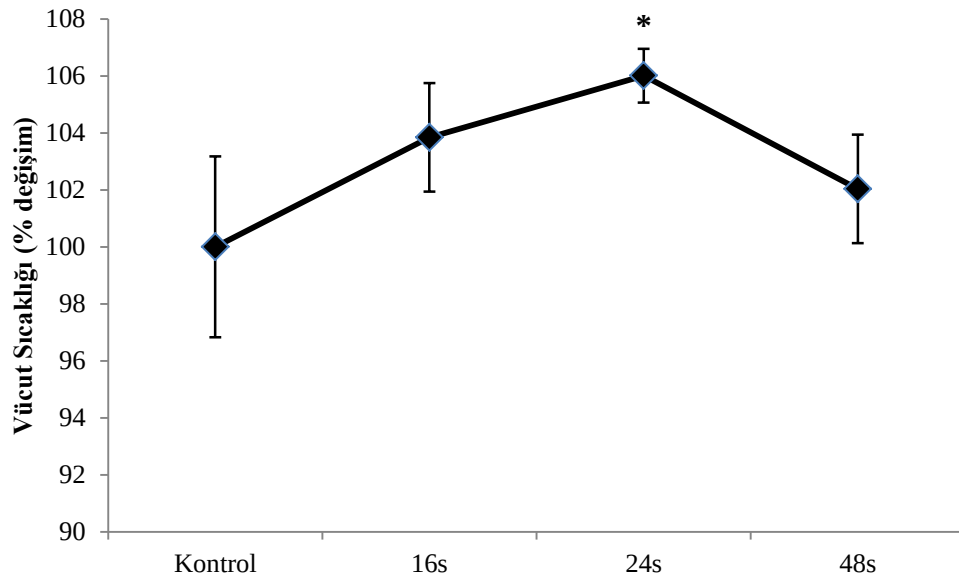


Şekil 3.7. Yüksek doz (10 μ M) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri (Grupların karşılaştırılması Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p<0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

Merkezi olarak uygulanan irisinin 3 μ M’lık konsantrasyonu 16s, 24s ve 48s gruplarındaki hayvanların vücut sıcaklığını arttırdı (Şekil 3.8), ancak bu artışın 16s ve 24s gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu saptandı ($p<0.05$). Buna karşın Şekil 3.9’da belirtildiği üzere düşük doz irisin (1 μ M) uygulanan gruplarda ise sadece 24s grubundaki sıcaklık artışının anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$).



Şekil 3.8. Orta doz (3 μ M) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri (Grupların karşılaştırılması Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p < 0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)



Şekil 3.9. Düşük doz (1 μ M) irisin uygulamasının gruptaki sıcaklık dağılımı üzerine etkileri (Grupların karşılaştırılması Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve çubuk grafikler Ort $\pm$ SH olarak gösterildi, * $p < 0.05$ kontrole kıyasla diğer gruplar)

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Mitokondri iç zarı üzerinde bulunan ve mitokondriyal anyon taşıyıcı proteinlerin bir bölümünü oluşturan UCP'ler, başta ATP sentezi olmak üzere, insülin sekresyonu, glikoz ve lipid metabolizması, adaptif termogenez, mitokondriyal biyogenez, sinaptik iletim ve plastisite, nöronal farklılaşma, nöronal dejenerasyon, ROS üretimi ve hormon sekresyonu gibi birçok fizyolojik süreçte rol alırlar [2, 3]. Araştırmacılar bu protein ailesi üzerine oldukça kapsamlı çalışmalar yapmalarına rağmen, literatürde yer alan mevcut bilgiler bu proteinlerin tam anlamıyla fizyolojik ve moleküler işleyişlerini açıklayamamaktadır. Bu kapsamda orijinal eşleşme bozucu protein olarak tanımlanan UCP1 ile ilgili yapılan çalışmalar diğer UCP'lerin (UCP2, UCP3, UCP4 ve UCP5) fizyolojik ve moleküler işlevleri hakkında fikir sahibi olmamıza katkı sağlar. UCP2 ve UCP3 ile yakın benzerlik gösteren UCP1, UCP4 ve UCP5 ile daha uzak bir ilişki içerisinde.

In situ hibridizasyon kullanılarak yapılan çalışmalar, UCP2 mRNA'sının bol miktarda fare, sıçan ve insan olmayan primatların hipotalamus, hipofiz bezi, limbik sistem, serebellum, koroid pleksus ve beyin sapında ifade olduğunu göstermiştir [84, 138]. Hipotalamusta yer alan arkuat, dorsomedial, paraventriküler, suprakiazmatik ve ventromedial çekirdekler UCP2'nin fazla eksprese edildiği yerlerdir [84, 139]. Ayrıca her iki canlı grubunda yüksek düzeyde UCP2 ifadesi vagus sinirinin dorsal motor çekirdeğinde ve hipokampusta (nispeten daha az seviyede) belirlenmiştir [139]. Merkezi hormonal kontrolü sağlayan hipotalamus ve hipofiz bezinde yüksek düzeyde UCP2 mRNA varlığı, bu proteinin metabolik, otonomik ve endokrin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu gösterir. Örneğin, Kong vd. kan glikoz düzeyi tarafından uyarılan hipotalamik melanin konsantr edici hormon nöronlarında bu uyarılmanın UCP2 mRNA düzeyini azalttığını bildirmiştir [140]. Stevanovic vd. enerji homeostazında önemli bir yere sahip olan ghrelin hormonunun sentezinde hipotalamik UCP2 yoğunluğunun modüle edici bir role sahip olduğunu rapor etmişlerdir [141]. Bunlara ek olarak, hipotalamustaki UCP2 ekspresyonuna nöropeptid Y (NPY), CRH, oksitosin ve vazopressin sentezleri de eşlik eder [61]. Zane vd. eksojen ghrelin uygulamasının hipotalamik UCP2 ifadesini arttırdığını belirtmiştir. Yine aynı çalışmada eksojen ghrelin uygulaması vahşi tip farelerde hipotalamik NPY düzeyini arttırırken, UCP2 nakavt farelerde ise bir etki belirlenmemiştir [142]. Ayrıca mevcut çalışmalar lipid metabolizmasında hipotalamik UCP2 düzeyinin belirleyici bir

takım roller üstlenebileceğini vurgulamaktadır [143, 144]. Yapılan birkaç çalışma irisin ve öncüsü FNDC5'in hipotalamus ve hipofiz bezinde eksprese edildiğini göstermektedir [14, 145]. Huh vd. dolaşımdaki irisin düzeyi ile ghrelin düzeyi arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu belirtmektedir [14]. İrisinin ghrelin ile pozitif korelasyon içerisinde olması hipofiz bezinden GH salınımını etkileyebileceğini akla getirmektedir. Çünkü ghrelin hormonu hipofiz bezinden GH sentezini uyarır ve sonuç olarak GH başta kas ve yağ doku gelişimi olmak üzere büyüme faktörlerinin meydana gelmesinde hayati öneme sahiptir. Diğer bir yandan UCP2'ye bağımlı olarak bazı hipotalamus hormonlarının sentezleniyor olması UCP'leri nöroendokrin çalışmalarında önemli kılmaktadır. Çalışmamız sonucunda icv irisin uygulamasının hipotalamus ve hipofiz bezindeki UCP2 ve diğer nöronal UCP'lerin ekspresyon düzeylerini etkileyerek, bu alanlarda sentezlenen hormonlar üzerine arttırıcı veya baskılayıcı birtakım roller üstlenebileceğini düşünmekteyiz.

Vücut sıcaklığı büyük ölçüde sinirsel geribildirim mekanizmaları ile düzenlenir ve bu süreç hipotalamustaki sıcaklık düzenleme merkezlerinden ayarlanır. Bu sıcaklık düzenleme merkezi hipotalamus içerisinde yer alan preoptik ve anterior hipotalamik çekirdeklerden oluşur. Anterior hipotalamus-preoptik alanda yer alan çok sayıdaki sıcaklığa duyarlı nöronun bir uyarı ile uyarılması sonucu vücut sıcaklığının arttığı veya azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca bu nöronların, vücut sıcaklığının kontrolü için sıcaklık reseptörleri gibi işlev yaptıklarına inanılmaktadır [105]. UCP'ler mitokondrinin zarlar arası alanında bulunan ve enerji üretmek için ATPsentaz tarafından kullanılan protonları kendi üzerlerinden mitokondriyal matriks içerisine aktarırlar. Bu sayede ATPsentaz tarafından kullanılacak olan proton miktarı azalır ve sonuç olarak ATP sentezi azalmış olur. UCP'ler üzerinden zarlar arası alandaki protonlar mitokondriyal matrikse aktarılırken, protonlar üzerinde depo edilmiş enerji ısı şeklinde ortaya çıkar [38]. Esas olarak termogeneizde görevli olan protein UCP1'dir. Diğer UCP'ler ise (UCP2-5) vücut sıcaklığının korunmasında UCP1'e kıyasla oldukça etkisizdir [146]. Hipotalamus gibi UCP'lerce zengin merkezi alanların lokal sıcaklıkları, bu proteinlerin az sentezlendiği diğer beyin bölgelerine göre daha yüksektir. Bu durum nöronal UCP'lerin de bulundukları mikro ortamın sıcaklığına etki edebileceğini göstermektedir [61]. Termojenik bir peptid olarak tanımlanan irisin, beyaz yağ dokunun kahverengi yağ dokuya dönüşümünü UCP1 ifadesini arttırarak gerçekleştirmektedir. UCP'ler arasında ki homolojiyi göz önüne aldığımız zaman icv irisin uygulamasının benzer şekilde UCP2-5 protein düzeylerini etkileyerek vücudun sıcaklık merkezi olan hipotalamusa lokal bir etki gösterdiğini varsayabiliriz. Bu etki

sonrası geçici olarak hipotalamik alandaki ısıya duyarlı nöronlar vücut sıcaklığını arttırabilir. Çalışmamızda icv irisın uygulamasının özellikle 16-48 saat aralığında hayvanların vücut sıcaklığını anlamlı derecede arttırdığını tespit ettik. Bu bulgular mevcut literatürde yer alan merkezi alanda dağılım gösteren UCP'lerin de termogenezde rol alabileceğini desteklemektedir. Bir diğer husus ise merkezi uygulanan irisının kan beyin bariyerini geçerek hayvanların vücudunda bulunan beyaz yağ dokuyu aktive etmiş olabileceğidir.

UCP4 ve UCP5 merkezi alanda UCP2'den daha fazla dağılım göstermesine karşın bu proteinlerin merkezi alanda ayrıntılı lokalizasyonları hakkında çok az bilgi vardır. Araştırmacılar substantia nigra, omurilik, medulla, hipokampus, serebellum ve striatumda UCP4 varlığını rapor etmişlerdir [51, 147]. Korteks, talamus, amigdala, hipokampus, serebellum, hipotalamus, bazal gangliyonlar ve omurilikte ise UCP5 varlığı gösterilmiştir [45, 148]. Bunlardan ayrı olarak kas dokuya özgü olan UCP3 ise dorsal kök gangliyonu ve sinir gövdelerinde az miktarlarda ifade edilmektedir [149, 150]. Yaptığımız analizler sonucunda beynin farklı alanlarında lokalize olan UCP'lerin ekspresyon düzeylerini belirledik. Mevcut literatürlerde UCP2, UCP4 ve UCP5 ifadelerinin gösterilmiş olduğu beyin bölgelerine ek olarak, bu proteinlerin hipofiz bezinde ifade edildiği tespit edildi. Buna ek olarak, özellikle bugüne kadar sadece birkaç nöronal alanda varlığı gösterilen UCP3'ün beyin bölgelerinin genelinde dağılım gösterdiği görüldü. Hipokampus, striatum, serebellum ve korteks duyuların alınması, işlenmesi, verilecek cevabın oluşturulması, öğrenme ve belleğin devamlılığı, istemli hareketin kontrolü ve hareketler arası koordinasyonun sağlanmasında önemli beyin bölgeleridir. Bu farklı beyin bölgeleri aslında birbirlerinden farklı işlevler üzerinde özelleşmiş olsalar da, beynin karmaşık nöronal ağ yapısı bu bölgelerin birbiri ile ilişkisini göz ardı etmememiz gerektiğini ortaya koymaktadır.

Nöronlar işlevleri gereği enerji ihtiyacı yüksek hücre gruplarıdır. Bir nöron binlerce komşu nöron ile sinaptik bağlantı içerisinde olabilir. Gelen iletinin güçlü ve kesintisiz bir şekilde beynin ilgili bölümlerine aktarılmasında ve nöron hücrelerinin farklılaşmasında mitokondrilerin büyük bir öneme sahip oldukları bilinmektedir. Bu hücrelerdeki mitokondriler sinaptik iletimin devamı için gerekli ATP üretimini sağlamakla beraber, nöron hücresinin iyon dengesini korumada da büyük öneme sahiplerdir [151]. Mitokondriyal biyogenez hücrenin hayatta kalabilmesi için gerekli bir olaydır. Araştırmacılar UCP2'nin nükleer solunum faktör 1 ve PGC1 α transkripsiyon faktörleri ile

bağlantılı olarak mitokondri biyogenezini uyardığını bildirmiştir [70, 142]. Coppola vd. ise UCP2 aktivasyonu sonrası NPY ve agouti-ilişkili peptid (AgRP) nöronlarında mitokondri biyogenezinin artış gösterdiğini rapor etmişlerdir [152]. Ayrıca UCP'ler nöronal farklılaşmada önemli mitokondriyal proteinler olarak ifade edilmektedir [153]. Smorodchenko vd. erken embriyonik dönemde kemirgenlerin beyin kortekslerinde UCP4 ifadesinin yüksek olduğunu, ileriki dönemlerde ise bu seviyenin düşüş gösterdiğini bildirmektedir. Bu durumun nöronal hücre farklılaşmasında UCP4'ün rol oynayabileceğini belirtmektedirler [154].

Son zamanlarda yapılan az sayıdaki çalışma FNDC5 ve irisinin nöronal hücre farklılaşmasında ve mitokondriyal biyogenezde birtakım roller üstlendiğini bildirmektedir. Hashemi vd. FNDC5 ekspresyon düzeyindeki azalmanın önemli derecede nöronal farklılaşmanın modülasyonunu sağlayan post-nöronal progenitör oluşumu ve olgun nöronlarda belirteçlerin azaldığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar FNDC5'in yok edilmesinin belirgin şekilde nöronal ve astrositlerin olgunlaşmasını etkilediğini bildirmektedir [30]. Sonuç olarak sinir sisteminin oluşum ve gelişim süreçlerinde FNDC5'in önemli bir rolünün olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır [30]. *In vitro* olarak yağ doku hücre kültürüne uygulanan FNDC5 ve irisinin UCP1 gen ifadesini ve mitokondriyal yoğunluğu attırdığı bildirilmektedir [4, 155]. Aynı zamanda bu peptidlerin merkezi alanda ifade edildikleri yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [5, 14] . Yaptığımız çalışma ile icv irisine uygulamasının doğrudan veya dolaylı olarak merkezi alanda yerleşim gösteren UCP'lerin ifade düzeylerine etki gösterdiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Mevcut bilgiler dikkate alındığı zaman irisinin nöronal hücrelerde mitokondri yoğunluğunu ve nöronal hücre farklılaşmasını UCP'ler aracılığı ile gerçekleştirebileceği düşünülebilir. Bütün bunlara ek olarak nöronal hücrelerdeki UCP'ler nörodejenarasyonda oldukça önemli proteinlerdir. Dong vd. UCP5 geninde görülen tekli nükleotid polimorfizmlerinin aterosklerotik plak oluşumu ile ilişkili olabileceğini belirtmektedir [156]. Yapılan diğer çalışmalarda ise UCP2 ve UCP4 genlerinde meydana gelen mutasyonların kişinin şizofreniye yakalanma olasılığını arttırdığı rapor edilmiştir [157, 158]. Guzman vd. DJ-1 (parkinson hastalığı erken başlangıç proteini) nakavt farelerde UCP4 ve UCP5 ifadelerinin baskılandığını, bunun substantia nigradaki dopaminerjik nöronlarda matriks proteinlerinin oksidasyonunda artışa neden olduğunu göstermişlerdir [159]. Mattson vd. nöron hücrelerindeki UCP4'ün oksidatif radikalleri önleyerek ve hücrel kalsiyum dengesini koruyarak apoptoza karşı hücreleri koruduğunu ortaya koymuşlardır [75]. Artan yaşa bağlı

olarak meydana gelen nöronal hücre kayıpları olağandır. Buna ek olarak çevresel koşullar, yeme-içme alışkanlıkları, stres ve fiziksel aktivite gibi faktörler bu hücre kayıplarının düzeyini belirlemede önemli etmenlerdir [160, 161]. Egzersiz esnasında kas dokudan salgılanan irisinin fare hipokampal hücre kültüründe proliferasyonu arttırdığı yapılan *in vitro* denemelerle belirlenmiştir [31]. Diğer bir çalışmada ise Wrann vd. uzun süreli egzersiz sonrası farelerin hipokampuslarında FNDC5 ifadesinin artış sergilediğini belirtmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada primer kortikal nöronlarda FNDC5 artışının beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir [33]. BDNF nöronal hücre canlılığı, farklılaşma, plastisite, sinaptogenez, dentritik dallanma, hipokampal fonksiyonlar ve öğrenmede dahil beyin gelişimi için önemli birçok fizyolojik süreçte rol oynar [162-164].

Yapılan az sayıdaki çalışma irisinin beyin fonksiyonları üzerine etkisini açıklamada oldukça yetersizdir. Yaptığımız bu çalışma ile farklı beyin bölgelerinde bulunan UCP'ler üzerine irisinin uyarıcı ve baskılayıcı etkilerini belirlemeyi amaçladık. Sonuç olarak icv irisin uygulamasının beynin farklı bölgelerinde yer alan UCP'ler üzerine aynı yönde etki göstermediği belirlendi. Bu durum UCP'lerin bulundukları dokuya özgü davranışlar sergileyebileceğini bizlere düşündürmektedir. Mevcut bilgiler doğrultusunda irisinin UCP'ler aracılığıyla nöronal hücrelerde mitokondriyal fonksiyonları, nöronal farklılaşmayı, nörogenezi ve nörodejenerasyonu etkileyebileceği, dolaylı yollarla endokrin fonksiyonların sürdürülmesinde rol oynayabileceğini varsayabiliriz.

5. ÖNERİLER

İrisin henüz yeni tanımlanmış bir peptid olmasına rağmen, özellikle enerji homeostazı üzerine muhtemel etkilerinden dolayı araştırmacılar tarafından obezite ve tip 2 diyabet tedavilerinde bir kurtarıcı olarak öngörülmektedir. Yapılan araştırmaların hemen hemen hepsi irisinin bu iki patofizyolojik süreç üzerine muhtemel etkilerini belirlemeye yöneliktir. Yaptığımız bu çalışma ile irisinin sadece obezite ve tip 2 diyabette değil, aynı zamanda nöronal alanlarda ki fizyolojik ve moleküler bir takım süreçlerde etkin rol oynayabileceğini göstermekteyiz. Bundan sonra yapılacak olan geniş kapsamlı ve moleküler mekanizmaları açıklamaya yönelik çalışmalar, irisinin merkezi alandaki rollerini belirlemede etkili olacaktır. Ayrıca moleküler ve fizyolojik mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik yapılacak araştırmaların sonuçları, bu alandaki bilimsel yayınların kısıtlı olması nedeniyle oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

- [1] **Monteiro, J.P., Oliveira, P.J. and Jurado, A.S.,** 2013. Mitochondrial membrane lipid remodeling in pathophysiology: a new target for diet and therapeutic interventions, *Prog Lipid Res*, **52**(4), 513-28.
- [2] **Andrews, Z.B., Diano, S. and Horvath, T.L.,** 2005. Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: in support of function and survival, *Nat Rev Neurosci*, **6**(11), 829-40.
- [3] **Echtay, K.S.,** 2007. Mitochondrial uncoupling proteins--what is their physiological role?, *Free Radic Biol Med*, **43**(10), 1351-71.
- [4] **Bostrom, P., Wu, J., Jedrychowski, M.P., Korde, A., Ye, L., Lo, J.C., Rasbach, K.A., Bostrom, E.A., Choi, J.H., Long, J.Z., Kajimura, S., Zingaretti, M.C., Vind, B.F., Tu, H., Cinti, S., Hojlund, K., Gygi, S.P. and Spiegelman, B.M.,** 2012. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis, *Nature*, **481**(7382), 463-8.
- [5] **Dun, S.L., Lyu, R.M., Chen, Y.H., Chang, J.K., Luo, J.J. and Dun, N.J.,** 2013. Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent, *Neuroscience*, **240**, 155-62.
- [6] **Novelle, M.G., Contreras, C., Romero-Pico, A., Lopez, M. and Dieguez, C.,** 2013. Irisin, two years later, *Int J Endocrinol*, **2013**, 746281.
- [7] **Kuzmicki, M., Telejko, B., Lipinska, D., Pliszka, J., Szamatowicz, M., Wilk, J., Zbucka-Kretowska, M., Laudanski, P., Kretowski, A., Gorska, M. and Szamatowicz, J.,** 2014. Serum irisin concentration in women with gestational diabetes, *Gynecol Endocrinol*, 1-4.
- [8] **Zhang, M., Chen, P., Chen, S., Sun, Q., Zeng, Q.C., Chen, J.Y., Liu, Y.X., Cao, X.H., Ren, M. and Wang, J.K.,** 2014. The association of new inflammatory markers with type 2 diabetes mellitus and macrovascular complications: a preliminary study, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **18**(11), 1567-72.
- [9] **Yan, B., Shi, X., Zhang, H., Pan, L., Ma, Z., Liu, S., Liu, Y., Li, X., Yang, S. and Li, Z.,** 2014. Association of serum irisin with metabolic syndrome in obese Chinese adults, *PLoS One*, **9**(4), e94235.
- [10] **Aydin, S., Kuloglu, T., Eren, M.N., Celik, A., Yilmaz, M., Kalayci, M., Sahin, I., Gungor, O., Gurel, A., Ogeturk, M. and Dabak, O.,** 2014. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle, *Peptides*, **52**, 68-73.

- [11] **Aydin, S., Kuloglu, T., Yilmaz, M., Kalayci, M., Sahin, I. and Cicek, D.,** 2013. Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running, *Peptides*, **50**, 13-8.
- [12] **Teufel, A., Malik, N., Mukhopadhyay, M. and Westphal, H.,** 2002. Frcp1 and Frcp2, two novel fibronectin type III repeat containing genes, *Gene*, **297**(1-2), 79-83.
- [13] **Komolka, K., Albrecht, E., Schering, L., Brenmoehl, J., Hoefflich, A. and Maak, S.,** 2014. Locus characterization and gene expression of bovine FNDC5: is the myokine irisin relevant in cattle?, *PLoS One*, **9**(1), e88060.
- [14] **Huh, J.Y., Panagiotou, G., Mougios, V., Brinkoetter, M., Vamvini, M.T., Schneider, B.E. and Mantzoros, C.S.,** 2012. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise, *Metabolism*, **61**(12), 1725-38.
- [15] **Erickson, H.P.,** 2013. Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor?, *Adipocyte*, **2**(4), 289-93.
- [16] **Handschin, C. and Spiegelman, B.M.,** 2008. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease, *Nature*, **454**(7203), 463-9.
- [17] **Austin, S. and St-Pierre, J.,** 2012. PGC1alpha and mitochondrial metabolism--emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders, *J Cell Sci*, **125**(Pt 21), 4963-71.
- [18] **Aydin, S.,** 2014. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin, *Peptides*, **56**, 94-110.
- [19] **Elsen, M., Raschke, S. and Eckel, J.,** 2014. Browning of white fat: does irisin play a role in humans?, *Journal of Endocrinology*, **222**(1), R25-R38.
- [20] **Argyropoulos, G. and Harper, M.E.,** 2002. Uncoupling proteins and thermoregulation, *J Appl Physiol (1985)*, **92**(5), 2187-98.
- [21] **Schumacher, M.A., Chinnam, N., Ohashi, T., Shah, R.S. and Erickson, H.P.,** 2013. The structure of irisin reveals a novel intersubunit beta-sheet fibronectin type III (FNIII) dimer: implications for receptor activation, *J Biol Chem*, **288**(47), 33738-44.
- [22] **Kraemer, R.R., Shockett, P., Webb, N.D., Shah, U. and Castracane, V.D.,** 2014. A transient elevated irisin blood concentration in response to prolonged, moderate aerobic exercise in young men and women, *Horm Metab Res*, **46**(2), 150-4.
- [23] **Moraes, C., Leal, V.O., Marinho, S.M., Barroso, S.G., Rocha, G.S., Boaventura, G.T. and Mafra, D.,** 2013. Resistance exercise training does not

affect plasma irisin levels of hemodialysis patients, *Horm Metab Res*, **45**(12), 900-4.

- [24] **Pekkala, S., Wiklund, P.K., Hulmi, J.J., Ahtiainen, J.P., Horttanainen, M., Pollanen, E., Makela, K.A., Kainulainen, H., Hakkinen, K., Nyman, K., Alen, M., Herzig, K.H. and Cheng, S., 2013.** Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health?, *J Physiol*, **591**(Pt 21), 5393-400.
- [25] **Hecksteden, A., Wegmann, M., Steffen, A., Kraushaar, J., Morsch, A., Ruppenthal, S., Kaestner, L. and Meyer, T., 2013.** Irisin and exercise training in humans - results from a randomized controlled training trial, *BMC Med*, **11**, 235.
- [26] **Norheim, F., Langleite, T.M., Hjorth, M., Holen, T., Kielland, A., Stadheim, H.K., Gulseth, H.L., Birkeland, K.I., Jensen, J. and Drevon, C.A., 2014.** The effects of acute and chronic exercise on PGC-1alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans, *FEBS J*, **281**(3), 739-49.
- [27] **Castillo-Quan, J.I., 2011.** Parkin' control: regulation of PGC-1alpha through PARIS in Parkinson's disease, *Dis Model Mech*, **4**(4), 427-9.
- [28] **Cui, L., Jeong, H., Borovecki, F., Parkhurst, C.N., Tanese, N. and Krainc, D., 2006.** Transcriptional repression of PGC-1alpha by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration, *Cell*, **127**(1), 59-69.
- [29] **Lin, J., Wu, P.H., Tarr, P.T., Lindenberg, K.S., St-Pierre, J., Zhang, C.Y., Mootha, V.K., Jager, S., Vianna, C.R., Reznick, R.M., Cui, L., Manieri, M., Donovan, M.X., Wu, Z., Cooper, M.P., Fan, M.C., Rohas, L.M., Zavacki, A.M., Cinti, S., Shulman, G.I., Lowell, B.B., Krainc, D. and Spiegelman, B.M., 2004.** Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1alpha null mice, *Cell*, **119**(1), 121-35.
- [30] **Hashemi, M.S., Ghaedi, K., Salamian, A., Karbalaie, K., Emadi-Baygi, M., Tanhaei, S., Nasr-Esfahani, M.H. and Baharvand, H., 2013.** Fndc5 knockdown significantly decreased neural differentiation rate of mouse embryonic stem cells, *Neuroscience*, **231**(0), 296-304.
- [31] **Moon, H.S., Dincer, F. and Mantzoros, C.S., 2013.** Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines, *Metabolism*, **62**(8), 1131-6.
- [32] **O'Bryant, S.E., Hobson, V., Hall, J.R., Waring, S.C., Chan, W., Massman, P., Lacritz, L., Cullum, C.M. and Diaz-Arrastia, R., 2009.** Brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease, *J Alzheimers Dis*, **17**(2), 337-41.
- [33] **Wrann, C.D., White, J.P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., Lin, J.D., Greenberg, M.E. and Spiegelman, B.M., 2013.** Exercise

induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway, *Cell Metab*, **18**(5), 649-59.

- [34] **Spiegelman, B.M.**, 2013. Banting Lecture 2012: Regulation of adipogenesis: toward new therapeutics for metabolic disease, *Diabetes*, **62**(6), 1774-82.
- [35] **Erickson, K.I., Weinstein, A.M. and Lopez, O.L.**, 2012. Physical activity, brain plasticity, and Alzheimer's disease, *Arch Med Res*, **43**(8), 615-21.
- [36] **Mattson, Mark P.**, 2012. Energy Intake and Exercise as Determinants of Brain Health and Vulnerability to Injury and Disease, *Cell Metabolism*, **16**(6), 706-722.
- [37] **Rousset, S., Alves-Guerra, M.C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulcier, A.M., Bouillaud, F. and Ricquier, D.**, 2004. The biology of mitochondrial uncoupling proteins, *Diabetes*, **53 Suppl 1**, S130-5.
- [38] **Krauss, S., Zhang, C.Y. and Lowell, B.B.**, 2005. The mitochondrial uncoupling-protein homologues, *Nat Rev Mol Cell Biol*, **6**(3), 248-61.
- [39] **Liu, J., Li, J., Li, W.J. and Wang, C.M.**, 2013. The role of uncoupling proteins in diabetes mellitus, *J Diabetes Res*, **2013**, 585897.
- [40] **Brand, M.D. and Esteves, T.C.**, 2005. Physiological functions of the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3, *Cell Metab*, **2**(2), 85-93.
- [41] **Modrianský, M., Murdza-Inglis, D.L., Patel, H.V., Freeman, K.B. and Garlid, K.D.**, 1997. Identification by Site-directed Mutagenesis of Three Arginines in Uncoupling Protein That Are Essential for Nucleotide Binding and Inhibition, *Journal of Biological Chemistry*, **272**(40), 24759-24762.
- [42] **Garlid, K.D., Jaburek, M. and Jezek, P.**, 2001. Mechanism of uncoupling protein action, *Biochem Soc Trans*, **29**(Pt 6), 803-6.
- [43] **Nicholls, D.G. and Locke, R.M.**, 1984. Thermogenic mechanisms in brown fat, *Physiol Rev*, **64**(1), 1-64.
- [44] **Boss, O., Muzzin, P. and Giacobino, J.P.**, 1998. The uncoupling proteins, a review, *Eur J Endocrinol*, **139**(1), 1-9.
- [45] **Kim-Han, J.S., Reichert, S.A., Quick, K.L. and Dugan, L.L.**, 2001. BMCP1: a mitochondrial uncoupling protein in neurons which regulates mitochondrial function and oxidant production, *J Neurochem*, **79**(3), 658-68.
- [46] **Budd, S.L., Tanneti, L., Lishnak, T. and Lipton, S.A.**, 2000. Mitochondrial and extramitochondrial apoptotic signaling pathways in cerebrocortical neurons, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**(11), 6161-6.
- [47] **Yamasaki, H., Sasaki, H., Ogawa, K., Shono, T., Tamura, S., Doi, A., Sasahara, M., Kawashima, H., Nakao, T., Furuta, H., Nishi, M. and Nanjo, K.**

2006. Uncoupling protein 2 promoter polymorphism -866G/A affects peripheral nerve dysfunction in Japanese type 2 diabetic patients, *Diabetes Care*, **29**(4), 888-94.
- [48] **Hong, Y., Fink, B.D., Dillon, J.S. and Sivitz, W.I.**, 2001. Effects of adenoviral overexpression of uncoupling protein-2 and -3 on mitochondrial respiration in insulinoma cells, *Endocrinology*, **142**(1), 249-56.
 - [49] **Vincent, A.M., Brownlee, M. and Russell, J.W.**, 2002. Oxidative stress and programmed cell death in diabetic neuropathy, *Ann N Y Acad Sci*, **959**, 368-83.
 - [50] **Sanchis, D., Fleury, C., Chomiki, N., Gubern, M., Huang, Q., Neverova, M., Gregoire, F., Easlick, J., Raimbault, S., Levi-Meyrueis, C., Miroux, B., Collins, S., Seldin, M., Richard, D., Warden, C., Bouillaud, F. and Ricquier, D.**, 1998. BMCP1, a novel mitochondrial carrier with high expression in the central nervous system of humans and rodents, and respiration uncoupling activity in recombinant yeast, *J Biol Chem*, **273**(51), 34611-5.
 - [51] **Mao, W., Yu, X.X., Zhong, A., Li, W., Brush, J., Sherwood, S.W., Adams, S.H. and Pan, G.**, 1999. UCP4, a novel brain-specific mitochondrial protein that reduces membrane potential in mammalian cells, *FEBS Lett*, **443**(3), 326-30.
 - [52] **Yu, X.X., Mao, W., Zhong, A., Schow, P., Brush, J., Sherwood, S.W., Adams, S.H. and Pan, G.**, 2000. Characterization of novel UCP5/BMCP1 isoforms and differential regulation of UCP4 and UCP5 expression through dietary or temperature manipulation, *FASEB J*, **14**(11), 1611-8.
 - [53] **Berardi, M.J., Shih, W.M., Harrison, S.C. and Chou, J.J.**, 2011. Mitochondrial uncoupling protein 2 structure determined by NMR molecular fragment searching, *Nature*, **476**(7358), 109-13.
 - [54] **Pebay-Peyroula, E., Dahout-Gonzalez, C., Kahn, R., Trezeguet, V., Lauquin, G.J. and Brandolin, G.**, 2003. Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside, *Nature*, **426**(6962), 39-44.
 - [55] **Miroux, B., Frossard, V., Raimbault, S., Ricquier, D. and Bouillaud, F.**, 1993. The topology of the brown adipose tissue mitochondrial uncoupling protein determined with antibodies against its antigenic sites revealed by a library of fusion proteins, *EMBO J*, **12**(10), 3739-45.
 - [56] **Klingenberg, M. and Appel, M.**, 1989. The uncoupling protein dimer can form a disulfide cross-link between the mobile C-terminal SH groups, *Eur J Biochem*, **180**(1), 123-31.
 - [57] **Arechaga, I., Ledesma, A. and Rial, E.**, 2001. The mitochondrial uncoupling protein UCP1: a gated pore, *IUBMB Life*, **52**(3-5), 165-73.

- [58] **Nedergaard, J. and Cannon, B.,** 2003. The 'novel' 'uncoupling' proteins UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions, *Exp Physiol*, **88**(1), 65-84.
- [59] **Cline, G.W., Vidal-Puig, A.J., Dufour, S., Cadman, K.S., Lowell, B.B. and Shulman, G.I.,** 2001. In vivo effects of uncoupling protein-3 gene disruption on mitochondrial energy metabolism, *J Biol Chem*, **276**(23), 20240-4.
- [60] **Yu, X.X., Barger, J.L., Boyer, B.B., Brand, M.D., Pan, G. and Adams, S.H.,** 2000. Impact of endotoxin on UCP homolog mRNA abundance, thermoregulation, and mitochondrial proton leak kinetics, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **279**(2), E433-46.
- [61] **Horvath, T.L., Warden, C.H., Hajos, M., Lombardi, A., Goglia, F. and Diano, S.,** 1999. Brain uncoupling protein 2: uncoupled neuronal mitochondria predict thermal synapses in homeostatic centers, *J Neurosci*, **19**(23), 10417-27.
- [62] **Nicholls, D.G. and Ward, M.W.,** 2000. Mitochondrial membrane potential and neuronal glutamate excitotoxicity: mortality and millivolts, *Trends Neurosci*, **23**(4), 166-74.
- [63] **Stout, A.K., Raphael, H.M., Kanterewicz, B.I., Klann, E. and Reynolds, I.J.,** 1998. Glutamate-induced neuron death requires mitochondrial calcium uptake, *Nat Neurosci*, **1**(5), 366-73.
- [64] **Teshima, Y., Akao, M., Jones, S.P. and Marban, E.,** 2003. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes, *Circ Res*, **93**(3), 192-200.
- [65] **Langin, D.,** 2001. Diabetes, insulin secretion, and the pancreatic beta-cell mitochondrion, *N Engl J Med*, **345**(24), 1772-4.
- [66] **Diano, S., Matthews, R.T., Patrylo, P., Yang, L., Beal, M.F., Barnstable, C.J. and Horvath, T.L.,** 2003. Uncoupling protein 2 prevents neuronal death including that occurring during seizures: a mechanism for preconditioning, *Endocrinology*, **144**(11), 5014-21.
- [67] **Garcia-Martinez, C., Sibille, B., Solanes, G., Darimont, C., Mace, K., Villarroja, F. and Gomez-Foix, A.M.,** 2001. Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid vs. glucose oxidation, *FASEB J*, **15**(11), 2033-5.
- [68] **Andrews, Z.B., Horvath, B., Barnstable, C.J., Elsworth, J., Yang, L., Beal, M.F., Roth, R.H., Matthews, R.T. and Horvath, T.L.,** 2005. Uncoupling protein-2 is critical for nigral dopamine cell survival in a mouse model of Parkinson's disease, *J Neurosci*, **25**(1), 184-91.
- [69] **Rossmeis, M., Barbatelli, G., Flachs, P., Brauner, P., Zingaretti, M.C., Marelli, M., Janovská, P., Horáková, M., Syrový, I., Cinti, S. and Kopecký, J.,**

2002. Expression of the uncoupling protein 1 from the aP2 gene promoter stimulates mitochondrial biogenesis in unilocular adipocytes in vivo, *European Journal of Biochemistry*, **269**(1), 19-28.
- [70] **Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C. and Spiegelman, B.M., 1999.** Mechanisms Controlling Mitochondrial Biogenesis and Respiration through the Thermogenic Coactivator PGC-1, *Cell*, **98**(1), 115-124.
- [71] **Wisloff, U., Najjar, S.M., Ellingsen, O., Haram, P.M., Swoap, S., Al-Share, Q., Fernstrom, M., Rezaei, K., Lee, S.J., Koch, L.G. and Britton, S.L., 2005.** Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity, *Science*, **307**(5708), 418-20.
- [72] **Korshunov, S.S., Skulachev, V.P. and Starkov, A.A., 1997.** High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria, *FEBS Lett*, **416**(1), 15-8.
- [73] **Horvath, T.L., Diano, S., Leranth, C., Garcia-Segura, L.M., Cowley, M.A., Shanabrough, M., Elsworth, J.D., Sotonyi, P., Roth, R.H., Dietrich, E.H., Matthews, R.T., Barnstable, C.J. and Redmond, D.E., Jr., 2003.** Coenzyme Q induces nigral mitochondrial uncoupling and prevents dopamine cell loss in a primate model of Parkinson's disease, *Endocrinology*, **144**(7), 2757-60.
- [74] **Sullivan, P.G., Dube, C., Dorenbos, K., Steward, O. and Baram, T.Z., 2003.** Mitochondrial uncoupling protein-2 protects the immature brain from excitotoxic neuronal death, *Ann Neurol*, **53**(6), 711-7.
- [75] **Mattson, M.P. and Liu, D., 2003.** Mitochondrial potassium channels and uncoupling proteins in synaptic plasticity and neuronal cell death, *Biochem Biophys Res Commun*, **304**(3), 539-49.
- [76] **Mattson, M.P., 2004.** Pathways towards and away from Alzheimer's disease, *Nature*, **430**(7000), 631-9.
- [77] **Voehringer, D.W., Hirschberg, D.L., Xiao, J., Lu, Q., Roederer, M., Lock, C.B., Herzenberg, L.A. and Steinman, L., 2000.** Gene microarray identification of redox and mitochondrial elements that control resistance or sensitivity to apoptosis, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**(6), 2680-5.
- [78] **Aihara, H., Okada, Y. and Tamaki, N., 2001.** The effects of cooling and rewarming on the neuronal activity of pyramidal neurons in guinea pig hippocampal slices, *Brain Res*, **893**(1-2), 36-45.
- [79] **Smythies, J., 1999.** Redox mechanisms at the glutamate synapse and their significance: a review, *Eur J Pharmacol*, **370**(1), 1-7.

- [80] **Scarpace, P.J., Matheny, M., Borst, S. and Tumer, N.,** 1994. Thermoregulation with age: role of thermogenesis and uncoupling protein expression in brown adipose tissue, *Proc Soc Exp Biol Med*, **205**(2), 154-61.
- [81] **Yamada, S., Isojima, Y., Yamatodani, A. and Nagai, K.,** 2003. Uncoupling protein 2 influences dopamine secretion in PC12h cells, *J Neurochem*, **87**(2), 461-9.
- [82] **Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y. and Sheng, M.,** 2004. The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses, *Cell*, **119**(6), 873-87.
- [83] **Zinsmaier, K.E., Babic, M. and Russo, G.J.,** 2009. Mitochondrial transport dynamics in axons and dendrites, *Results Probl Cell Differ*, **48**, 107-39.
- [84] **Diano, S., Urbanski, H.F., Horvath, B., Bechmann, I., Kagiya, A., Nemeth, G., Naftolin, F., Warden, C.H. and Horvath, T.L.,** 2000. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in the nonhuman primate brain and pituitary, *Endocrinology*, **141**(11), 4226-38.
- [85] **Rupprecht, A., Sittner, D., Smorodchenko, A., Hilse, K.E., Goyn, J., Moldzio, R., Seiler, A.E., Brauer, A.U. and Pohl, E.E.,** 2014. Uncoupling protein 2 and 4 expression pattern during stem cell differentiation provides new insight into their putative function, *PLoS One*, **9**(2), e88474.
- [86] **Horvath, B., Spies, C., Warden, C.H., Diano, S. and Horvath, T.L.,** 2002. Uncoupling protein 2 in primary pain and temperature afferents of the spinal cord, *Brain Res*, **955**(1-2), 260-3.
- [87] **Morris, R., Cheunsuang, O., Stewart, A. and Maxwell, D.,** 2004. Spinal dorsal horn neurone targets for nociceptive primary afferents: do single neurone morphological characteristics suggest how nociceptive information is processed at the spinal level, *Brain Res Brain Res Rev*, **46**(2), 173-90.
- [88] **Horvath, B., Spies, C., Horvath, G., Kox, W.J., Miyamoto, S., Barry, S., Warden, C.H., Bechmann, I., Diano, S., Heemskerk, J. and Horvath, T.L.,** 2002. Uncoupling protein 2 (UCP2) lowers alcohol sensitivity and pain threshold, *Biochem Pharmacol*, **64**(3), 369-74.
- [89] **Ding, Y., Cesare, P., Drew, L., Nikitaki, D. and Wood, J.N.,** 2000. ATP, P2X receptors and pain pathways, *J Auton Nerv Syst*, **81**(1-3), 289-94.
- [90] **Mogil, J.S.,** 1999. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**(14), 7744-51.
- [91] **Baffy, G., Derdak, Z. and Robson, S.C.,** 2011. Mitochondrial recoupling: a novel therapeutic strategy for cancer[quest], *Br J Cancer*, **105**(4), 469-474.

- [92] **Chaturvedi, R.K. and Flint Beal, M.,** 2013. Mitochondrial diseases of the brain, *Free Radic Biol Med*, **63**, 1-29.
- [93] **Peixoto, P.M., Kim, H.J., Sider, B., Starkov, A., Horvath, T.L. and Manfredi, G.,** 2013. UCP2 overexpression worsens mitochondrial dysfunction and accelerates disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis, *Mol Cell Neurosci*, **57**, 104-10.
- [94] **Henshall, D.C. and Simon, R.P.,** 2005. Epilepsy and apoptosis pathways, *J Cereb Blood Flow Metab*, **25**(12), 1557-72.
- [95] **Bagetta, G., Paoletti, A.M., Leta, A., Del Duca, C., Nistico, R., Rotiroti, D. and Corasaniti, M.T.,** 2002. Abnormal expression of neuronal nitric oxide synthase triggers limbic seizures and hippocampal damage in rat, *Biochem Biophys Res Commun*, **291**(2), 255-60.
- [96] **Bellissimo, M.I., Amado, D., Abdalla, D.S., Ferreira, E.C., Cavaleiro, E.A. and Naffah-Mazzacoratti, M.G.,** 2001. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and the hydroperoxide concentration are modified in the hippocampus of epileptic rats, *Epilepsy Res*, **46**(2), 121-8.
- [97] **Nicholls, D.G. and Budd, S.L.,** 1998. Mitochondria and neuronal glutamate excitotoxicity, *Biochim Biophys Acta*, **1366**(1-2), 97-112.
- [98] **Billups, B. and Forsythe, I.D.,** 2002. Presynaptic mitochondrial calcium sequestration influences transmission at mammalian central synapses, *J Neurosci*, **22**(14), 5840-7.
- [99] **Clavel, S., Paradis, E., Ricquier, D. and Richard, D.,** 2003. Kainic acid upregulates uncoupling protein-2 mRNA expression in the mouse brain, *Neuroreport*, **14**(16), 2015-7.
- [100] **Conti, B., Sugama, S., Lucero, J., Winsky-Sommerer, R., Wirz, S.A., Maher, P., Andrews, Z., Barr, A.M., Morale, M.C., Paneda, C., Pemberton, J., Gaidarova, S., Behrens, M.M., Beal, F., Sanna, P.P., Horvath, T. and Bartfai, T.,** 2005. Uncoupling protein 2 protects dopaminergic neurons from acute 1,2,3,6-methyl-phenyl-tetrahydropyridine toxicity, *J Neurochem*, **93**(2), 493-501.
- [101] **Sullivan, P.G., Rippey, N.A., Dorenbos, K., Concepcion, R.C., Agarwal, A.K. and Rho, J.M.,** 2004. The ketogenic diet increases mitochondrial uncoupling protein levels and activity, *Ann Neurol*, **55**(4), 576-80.
- [102] **Duan, W. and Mattson, M.P.,** 1999. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease, *J Neurosci Res*, **57**(2), 195-206.

- [103] **Rubenstein, J.L.**, 2011. Annual Research Review: Development of the cerebral cortex: implications for neurodevelopmental disorders, *J Child Psychol Psychiatry*, **52**(4), 339-55.
- [104] **Ziylan, T. and Murshid, K.A.**, 2000. Korteksin anatomik yapısı ve fonksiyonel alanları, *Genel Tıp Dergisi*, **10**(2), 87-91.
- [105] **Hall, J.E.**, 2013. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- [106] **Szarek, E., Cheah, P.S., Schwartz, J. and Thomas, P.**, 2010. Molecular genetics of the developing neuroendocrine hypothalamus, *Mol Cell Endocrinol*, **323**(1), 115-23.
- [107] **Caqueret, A., Boucher, F. and Michaud, J.L.**, 2006. Laminar organization of the early developing anterior hypothalamus, *Dev Biol*, **298**(1), 95-106.
- [108] **Perez-Castro, C., Renner, U., Haedo, M.R., Stalla, G.K. and Arzt, E.**, 2012. Cellular and molecular specificity of pituitary gland physiology, *Physiol Rev*, **92**(1), 1-38.
- [109] **Morgan, P.J., Webster, C.A., Mercer, J.G., Ross, A.W., Hazlerigg, D.G., MacLean, A. and Barrett, P.**, 1996. The ovine pars tuberalis secretes a factor(s) that regulates gene expression in both lactotropic and nonlactotropic pituitary cells, *Endocrinology*, **137**(9), 4018-26.
- [110] **Morgan, P.J. and Williams, L.M.**, 1996. The pars tuberalis of the pituitary: a gateway for neuroendocrine output, *Rev Reprod*, **1**(3), 153-61.
- [111] **Lamacz, M., Tonon, M.C., Louiset, E., Cazin, L. and Vaudry, H.**, 1991. The intermediate lobe of the pituitary, model of neuroendocrine communication, *Arch Int Physiol Biochim Biophys*, **99**(3), 205-19.
- [112] **Rosso, L. and Mienville, J.M.**, 2009. Pituicyte modulation of neurohormone output, *Glia*, **57**(3), 235-43.
- [113] **Songur, A., Özen, O.A. and Sarsılmaz, M.**, 2001. Hipokampus, *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, **21**(5), 427-431.
- [114] **Finger, S.**, 2001. Origins of Neuroscience: A History of Explorations Into Brain Function, Oxford University Press, US.
- [115] **Song, C. and Leonard, B.E.**, 1995. Interleukin-2-induced changes in behavioural, neurotransmitter, and immunological parameters in the olfactory bulbectomized rat, *Neuroimmunomodulation*, **2**(5), 263-73.
- [116] **Haas, H.S. and Schauenstein, K.**, 1997. Neuroimmunomodulation via limbic structures--the neuroanatomy of psychoimmunology, *Prog Neurobiol*, **51**(2), 195-222.

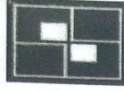
- [117] **Herman, J.P., Cullinan, W.E., Young, E.A., Akil, H. and Watson, S.J., 1992.** Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression, *Brain Res*, **592**(1–2), 228-238.
- [118] **Wang, J.Q. and Ingenito, A.J., 1994.** Cardiovascular effects of microinjection of dynorphin-A(1-8) into the hippocampus in conscious, spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats, *Clin Exp Hypertens*, **16**(2), 229-43.
- [119] **Pedros, I., Petrov, D., Allgaier, M., Sureda, F., Barroso, E., Beas-Zarate, C., Auladell, C., Pallas, M., Vazquez-Carrera, M., Casadesus, G., Folch, J. and Camins, A., 2014.** Early alterations in energy metabolism in the hippocampus of APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer's disease, *Biochim Biophys Acta*, **1842**(9), 1556-1566.
- [120] **Boley, A.M., Perez, S.M. and Lodge, D.J., 2014.** A fundamental role for hippocampal parvalbumin in the dopamine hyperfunction associated with schizophrenia, *Schizophr Res*.
- [121] **Amiresmaili, S., Shamsizadeh, A., Allahtavakoli, M., Pourshanazari, A.A. and Roohbakhsh, A., 2014.** The effect of intra-ventral hippocampus administration of TRPV1 agonist and antagonist on spatial learning and memory in male rats, *Pharmacol Rep*, **66**(1), 10-4.
- [122] **Tamnes, C.K., Walhovd, K.B., Engvig, A., Grydeland, H., Krogsrud, S.K., Ostby, Y., Holland, D., Dale, A.M. and Fjell, A.M., 2014.** Regional Hippocampal Volumes and Development Predict Learning and Memory, *Dev Neurosci*.
- [123] **Bolam, J.P., Hanley, J.J., Booth, P.A. and Bevan, M.D., 2000.** Synaptic organisation of the basal ganglia, *J Anat*, **196 (Pt 4)**, 527-42.
- [124] **Kreitzer, A.C., 2009.** Physiology and pharmacology of striatal neurons, *Annu Rev Neurosci*, **32**, 127-47.
- [125] **Graybiel, A.M., 2000.** The basal ganglia, *Curr Biol*, **10**(14), R509-11.
- [126] **Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J. and Emson, P.C., 1995.** Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization, *Trends Neurosci*, **18**(12), 527-35.
- [127] **Smith, Y., Bevan, M.D., Shink, E. and Bolam, J.P., 1998.** Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia, *Neuroscience*, **86**(2), 353-87.
- [128] **DeLong, M.R., 1990.** Primate models of movement disorders of basal ganglia origin, *Trends Neurosci*, **13**(7), 281-5.
- [129] **Breakefield, X.O., Blood, A.J., Li, Y., Hallett, M., Hanson, P.I. and Standaert, D.G., 2008.** The pathophysiological basis of dystonias, *Nat Rev Neurosci*, **9**(3), 222-34.

- [130] **Graybiel, A.M.**, 2008. Habits, rituals, and the evaluative brain, *Annu Rev Neurosci*, **31**, 359-87.
- [131] **Adel, K.A. and Bergman, R.**, 2005. Functional neuroanatomy (2nd ed.), McGraw-Hill Medical, New York.
- [132] **Molliver, E.O.H., Mark E.**, 2001. Organizational principles and microcircuitry of the cerebellum, *International Review of Psychiatry*, **13**(4), 232-246.
- [133] **O'Halloran, C.J., Kinsella, G.J. and Storey, E.**, 2012. The cerebellum and neuropsychological functioning: a critical review, *J Clin Exp Neuropsychol*, **34**(1), 35-56.
- [134] **Glickstein, M., Strata, P. and Voogd, J.**, 2009. Cerebellum: history, *Neuroscience*, **162**(3), 549-59.
- [135] **Manto, M. and Pandolfo, M.**, 2002. The cerebellum and its disorders, Cambridge University Press, New York.
- [136] Alzet. http://www.alzet.com/products/guide_to_use/cfs_preparation.html. Son erişim 10.09.2014.
- [137] **Paxinos, G. and Watson, C.**, 2013. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates , 7th Edition, Academic Press, London, UK.
- [138] **Richard, D., Rivest, R., Huang, Q., Bouillaud, F., Sanchis, D., Champigny, O. and Ricquier, D.**, 1998. Distribution of the uncoupling protein 2 mRNA in the mouse brain, *J Comp Neurol*, **397**(4), 549-60.
- [139] **Richard, D., Clavel, S., Huang, Q., Sanchis, D. and Ricquier, D.**, 2001. Uncoupling protein 2 in the brain: distribution and function, *Biochem Soc Trans*, **29**(Pt 6), 812-7.
- [140] **Kong, D., Vong, L., Parton, L.E., Ye, C., Tong, Q., Hu, X., Choi, B., Bruning, J.C. and Lowell, B.B.**, 2010. Glucose stimulation of hypothalamic MCH neurons involves K(ATP) channels, is modulated by UCP2, and regulates peripheral glucose homeostasis, *Cell Metab*, **12**(5), 545-52.
- [141] **Stevanovic, D.M., Grefhorst, A., Themmen, A.P., Popovic, V., Holstege, J., Haasdijk, E., Trajkovic, V., van der Lely, A.J. and Delhanty, P.J.**, 2014. Unacylated ghrelin suppresses ghrelin-induced neuronal activity in the hypothalamus and brainstem of male rats, *PLoS One*, **9**(5), e98180.
- [142] **Andrews, Z.B., Liu, Z.-W., Wallingford, N., Erion, D.M., Borok, E., Friedman, J.M., Tschop, M.H., Shanabrough, M., Cline, G., Shulman, G.I., Coppola, A., Gao, X.-B., Horvath, T.L. and Diano, S.**, 2008. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals, *Nature*, **454**(7206), 846-851.

- [143] **Kirsz, K. and Zieba, D.A.**, 2011. Ghrelin-mediated appetite regulation in the central nervous system, *Peptides*, **32**(11), 2256-64.
- [144] **Diano, S. and Horvath, T.L.**, 2012. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism, *Trends Mol Med*, **18**(1), 52-8.
- [145] **Piya, M.K., Harte, A.L., Sivakumar, K., Tripathi, G., Voyias, P.D., James, S., Sabico, S., Al-Daghri, N.M., Saravanan, P., Barber, T.M., Kumar, S., Vatish, M. and McTernan, P.G.**, 2014. The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: influence of adiposity, metabolic markers, and gestational diabetes, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **306**(5), E512-8.
- [146] **Nedergaard, J., Golozoubova, V., Matthias, A., Asadi, A., Jacobsson, A. and Cannon, B.**, 2001. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, **1504**(1), 82-106.
- [147] **Ramsden, D.B., Ho, P.W., Ho, J.W., Liu, H.F., So, D.H., Tse, H.M., Chan, K.H. and Ho, S.L.**, 2012. Human neuronal uncoupling proteins 4 and 5 (UCP4 and UCP5): structural properties, regulation, and physiological role in protection against oxidative stress and mitochondrial dysfunction, *Brain Behav*, **2**(4), 468-78.
- [148] **Saier, M.H., Jr.**, 2000. Vectorial metabolism and the evolution of transport systems, *J Bacteriol*, **182**(18), 5029-35.
- [149] **Kitahara, T., Li, H.S. and Balaban, C.D.**, 2004. Localization of the mitochondrial uncoupling protein family in the rat inner ear, *Hear Res*, **196**(1-2), 39-48.
- [150] **Vincent, A.M., Olzmann, J.A., Brownlee, M., Sivitz, W.I. and Russell, J.W.**, 2004. Uncoupling proteins prevent glucose-induced neuronal oxidative stress and programmed cell death, *Diabetes*, **53**(3), 726-34.
- [151] **Mehta, S.L. and Li, P.A.**, 2009. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke, *J Cereb Blood Flow Metab*, **29**(6), 1069-78.
- [152] **Coppola, A., Liu, Z.W., Andrews, Z.B., Paradis, E., Roy, M.C., Friedman, J.M., Ricquier, D., Richard, D., Horvath, T.L., Gao, X.B. and Diano, S.**, 2007. A central thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T3 and UCP2, *Cell Metab*, **5**(1), 21-33.
- [153] **Cheng, A., Hou, Y. and Mattson, M.P.**, 2010. Mitochondria and neuroplasticity, *ASN Neuro*, **2**(5), e00045.
- [154] **Smorodchenko, A., Rupprecht, A., Sarilova, I., Ninnemann, O., Brauer, A.U., Franke, K., Schumacher, S., Techritz, S., Nitsch, R., Schuelke, M. and Pohl, E.E.**, 2009. Comparative analysis of uncoupling protein 4 distribution in various tissues under physiological conditions and during development, *Biochim Biophys Acta*, **1788**(10), 2309-19.

- [155] **Moreno-Navarrete, J.M., Ortega, F., Serrano, M., Guerra, E., Pardo, G., Tinahones, F., Ricart, W. and Fernandez-Real, J.M.,** 2013. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance, *J Clin Endocrinol Metab*, **98**(4), E769-78.
- [156] **Dong, C., Della-Morte, D., Wang, L., Cabral, D., Beecham, A., McClendon, M.S., Luca, C.C., Blanton, S.H., Sacco, R.L. and Rundek, T.,** 2011. Association of the sirtuin and mitochondrial uncoupling protein genes with carotid plaque, *PLoS One*, **6**(11), e27157.
- [157] **Mouaffak, F., Kebir, O., Bellon, A., Gourevitch, R., Tordjman, S., Viala, A., Millet, B., Jaafari, N., Olie, J.P. and Krebs, M.O.,** 2011. Association of an UCP4 (SLC25A27) haplotype with ultra-resistant schizophrenia, *Pharmacogenomics*, **12**(2), 185-93.
- [158] **Yasuno, K., Ando, S., Misumi, S., Makino, S., Kulski, J.K., Muratake, T., Kaneko, N., Amagane, H., Someya, T., Inoko, H., Suga, H., Kanemoto, K. and Tamiya, G.,** 2007. Synergistic association of mitochondrial uncoupling protein (UCP) genes with schizophrenia, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **144B**(2), 250-3.
- [159] **Guzman, J.N., Sanchez-Padilla, J., Wokosin, D., Kondapalli, J., Ilijic, E., Schumacker, P.T. and Surmeier, D.J.,** 2010. Oxidant stress evoked by pacemaking in dopaminergic neurons is attenuated by DJ-1, *Nature*, **468**(7324), 696-700.
- [160] **Meeusen, R.,** 2014. Exercise, nutrition and the brain, *Sports Med*, **44 Suppl 1**, S47-56.
- [161] **Hollmann, W. and Struder, H.K.,** 2000. Brain function, mind, mood, nutrition, and physical exercise, *Nutrition*, **16**(7-8), 516-9.
- [162] **Greenberg, M.E., Xu, B., Lu, B. and Hempstead, B.L.,** 2009. New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function, *J Neurosci*, **29**(41), 12764-7.
- [163] **Park, H. and Poo, M.M.,** 2013. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function, *Nat Rev Neurosci*, **14**(1), 7-23.
- [164] **Kuipers, S.D. and Bramham, C.R.,** 2006. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy, *Curr Opin Drug Discov Devel*, **9**(5), 580-6.

EK1. ETİK KURUL BELGESİ



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU BAŞKANLIĞI



ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÖZÜ
06.03.2013	2013/02	29	Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ

KARAR

“Sıçanlarda İntraserebroventriküler İrisin Uygulamasının Beyindeki Eşleşme Bozucu (Uncoupling) Protein Ailesi Üzerine Etkileri” başlıklı araştırma projenizde 80 Adet Sprague Dawley ırkı rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede, anılan projenin “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik” hükümleri yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN	Tıp Fakültesi Patoloji A.D.	
Raportör	Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU	Fen Fak. Moleküler Biyoloji A.D.	
Üye	Doç. Dr. Mete ÖZCAN	Tıp Fakültesi Biyofizik A.D.	
Üye	Prof. Dr. Abdullah ÖZEN	Veteriner Fakültesi Deontoloji A.D.	
Üye	Doç. Dr. Cihan GÜNAY	Veteriner Hekim	
Üye	Tahsin AVCI	Sivil üye	
Üye	Hıdır DOĞAN	Sivil üye	

ADRES : F.Ü. Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı ELAZIĞ / TEL : 0 (424) 237 00 00 / 4639
BİLGİ : Hüseyin İPEK Dahili Tel: 4639 / e mail : huseyinipek@firat.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yavuz ERDEN
Doğum Yeri : Malatya
Doğum Tarihi : 15.04.1987
Yabancı Dil : İngilizce
e-mail : yavuzerden@hotmail.com
byerden@gmail.com

Eğitim Durumu

Lisans :Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2005-2009).
Y.Lisans :Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji-Genel Biyoloji Anabilim Dalı (2009-2011)
Y.Lisans :İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Tıp Bilimleri-Fizyoloji Anabilim Dalı (2012-2014)
Doktora :Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji-Genel Biyoloji Anabilim Dalı (2011-2014)

Tezler

1. Bazı *Scorzonera* Türlerinin Fitokimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması (Yüksek lisans tezi, Danışman: Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ, Fırat Üni. Fen Bilimleri Enst., 2011)
2. Sıçanlarda İntraserebroventriküler İrisin Uygulamasının Beyindeki Eşleşme Bozucu (Uncoupling) Protein Ailesi Üzerine Etkileri (Doktora tezi, Danışman: Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ, Fırat Üni. Fen Bilimleri Enst., 2014)
3. Sıçanlarda İntraserebroventriküler Apelin-13 Uygulamasının Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid Aksı Üzerine Etkisi (Yüksek lisans tezi, Danışman: Doç. Dr. Süleyman SANDAL, İnönü Üni. Sağlık Bilimleri Enst., 2014)

Uluslararası Hakemli Dergilerdeki Yayınlar (SCI, SCI- Expanded)

1. Yılmaz O, Ozsahin AD, Bircan B, **Erden Y**, Karaboga Z., “Radical scavenging activity of the *Pistacia terebinthus* in Fenton reagent environment and its protective effects on the unsaturated fatty acids”, Asian Journal of Chemistry, 22, 7949-7958 (2010).
2. Ozsahin AD, Kirecci OA, Yılmaz O, **Erden Y**, Bircan B, Karaboga Z. “Investigating inhibitory effects of *Punica granatum* fruit extracts on lipid peroxidation in the Fenton reagent environment”, Asian Journal of Chemistry, 24, 1010-1014 (2012).
3. **Erden Y**, Kırbağ S, Yılmaz O. “Phytochemical composition and antioxidant activity of some *Scorzonera* species”, Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 83(2), 271-276 (2013).
4. **Erden Y**, Kırbağ S. “Chemical and biological activities of some *Scorzonera* species: an in vitro study”, Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, DOI: 10.1007/s40011-013-0240-4 (*In press*).

Ulusal Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

1. **Erden Y**, Bircan B, Yılmaz Ö, Erecevit P. “Antioxidative activity and phytochemical composition of dried apricot”, Turkish Journal of Science & Technology, 8(2), 107-113 (2013).
2. Çöteli E, **Erden Y**, Karataş F. “Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) bitkisindeki malondialdehit, glutatyon ve vitamin miktarları ile total antioksidan kapasitesinin araştırılması”, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 17(2), 4-10 (2013).

Uluslararası Konferans ve Sempozyumlar

1. **Erden Y**, Bircan B, Eraslan E, Tekin S. “Antioxidative activity of dried apricot determined *In vitro* by inducing liver lipid peroxidation”, *Turkish-FEPS Physiology Congress, Istanbul-Turkey, 2011. (Acta Physiologica 2011; Volume 203, Supplement 686: PC275)*
2. Tekin S, **Erden Y**, Etem E, Sandal S, Colak C. “Can Apelin-13 be a new actor in control of obesity?”, *FEPS, Budapest-Hungary, 2014. P9.28 (Acta Physiologica 2014; Volume 211, Supplement 697: P9.28, 137-138 p.)*
3. Tekin S, **Erden Y**, Colak C, Sandal S. “Effects of chronic central administration of irisin on food intake, body weight and body temperature in the rats”, *FEPS, Budapest-*

Hungary, 2014. P9.29 (*Acta Physiologica 2014*; Volume 211, Supplement 697: P9.29, 138 p.)

4. Tekin S, Colak C, **Erden Y**, Sandal S. “Estimation of the relationships between irisin concentration and food intake, body weight and body temperature using polynomial regression models in the rats”, *FEPS, Budapest-Hungary*, 2014. P9.30 (*Acta Physiologica 2014*; Volume 211, Supplement 697: P9.30, 138 p.)
5. Sandal S, **Erden Y**, Tekin S, Etem E. “Effects of intracerebroventricular infusion of apelin-13 on the metabolism rate and energy expenditure”, *FEPS, Budapest-Hungary*, 2014. P9.32 (*Acta Physiologica 2014*; Volume 211, Supplement 697: P9.32, 139 p.)
6. Yilmaz U, **Erden Y**, Tekin S, Etem E, Sandal S. “Does apelin-13 affect the development of brown fat?”, *FEPS, Budapest-Hungary*, 2014. P9.33 (*Acta Physiologica 2014*; Volume 211, Supplement 697: P9.33, 139 p.)
7. Tekin S, **Erden Y**, Etem E, Tektemur A, Kirbag S, Sandal S. “Effect of intracerebroventricular irisin injection on the uncoupling protein expression in the rat brain”, *FEPS, Budapest-Hungary*, 2014. P10.44 (*Acta Physiologica 2014*; Volume 211, Supplement 697: P10.44, 157 p.)

Ulusal Konferans ve Sempozyumlar

1. **Erden Y**, Yılmaz Ö, Bircan B, Özşahin AD, Tuzcu M, Karaboğa Z. “*Pistacia terebinthus* L. ekstraktlarının soya ile mısırözü yağının bulunduğu *in vitro* ortamda LPO oluşumuna karşı antioksidan etkisinin araştırılması”, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010 Denizli, PA-090.
2. Özşahin AD, Aslan A, Yılmaz Ö, Baydaş Z, Gençoglu H, **Erden Y**, Tuzcu M. “Hidrojen peroksit ve Fe⁺⁺ iyonu varlığında beyin dokusundaki bazı biyomoleküllere kayısı ve üzüm ekstraktlarının etkisi”, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010 Denizli, PA-054.
3. Ozsahin AD, Yılmaz Ö, Kirecci OA, Tuzcu M, **Erden Y**. “*Prunus armeniaca* L. CV. Hacihaliloglu fruits extracts prevent lipid peroxidation and protect the unsaturated fatty acids in the Fenton reagent environment”, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010 Denizli, PA-077.
4. Bircan B, Yılmaz Ö, **Erden Y**, Özşahin AD, Karaboğa Z. “*Punica granatum* L. meyve ekstraktının *in vitro* ortamda oluşturulan lipid peroksidasyonu ve DPPH serbest

radikaline karşı antioksidan etkisinin araştırılması”, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010 Denizli, PA-080.

5. Yılmaz Ö, Önganer AN., Erecevit P, Kırbağ S, **Erden Y.** “*Triticum sativum* (Buğday) ekstraktlarının minimal besiyeri ortamında geliştirilen *Lactobacillus plantarum* üzerindeki yağ asidi ve vitamin biyosentezine etkisi”, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010 Denizli, PA-066.
6. **Erden Y**, Tekin S, Sandal S. “Sıçanlara intraserebroventriküler apelin-13 uygulaması kan kolesterol, LDL ve Trigliserit düzeyini artırır”, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P170.
7. **Erden Y**, Tekin S, Tektemur A, Etem E, Kırbağ S, Sandal S. “Sıçanlarda intraserebroventriküler irisin enjeksiyonunun farklı beyin bölgelerindeki uncoupling protein ekspresyonu üzerine etkisi”, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, S50.
8. Tekin S, Sandal S, **Erden Y**, Özyalın F, Özen H. “Apelinin üreme fonksiyonları üzerine etkileri: Obezite ile ilişkisi”, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P024.
9. Tekin S, Çolak C, **Erden Y**, Sandal S. “Farklı irisin konsantrasyonları ile bazı kan parametreleri arasındaki ilişkinin polinom regresyon modelleri ile tahmin edilmesi, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P084.
10. Tekin S, **Erden Y**, Sandal S. “Farklı tip insan prostat kanseri hücre serilerinde irisin hormonunun etkileri, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P141.
11. Tekin S, **Erden Y**, Sandal S. “Sıçanlara periferik apelin-13 uygulamasının bazı kan parametreleri üzerine etkileri”, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P171.
12. Tekin S, **Erden Y**, Sandal S. “Sıçanlara intraserebroventriküler irisin infüzyonunun serum LDL, HDL, trigiliserit ve total kolestrol üzerine etkisi”, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014 Kayseri, P182.

Projeler

1. **Yavuz ERDEN** (Yürütücü), Nida ASLAN, Burak BİRCAN, Zeynep KARABOĞA, “*In vitro* şartlarda bazı bitkisel yağların varlığında oluşturulan lipid peroksidasyonu üzerine *Pistacia terebinthus* & *Punica granatum* ekstraktlarının antioksidan etkisinin

araştırılması” (2008-2009, TÜBİTAK 2209-Üniversite Öğrencileri Yurt İçi / Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı)

2. Sevda KIRBAĞ, **Yavuz ERDEN** (Araştırmacı), “Bazı *Scorzonera* türlerinin fitokimyasal içeriklerinin belirlenmesi ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması” (2009-2011, FÜBAP - 2061)
3. Süleyman SANDAL, Suat TEKİN, **Yavuz ERDEN** (Araştırmacı), “Sıçanlarda intraserebroventriküler apelin-13 uygulamasının hipotalamus-hipofiz-tiroid aksı üzerine etkisi (2013-Devam ediyor, İÜBAP-207)
4. Süleyman SANDAL, Suat TEKİN, **Yavuz ERDEN** (Araştırmacı), “Erkek sıçanlarda periferik apelin-13 infüzyonunun hipotalamus-hipofiz-testiküler aks üzerine etkisi (2013-Devam ediyor, İÜBAP-180)
5. Suat TEKİN, Yılmaz ÇİĞREMİŞ, İbrahim TEKEDERELİ, Cemil ÇOLAK, Fatma ÖZYALIN, **Yavuz ERDEN** (Bursiyer), “Beslenmenin hipotalamik kontrolünde irisin hormonunun etkilerinin araştırılması” (2014-Devam ediyor, TÜBİTAK-114S138)
6. Sevda KIRBAĞ, **Yavuz ERDEN** (Araştırmacı), Ebru ÖNALAN, Suat TEKİN, Süleyman SANDAL, “Sıçanlarda intraserebroventriküler irisin uygulamasının beyindeki eşleşme bozucu (uncoupling) protein ailesi üzerine etkileri” (2013-Devam ediyor, FÜBAP FF.13.26)

Katıldığı Bilimsel Etkinlikler, Kurslar ve Sertifikalar, Üyesi Bulunduğu Kuruluşlar

1. T.C. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu. “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” (2010).
2. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Denizli (2010).
3. ISO 17025:2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği Sertifikası (2011).
4. ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18001 Entegre Yönetim Sistemi İç Denetçi Sertifikası (2011).
5. Avrupa Fizyoloji Kongresi (FEPS)-İstanbul (2011).
7. 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara (2013).
8. Elektroforez Yöntemleri ve Western Blot Uygulaması Kursu, Hacettepe Üniversitesi, Ankara (2013).
9. Wiley Learn how to get your work published in international journals, Elazığ (2014).
10. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Kayseri (2014).
11. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Türkiye.