



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI



**NESFATİN NÖRONLARININ BESİN ALIMINI BASKILAYICI
İŞLEVİ ÜZERİNE GONADAL STEROİD HORMONLARIN
ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

CEREN OY

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2018

Ceren OY

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2018



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM
DALI



**NESFATİN NÖRONLARININ BESİN ALIMINI BASKILAYICI İŞLEVİ
ÜZERİNE GONADAL STEROİD HORMONLARIN ETKİSİNİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Ceren OY

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof.Dr. Semiha ERSOY

BURSA-2018

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYAN

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum
“**Nesfatin nöronlarının besin alımını baskılayıcı işlevi üzerine gonadal steroid hormonların etkisinin immünohistokimyasal olarak araştırılması**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Ceren OY

Tarih ve İmza

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ceren OY tarafından hazırlanan “Nesfatin nöronlarının besin alımını baskılayıcı işlevi üzerine gonadal steroid hormonların etkisinin immünohistokimyasal olarak araştırılması” konulu Yüksek Lisans tezi 14/09/2018 günü, 14:00-15:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Adı-Sovadı

İmza

Tez Danışmanı Prof. Dr. Semiha ERSOY

Üye Prof. Dr. Özhan EYİĞÖR

Üye Prof. Dr. Güven ERBİL

Üye

Üye

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali AYDOĞDU
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

28/08/2018

Adı Soyadı: Ceren OY

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Konusu: Nesfatin nöronlarının besin alımını baskılayıcı işlevi üzerine gonadal steroid hormonların etkisinin immünohistokimyasal olarak araştırılması.

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Semiha ERSOY

İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Enerji Dengesi ve Obezite.....	3
2.2. Vücutta Enerji Dengesinin Düzenlenmesi	4
2.2.1. Besin Alımı ve Hipotalamus	5
2.2.2. Besin Alımının Düzenlenmesinde Rol Alan Peptitler	11
2.2.3. Enerji Dengesi ve Gonadal Hormonlar	13
2.3. Östrojen Hormonu	14
2.3.1. Östrojen Hormonu Genel Özellikleri	14
2.3.2. Östrojen Reseptörleri ve Etki Mekanizmaları	15
2.3.3. Östrojen Reseptör Alfa (ER- α)	17
2.3.3.1. Merkezi Sinir Sisteminde ER- α Ekspresyonu	17
2.3.4. Östrojen Reseptör Beta (ER- β).....	17
2.3.4.1. Merkezi Sinir Sisteminde ER- β Ekspresyonu	18
2.3.5. G Protein Kenetli Östrojen Reseptör (GPER)	18
2.3.5.1. Merkezi Sinir Sisteminde GPER Ekspresyonu	19
2.4. Enerji Dengesinin Düzenlenmesinde Östrojenin Rolü	19
2.4.1. Östrojenin Periferal Etkileri	20
2.4.1.1. Östrojenin Yağ Dokusu Dağılımı ve Lipit Metabolizması Üzerine Etkileri.....	20
2.4.1.2. Östrojenin İskelet Kasında Glikoz Alımı Üzerine Etkileri	21
2.4.1.3. Östrojenin Karaciğer Metabolizması Üzerine Etkileri	22
2.4.1.4. Östrojenin Pankreatik Hücre Fonksiyonu Üzerine Etkileri	23
2.4.2. Östrojenin Merkezi Etkileri	23
2.4.2.1. ER- α Aracılı Etkileri.....	24
2.4.2.2. ER- β Aracılı Etkileri.....	25
2.4.2.3. GPER Aracılı Etkileri.....	25

2.4.3. Östrojenin İlişkili Olduğu Besin Alımını Düzenleyici Moleküller.....	25
2.4.3.1. Oreksijenik Peptitler.....	26
2.4.3.2. Anoreksijenik Peptitler.....	29
2.5. Nesfatin-1	32
2.5.1. Nesfatin-1 Genel Özellikleri	32
2.5.2. Nesfatin-1 Ekspresyonu	33
2.5.3. Nesfatin-1 ve Besin Alımının Düzenlenmesi	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Hayvanlar	36
3.2. Dokuların Eldesi ve Saklanması	36
3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem	37
3.3.1. Antikorlar İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi.....	37
3.3.2. İmmünohistokimyasal İşaretlemelerin Kontrolü.....	37
3.3.3. Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptör Alfa ve Beta (ER- α ve ER- β) İşaretlemeleri.....	38
3.4. Preparatların İncelenmesi.....	40
3.5 İstatistiksel Değerlendirme.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. İmmünohistokimyasal İşaretlemeler	41
4.2. Hipotalamusta Nesfatin-1 Nöronlarının Dağılımı.....	42
4.3. Hipotalamusta ER- α Ekspresyonu	42
4.4. Hipotalamusta ER- β Ekspresyonu	42
4.5. Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptörlerinin Varlığı	43
4.5.1. Nesfatin-1 Nöronlarında ER- α Ekspresyonu	44
4.5.2. Nesfatin-1 Nöronlarında ER- β Ekspresyonu.....	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	48
6. KAYNAKLAR	59
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	72
8. EKLER.....	74
9. TEŞEKKÜR	75
10. ÖZGEÇMİŞ.....	76

TÜRKÇE ÖZET

“Nesfatin nöronlarının besin alımını baskılayıcı işlevi üzerine gonadal steroid hormonların etkisinin immünohistokimyasal olarak araştırılması.”

Gonadal hormonlar, özellikle östrojen, metabolizma ve enerji homeostazında önemli bir rol oynar. Östrojenin besin alımını baskıladığı bilinmektedir. Östrojen hormonları etkilerini reseptörleri üzerinden gösterirler. Östrojen reseptör alfa ve beta (ER- α ve ER- β) hipotalamus da dahil olmak üzere vücut ağırlığı ve besin alımı kontrolüyle ilişkili beyin alanlarında eksprese edilen nükleer reseptörlerdir. Nesfatin-1 homeostatik besin alımını düzenleyen anoreksijenik bir peptittir. Beyinde nesfatin-1 eksprese eden nöronlar etkilerini başlıca hipotalamusta gösterirler. Literatürde nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonunu gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, nesfatin-1'in merkezi anoreksijenik etkilerinin nesfatin-1 nöronlarında eksprese edilen ER- α ve/veya ER- β üzerinden östrojen aracılığıyla direkt olarak gerçekleşip gerçekleşmediğinin ve bu ekspresyonda cinsiyetler arası olası farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hipotalamik nöronlarda nesfatin-1 ile ER- α , ER- β ko-lokalizasyonu, yüzen kesitlerde ikili immünohistokimyasal yöntem kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada erişkin Sprague Dawley türü sıçanlar kullanılmıştır. ER- α -ve ER- β pozitif olan ikili işaretlenmiş nesfatin-1 nöronlarının tüm nesfatin-1 nöronları içerisindeki oranı hesaplanmıştır. Arkuat nükleusda ER- α eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının oranı dişilerde %29, erkeklerde %40 olarak hesaplanmıştır. Erkek sıçanlarda daha yüksek oranda gözlenen ER- α ekspresyonu, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Nesfatin-1 nöronlarında ER- α immünoaktivitesi periventriküler nükleusda dişi ve erkeklerde %27 oranında hesaplanmıştır ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Paraventriküler nükleusda ER- β eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının oranı ise dişilerde %63 ve erkeklerde %58 olarak hesaplanmıştır ve cinsiyetler arasında istatistiksel değerlendirme sonucunda anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile nesfatin-1 nöronlarında ER- α ve ER- β ekspresyonunun varlığı literatürde ilk defa gösterilmiş olup, bunun östrojenin ER- α veya ER- β aracılığıyla nesfatin-1 nöronlarının aktivitesini etkiliyor olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Besin alımı, Nesfatin-1, Östrojen, Östrojen reseptör alfa, Östrojen reseptör beta

İNGİLİZCE ÖZET

“Immunohistochemical assessment of the effect of gonadal steroid hormones on the food intake suppressive function of nesfatin neurons.”

Gonadal hormones especially estrogens play a key role in metabolism and energy homeostasis. It's known that estrogens decrease food intake. Estrogens show their effects via binding to their receptors. Estrogen receptor alpha and beta (ER- α ve ER- β) are nuclear receptors which expressed in varied brain areas associated with body weight and food intake control, including the hypothalamus. Nesfatin-1 is an anorexigenic peptide which regulate homeostatic feeding. In the brain nesfatin-1 expressing neurons perform their actions mainly in the hypothalamus. In the literature, there is no study showing the relationship between estrogen and nesfatin-1 neurons. In this study, we aimed to investigate whether central anorexigenic effect of nesfatin-1 through estrogen by directly ER- α and/or ER- β which expressed in nesfatin-1 neurons or not and any possible gender difference in this expression. For this aim, nesfatin-1 and ER- α or ER- β co-localization was investigated in the hypothalamic neurons by using dual-immunohistochemical technique on free-floating, brain sections. In this study, adult Sprague-Dawley rats were used. The ratio of ER- α and ER- β positive nesfatin-1 neurons to all nesfatin-1 neurons was calculated. In arcuate nucleus the percentage of nesfatin-1 neurons expressing ER- α was 29% in female rats and 40% in male rats. The percentage of ER- α expression in male rats was higher and it was found statistically significant, too. ER- α immunoreactivity in nesfatin-1 neurons was determined as 27% in female and male rats in periventricular nucleus and there wasn't a significant difference between two groups. The percentage of nesfatin-1 neurons expressing ER- β was determined in paraventricular nucleus and it was 63% in female rats and 58% in male rats and as a result of statistical analyses there wasn't any significant difference between genders. As a result co-localization of ER- α and ER- β in nesfatin-1 neurons is detected for the first time with this study. And it is suggested that estrogens may mediate activity of nesfatin-1 neurons through ER- α and ER- β .

Key Words: Food intake, Nesfatin-1, Estrogen, Estrogen receptor alpha, Estrogen receptor beta

1.GİRİŞ

Obezite ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde getiren önemli bir sağlık problemidir (Sharma ve ark., 2018). Obezite ilişkili risk faktörlerinin görülme oranları ve biriken yağ dokusunun dağılımı, kadınlar ve erkekler arasında farklılık gösterir (Sharma ve ark., 2018; Valencak ve ark., 2017). Menopoz öncesi dönemdeki kadınlar ile aynı yaş aralığındaki erkekler karşılaştırıldığında, bu gruptaki kadınların erkeklere kıyasla kilo alımı ve metabolik hastalıklara karşı korunduğu ancak bu korumanın menopoz ile kaybolduğu gösterilmiştir (Lobo, 2008). Menopoz öncesi dönemdeki kadınlarda obezite ve metabolik sendrom görülme oranının erkeklere ve menopoz sonrası dönemdeki kadınlara kıyasla daha az olması östrojenlerle ilişkilendirilmektedir. Ovariectomi uygulanan kemirgenler ve postmenopozal kadınlar artan yağlanma, vücut yağ dağılımında değişiklikler, hiperfaji, glikoz intoleransı, düşük insülin duyarlılığı ve enerji tüketimi gibi benzer metabolik özellikleri paylaşırlar. Periferik veya merkezi olarak östrojen uygulanması bu etkilerin birçoğunu geriletir (Sharma ve ark., 2018). Östrojenler kadınlarda fertilitenin farklı yönlerini kontrol etmenin yanı sıra geniş bir yelpazedeki temel fizyolojik fonksiyonları kontrol eden birçok hücrenel süreçte de rol alır (López ve Tena-Sempere, 2017).

Östrojenin etkilerine transkripsiyonel aktivasyonla genomik yanıtlar oluşturan nükleer reseptörler olan östrojen reseptör alfa ve beta (ER- α ve ER- β) aracılık eder. Östrojenin metabolik etkileri çoğunlukla ER- α üzerinden gerçekleşir. ER- α knock-out ve knock-down deneklerde besin alımının ve vücut ağırlığı ile vücut yağlanmasının arttığı bildirilmiştir (Xu ve ark., 2011). ER- β ile yapılan çalışmalarda ise ER- β 'ya antisens oligonükleotidlerin kullanılarak östrojenin besin alımını baskılayıcı etkilerinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (Liang ve ark., 2002).

Östrojen reseptörleri merkezi sinir sisteminde (MSS), iştah, tokluk ve enerji tüketiminin düzenlenmesinde rol oynayan beyin bölgelerinde eksprese edilir (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013). Hipotalamus bu bölgelerden biridir ve hipotalamik çekirdeklerdeki nöronlar, periferden aldıkları sinyallere oreksijenik ve anoreksijenik peptitlerin sentezini modifiye ederek verdikleri yanıtlarla enerji homeostazında rol

oyun (Crespo ve ark., 2014). Östrojen de, doğrudan etkilerinin yanında gıda alımını etkileyen bu bileşiklerle olan etkileşimleri aracılığıyla besin alımını azaltır (Brown ve Clegg, 2010).

Hipotalamusda yerleşik nesfatin-1 nöronlarının açlık sonrası besin alımını takiben aktive olarak sentezlediği nesfatin-1 peptidi güçlü anoreksijenik etki göstermektedir (Stengel ve Taché, 2010). Besin alımını engelleyerek tokluğu indüklediği belirlenen nesfatin-1, “tokluk molekülü” olarak da adlandırılır (Oh-I ve ark., 2006). Son yıllarda enerji durumu ve diğer temel vücut işlevleri arasındaki yakın bağlantının bir yansıması olarak, iştah düzenleyici moleküller ve çeşitli nöroendokrin sistemler arasındaki bağlantı tartışılmaktadır (Kalra ve Kalra, 2010). Literatürde östrojenin merkezi etkilerini hipotalamusta hangi nöron tipleri üzerinden gösterebileceğini araştıran yayınlar mevcuttur. Hipotalamus arkuat nukleusta yerleşik pro-opiomelanokortin (POMC) nöronlarında ER- α eksprese edildiği ve östrojenin POMC nöronlarına etki ettiği (Xu ve ark., 2011) ve nöropeptit Y (NPY) ekspresyonunu azalttığı (Olofsson ve ark., 2009) gösterilmiştir. Bunun dışında östrojen ve leptin, insülin, kolesistokinin, ghrelin gibi diğer iştah düzenleyici sinyaller arasındaki fonksiyonel etkileşimler de araştırılmaktadır. Ancak nesfatin-1 nöronlarında ER- α ve ER- β ekspresyonunu gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, östrojenin nesfatin-1 nöronlarında eksprese edilen ER- α ve/veya ER- β aracılığıyla direkt olarak nesfatin-1 nöronlarının aktivitesini etkileyip etkilemediği ve bu nöronlarda östrojen reseptörleri ekspresyonunda cinsiyetler arası olası farklılıkların belirlenebilmesi amaçlanarak “nesfatin-1 nöronlarının regülasyonunda östrojen hormonu rol oynar” hipotezi test edilmiştir. Bu hipotezi doğrulayabilmek için belirlenen hedef; nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptörlerinin varlığının ikili immünohistokimyasal işaretleme ile araştırılmasıdır. Bu amaçla hiçbir ön uygulama yapılmamış dişi ve erkek sıçanlarda ER- α ve ER- β reseptörlerinin nesfatin-1 nöronlarındaki ekspresyonları araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enerji Dengesi ve Obezite

Bir organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için gereken temel özelliklerden biri homeostatik iç metabolik ortamını sürdürebilme kabiliyetidir (Waterson ve Horvath, 2015). Enerji dengesi, enerji alımı (besin alımı) ve enerji tüketiminin homeostatik olarak düzenlenmesini kapsayan biyolojik bir süreçtir. Besin alımı günlük olarak gerçekleştirilen en yaygın davranışlardan biridir ve enerji dengesinin de bir kutbunu oluşturur. Vücutta enerji dengesi alınan enerji, harcanan enerji ve depolanan enerjinin toplamına eşit olacak şekilde sağlanır (Frayn, 2010; Woods ve ark., 2004). Bu nedenle vücut ağırlığı da alınan ve harcanan enerji arasındaki farka bağlıdır. Bu iki enerji türü dengede değilse, vücut ağırlığı zamanla artacak veya azalacaktır. Diğer bir deyişle vücut ağırlığının sabit kalabilmesi için enerji yani besin alımının harcanan enerjiye (metabolizma, günlük faaliyetler, egzersiz ile) eşit olması gerekmektedir (Woods ve ark., 2004).

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization: WHO) tarafından “yağ dokusunun, sağlığı olumsuz etkileyecek ölçüde, anormal şekilde artması” şeklinde tanımlanmaktadır (WHO, 2016). Son yıllarda besine ulaşılabilirliğin ve yüksek kalorili besin tüketiminin artması, hareketsiz yaşam tarzı ve kilo almayı kolaylaştıran obezogenik çevre nedenleriyle obezite görülme sıklığı artmaktadır. Değişen beslenme, yaşam tarzı ve çevresel faktörler nedeniyle alınan yüksek miktarlardaki enerjinin tüketilen enerjiye kıyasla fazla olması, aşırı yağ dokusu birikimine neden olarak vücut ağırlığının artışı ile sonuçlanmaktadır (Dube ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2018). Obezite vücut ağırlığı artışının yanında metabolik, endokrin ve davranışsal birtakım bozuklukların da eşlik ettiği karmaşık, multi-faktöriyel ve heterojen bir hastalıktır (Dube ve ark., 2010; Poddar ve ark., 2017; Sharma ve ark., 2018).

Obezite ve çeşitli metabolik hastalıkların artan prevalansı vücutta enerji dengesinin düzenlenmesinde rol alan organ, sistem ve moleküller ile açlık ve tokluk gibi süreçleri önemli hale getirmektedir.

2.2. Vücutta Enerji Dengesinin Düzenlenmesi

Vücutta yağ kütlesinin ve vücut ağırlığının yani enerji dengesinin düzenlenmesi hem gıda alımı hem de termojenez üzerinde uygulanan kontrollerle sağlanır (Dube ve ark., 2010). Memeliler enerji dengesinin kontrolünü sağlayan, periferik ve merkezi mekanizmaları içeren endojen bir sisteme sahiptir. Beyin, enerji dengesi hakkında bilgi aktaran bir dizi biyokimyasal sinyali birleştirerek enerji dengesini korumak için tasarlanan metabolik ve davranışsal tepkileri tetikler (Rexford ve Daniel, 2009; Valencak ve ark., 2017).

Enerji tüketimi; istirahat metabolizma hızı (RMR: 24 saat boyunca fiziksel aktivitede bulunmadan, dinlenme durumunda iken vücudumuzun harcayabileceği kalori miktarıdır), fiziksel aktivite ile enerji harcanması ve besinlerin termik etkisi (besinlerin sindirilme, emilim ve metabolize edilme sırasında harcadığı enerji) ile sağlanır. Enerji alımı ise yeme davranışı ve gıda tüketimi yoluyla iştah tarafından düzenlenir. İştah; açlık, doyma ve tokluk sinyallerini veren nöro-biyolojik bir sistemi oluşturan çeşitli süreçlerle kontrol edilir. Bu karmaşık nöronal sistem, beslenme durumunu belirler ve uygun seviyelerde besin alınmasına rehberlik etmek için çeşitli sinyalleri birleştirerek besin alımı için motivasyonel bir güdü olarak tanımlanan iştahı düzenler (Beaulieu ve ark., 2018). Açlık, yemek için zihinsel bir dürtünün yansıtılması şeklinde ortaya çıkan bilinçli duyumdur. Yiyecek yoksunluğunun sebep olduğu baş dönmesi, mide zayıflığı gibi fiziksel duyuların da eşlik ettiği rahatsız edici his olarak da tanımlanır. Doyma, yeme işleminin sonlandırılmasına yol açan süreçtir ve tokluk ise besin alımı bittikten sonra açlıkta düşüşe yol açan ve yeniden açlık hissinin oluşumuna kadar geçen süreci ifade eder (Mela ve ark., 2013).

Temel olarak dolaşımdan ve vagus sinirinden iletilen sinyalleri alarak hipotalamus üzerinden etkili olan bu homeostatik sisteme paralel olarak etki gösteren, besin alımını düzenleyici bir sistem daha vardır. Hedonik sistem olarak adlandırılan bu sistem metabolik ihtiyacın yokluğunda, belirli yiyeceklere karşı

hissedilen hoşlanma, haz alma gibi duyular aracılığıyla iştahı uyarabilmektedir (Beaulieu ve ark., 2018; Dube ve ark., 2010).

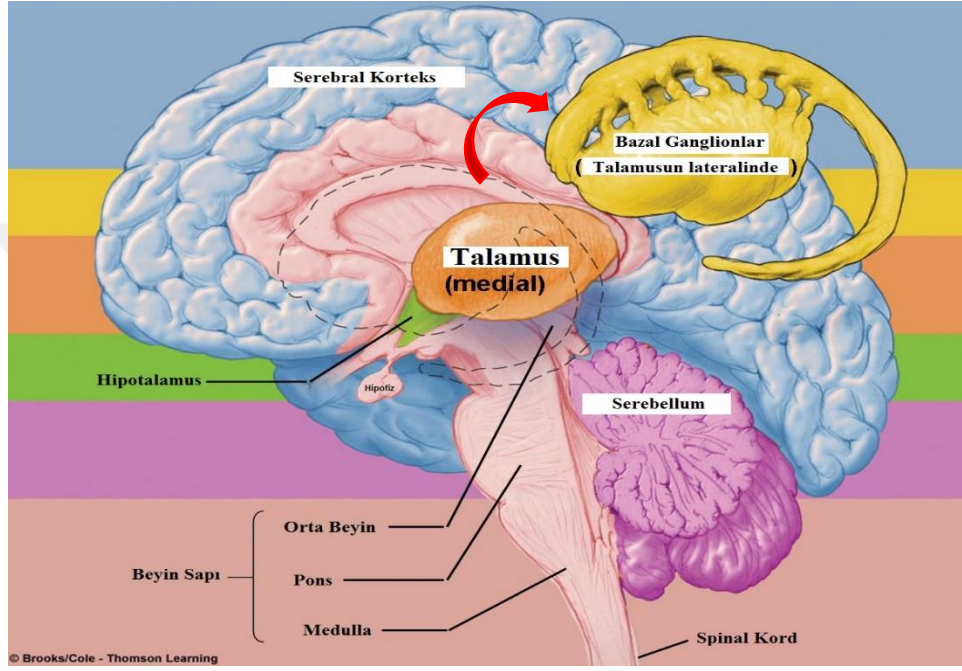
Enerji dengesinin korunmasını sağlayan bu fizyolojik sistem hem afferent algılama bileşenlerine hem de efferent efektör kollara sahiptir (Flier, 2004). Bu sistemin afferent kısmı kısa süreli ve uzun süreli olmak üzere iki yolak üzerinden sağlanır. Kısa süreli kontrol mekanizması da direkt ve indirekt olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir. Direkt kontrol mekanizması ile besin henüz sindirime uğramadan sindirim kanalı sinyallerinin (besinle ilişkili sinyallerin büyüklüğü, lif oranı gibi) vagus siniri aracılığıyla merkezi sinir sistemini etkileyerek tokluk hissini oluşturmasıyla besin alımının durdurulması uyarılır. Besinin sindiriminden ve emiliminden sonra sindirim kanalından salgılanan hormonların merkezi sinir sistemini etkilemesiyle ise indirekt olarak uyarılır. Uzun süreli kontrol mekanizması ile tokluk hissi, dolaşımdaki çeşitli hormonlar (leptin, insülin) yoluyla sağlanır. Uzun ve kısa vadeli sinyaller, beyinde, sinyallerin entegre edildiği hipotalamusda birleşir ve efferent yanıtların düzenlenmesini sağlar. Fizyolojik sistemin efektör elemanları açlık yoğunluğunun ve devamındaki yiyecek arama davranışının, bazal metabolizma ve fiziksel aktivite ile harcanan enerji düzeyinin, insülin ve glukokortikoidler gibi anahtar hormonların seviyelerinin ve vücuttaki yağsız ve yağlı vücut kütlelerinin nispi boyutlarını etkileyen faktörlerin düzenlenmesinden sorumludur (Flier, 2004; Frayn, 2010; Woods ve ark., 2004).

Enerji homeostazı asıl olarak hipotalamus ve beyin sapındaki nöronal sistemler tarafından kontrol edilirken, yeme davranışının ödül ve motivasyon yönleri limbik bölgelerdeki ve serebral kortekslerdeki nöronlar tarafından kontrol edilir (Rexford ve Daniel, 2009).

2.2.1. Besin Alımı ve Hipotalamus

İnsan beyni, özellikle hipotalamus, enerji homeostazını düzenleyen ve sürdürülmesini sağlayan merkezi bir rol oynar. Hipotalamus; beyinde 3. ventrikülün alt yan duvarlarını ve ventral yüzeyini çevreler ve hipofizin hemen üzerinde yerleşiktir (Şekil 1). Kapladığı alan beyinin yaklaşık %1'i olmasına rağmen en karmaşık ve yoğun sinirsel ağları içeren, hayatta kalım açısından kritik bir bölgedir (Sohn, 2015). Hipotalamus iştah, su metabolizması, sıcaklık regülasyonu, uyku-

uyanıklık döngüsü, sirkadyen ritim, duygusal ifade, davranış, bellek ve ön hipofiz fonksiyonunun kontrolü gibi pekçok homeostatik mekanizmanın kontrol edildiği bölgedir (Braunstein, 2011). Hipotalamus, hem besin alımını hem de enerji tüketim oranlarını kontrol ederek vücudun metabolik durumunu düzenlemede çok önemli bir rol oynar (Grimberg ve Kutikov, 2017).

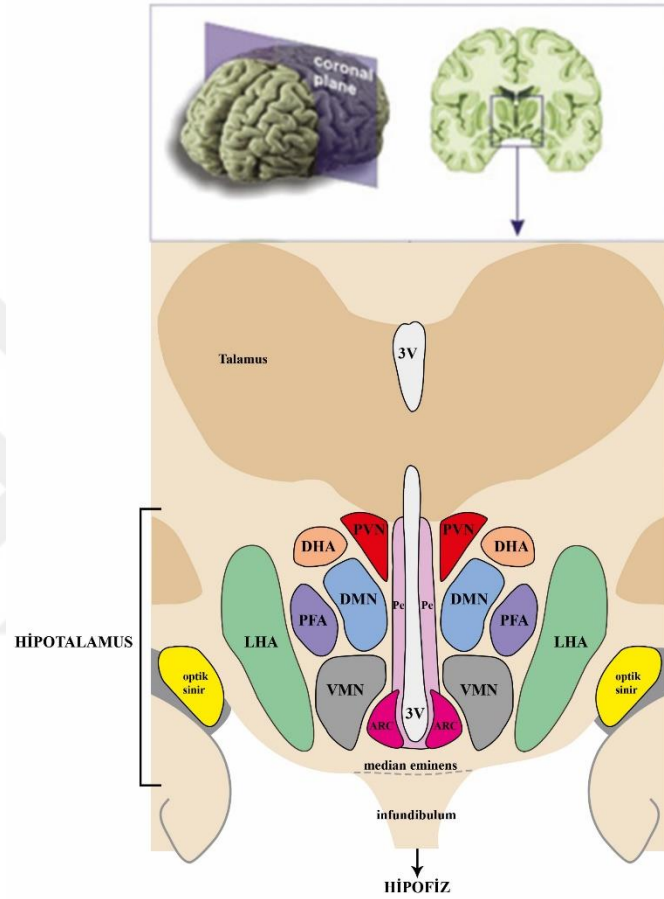


Şekil 1: Hipotalamusun anatomik yerleşimi (Sherwood, 2011).

Burada bulunan nöron grupları, enerji alımı ve tüketiminde değişikliklere neden olan spesifik nöropeptitlerin ekspresyonunu değiştirerek enerji durumundaki değişikliklere cevap verebilen, açlık ve tokluk merkezleri gibi işlev gören hipotalamik çekirdekleri oluşturur.

Besin alımının merkezi sinir sistemi tarafından kontrolü “çift merkez” hipotezi üzerine kurulmuştur (Stellar, 1954). Bunun için deney hayvanlarında hipotalamik lezyonlar oluşturulmuştur. İlk olarak Ventromedial Nukleusda (VMN) oluşturulan hasarın aşırı yeme ve kilo alımında artışa neden olduğu gösterilmiştir ve VMN “doyma merkezi” olarak tanımlanmıştır. Lezyon oluşturulan diğer alan ise Lateral Hipotalamik Alandır (LHA) ve “açlık merkezi” olarak adlandırılmıştır. Çünkü LHA’da oluşturulan lezyonlar sonrasında iştahsızlık, besin alımında azalma

ve vücut ağırlığında azalma olduğu gözlenmiştir. İleri araştırmalarla Arkuat Nukleus (ARC), Paraventriküler Nukleus (PVN) ve Dorsomedial Nukleus (DMN) gibi farklı hipotalamik çekirdeklerin de açlık ve tokluk kontrolünde rol oynadığı gösterilmiştir (Elmquist ve ark., 1999; Frank ve ark., 2014) (Şekil 2).

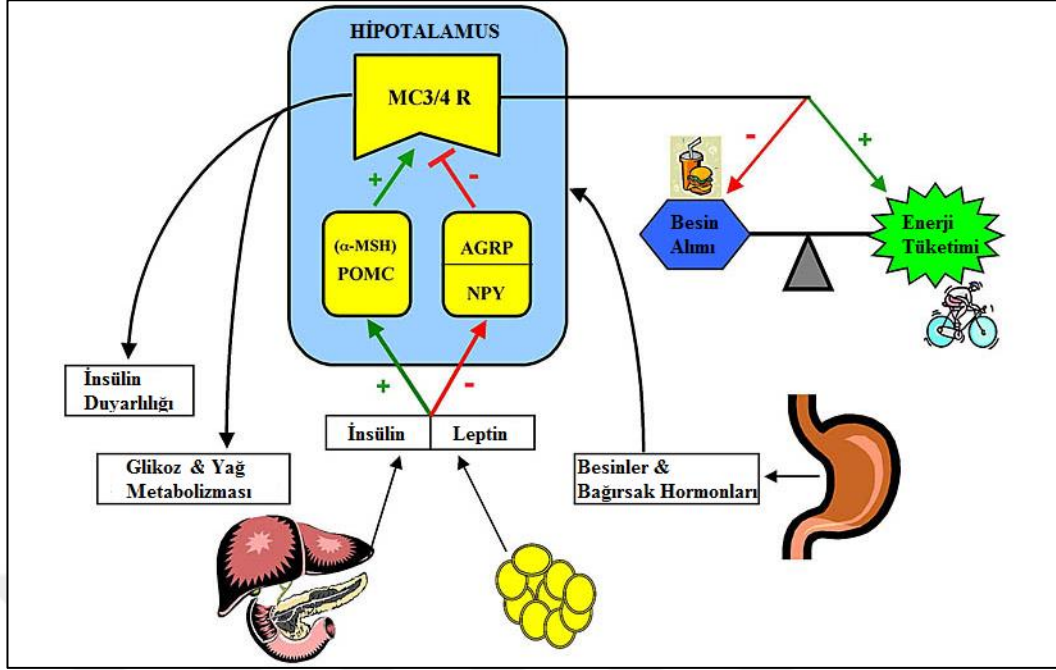


Şekil 2: Besin alımının düzenlenmesinde rol alan hipotalamik çekirdekler ve çevreleyen diğer çekirdekler. Arkuat nukleus (arc); paraventriküler nukleus (PVN); ventromedial nukleus (VMN); dorsal hipotalamik alan (DHA); dorsomedial nukleus (DMN); lateral hipotalamik alan (LHA); perifornikal alan (PFA); Periventriküler nukleus (Pe), 3. ventrikül (3V). (<http://www.cellbiol.net/ste/alpobesity2.php>. Erişim tarihi: 15.07.2018)

Arkuat Nukleus (ARC)

3. ventrikülün tabanında ve median eminensin üst kısmında yer alan ARC nukleus besin alımı ve metabolik homeostazı düzenleyen açlık ve tokluk sinyallerini alır. ARC'nin median eminense yakın olması, kan beyin bariyeri tarafından dolaşımdan tam olarak izole edilmemiş olması besin alımını kontrol eden çok sayıda çevresel sinyali olarak entegre edebilmesine olanak sağlar (Simpson ve ark., 2009).

ARC nukleus, fonksiyonel olarak birbirlerinden farklı nöron gruplarını ve bu nöron gruplarının etkin olarak rol aldığı santral/merkezi melanokortin sistemini içerir. Merkezi melanokortin sistemi, enerji dengesinin korunmasında kilit rol oynayan ayrı nöron popülasyonlarından ve devrelerden oluşur. Arkuat nukleus birçok nöron çeşidi içermesine rağmen, Pro-opiomelanokortin (POMC) ve Nöropeptid Y/Agouti geni ilişkili peptit (NPY/AgRP) nöronları en bilinenlerdir ve besin alımının kontrolünde rol oynarlar (Sohn, 2015; Woods ve ark., 2004). NPY/AgRP nöronları besin alımını arttırıcı yönde etki ederken, POMC nöronları besin alımını baskılayıcı yönde etki etmektedir. Her iki nöron topluluğu da periferik enerji depolarının sensörleri olarak hareket edebilir ve çeşitli besinsel, nöronal ve hormonal sinyallere cevap verebilirler (Cone, 2005). Bu iki nöron grubu, leptin ve insülin için önemli hedeflerdir. Leptin ve insülin POMC nöronlarını uyarırken NPY/AgRP nöronlarını inhibe eder. POMC nöronlarının uyarılmasıyla sentezlenen POMC sonrasında α -melanosit stimüle edici hormon (α -MSH) gibi daha küçük peptitlere parçalanır. α -MSH beyin melanokortin reseptörleri ile etkileşerek beslenme davranışı ve enerji dengesini düzenler. Melanokortin-3 reseptörleri (MC3R) ve melanokortin-4 reseptörlerini (MC4R) eksprese eden nöronlar beyinde özellikle enerji homeostazının düzenlenmesinde rol alan alanlarda eksprese edilir. MC3 / 4-R sinyalizasyonu α -MSH tarafından uyarılırken AgRP tarafından inhibe edilir. α -MSH'in aktifleştirdiği MC3 / 4-R sinyalizasyonu besin alımında azalma ve artan enerji tüketimi ile sonuçlanır (Şekil 3). Gastrointestinal sistem hormonları ve besinler de merkezi melanokortin sisteminin aktivitesi üzerinde etkilidirler (Cone, 2005; Lee ve Wardlaw, 2007; Woods ve ark., 2004).



Şekil 3: ARC nükleus, merkezi melanokortin sistem ve besin alımının düzenlenmesi. (Lee ve Wardlaw, 2007'den uyarlanmıştır.)

Paraventriküler Nükleus (PVN)

Paraventriküler nükleus üçüncü ventrikülün hemen bitişiğinde, periventriküler zonda yer alır. Enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görevli otonomik ve nöroendokrin sinyalleri olarak birleştiren hipotalamik bir çekirdektir (Elmqvist ve ark., 1999). Arkuat nükleusdaki NPY/AgRP ve POMC nöronları ile lateral hipotalamik alanda yerleşik nöronlardan gelen oreksin sinyalleri başta olmak üzere besin alımı ve enerji tüketimiyle ilgili birçok sinyal alır. Ayrıca periferden gelen ve nükleus traktus solitarius ile iletilen besin alımını baskılayıcı sinyallerin sonlandığı yer de PVN'dir (Blevins ve ark., 2003; Mercer ve ark., 2011)

PVN'deki nöron aktivitesini arttıran leptin ve kolesistokinin (CCK) gibi periferel peptidlerin salınımı ile ARC nükleusda artan α -MSH sinyalleri PVN'e iletilir ve melanokortin 4 reseptörlerini aktive eder. Böylece hem besin alımı baskılanır hem de enerji tüketimini uyaran mekanizmalar aktive edilir (Horvath, 2005).

Lateral Hipotalamik Alan (LHA)

Lezyon çalışmaları sonrasında “açlık merkezi” olarak tanımlanan lateral hipotalamik alan uyarıldığında besin alımını artırır ve aynı zamanda vücutta enerji tüketimini azaltır (Elmqvist ve ark., 1999; Frank ve ark., 2014).

LHA’da başlıca iki nöron grubu bulunmaktadır. Bu nöron gruplarından biri melanin konsantre edici hormonu (MCH) sentezler. Diğer grup ise oreksin (hipokretin) sentezleyen nöronları içerir. Her iki molekül de besin alımını uyarır (Simpson ve ark., 2009).

İsmi “iştah” anlamındaki “orexis” kelimesinden alan oreksinlerin ekspresyonu açlıkla düzenlenir. Aç bırakılan hayvanlarda oreksin mRNA düzeyinin yükseldiği ve besin alımının arttığı gözlenmiştir. Oreksin A ve B olmak üzere iki formu vardır. Oreksin A en fazla arkuat nükleus, paraventricüler nükleus ve dorsomedial hipotalamik nükleusta eksprese edilirken oreksin B hipotalamusta daha az eksprese edilir. Oreksinler beslenmenin yanında uyku ve uyanıklık davranışlarının düzenlenmesinde görev alır (Simpson ve ark., 2009; Spinazzi ve ark., 2006).

ARC nükleusdaki NPY/AgRP ve POMC nöron grupları ile oreksin ve MCH üreten nöronların hücre gövdelerinin temas halinde olduğu (Sohn, 2015) ve leptin hormonunun MCH ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Rexford ve Daniel, 2009).

Ventromedial Nükleus (VMN)

Doyma merkezi olarak da bilinen VMN besin alımı üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahip olan bir hipotalamus bölgesidir. VMN’de gerçekleştirilen lezyon çalışmaları, buradaki hasarın hiperfaji ve obezite ile sonuçlandığını göstermiştir (Elmqvist ve ark., 1999; Frank ve ark., 2014).

Sıçanlarda VMN’de gastrik stimülasyona verilen nöronal yanıtlar araştırılmıştır. VMN’de gastrik distansiyona yanıt veren nöronların varlığı ve VMN’yi de içeren gastrik stimülasyona ait merkezi nöronal mekanizmaların olduğu doğrulanmıştır (Sun ve ark., 2006).

VMN, glikoza duyarlı büyük bir nöron popülasyonuna sahiptir. İnsanlarda nörogörüntüleme teknikleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar, oral glikoz yüklemesini takiben VMN’de sinyal artışı olduğunu göstermiştir. Ayrıca VMN, kan

şekerinin düşmesi durumunda glukagon salınımının düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir (Mobbs ve ark., 2013; Simpson ve ark., 2009)

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), VMN'de yüksek oranda eksprese edilir ve BDNF'nin lateral ventriküle uygulanması, besin alımını ve vücut ağırlığını azaltır. VMN, ARC'den NPY/AgRP ve POMC nöronal uyarılarını alır. POMC nöronlarının besin alımını azaltmak için VMN'de bulunan BDNF nöronlarının aktive edilmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Simpson ve ark., 2009).

Dorsomedial Nukleus (DMN)

Enerji dengesinin sürdürülmesi ve besin alımının düzenlenmesinde önemli hipotalamik alanlardan biridir. Hipotalamusda NPY, arkuat nükleusda ve dorsomedial nukleusda eksprese olmaktadır. Ancak ARC nukleusdaki NPY ekspresyonundan farklı olarak DMN'deki ekspresyonun kontrolü leptinle sağlanmaz. Buradaki NPY gen ifadesi kolesistokinin (CCK) ve henüz tanımlanmamış diğer moleküller tarafından düzenlenir. DMN'de NPY'nin aşırı ekspresyonu, besin alımında ve vücut ağırlığında artışa neden olur ve yüksek yağlı diyet kaynaklı hiperfaji ve obeziteyi şiddetlendirir (Bi ve ark., 2012).

Leptin reseptörleri bulunmayan obez sıçanlarla yapılan bir çalışmada, DMN'de NPY ekspresyonunda değişiklik gözlenmezken egzersize bağlı nöronal aktivasyonda, özellikle DMN'nin ventral ve kaudal alt bölgelerinde azalma gözlenmiştir. Bu bulgulardan da DMN'nin bu bölgelerindeki nöronların aktivasyonunun, egzersiz aktivitesini artırarak besin alımını ve vücut ağırlığını azalttığı sonucuna varmışlardır (Zhang ve ark., 2018).

2.2.2. Besin Alımının Düzenlenmesinde Rol Alan Peptitler

Gıda alımını kontrol eden mekanizmalar, esas olarak beyin, bağırsak ve adipoz doku arasındaki etkileşimi içerir. Enerji dengesinin düzenlenmesi ve besin alımının gerçekleşebilmesi için bu etkileşimler sırasında birçok nöromodülatör molekül etkinleşir (Crespo ve ark., 2014). Merkezi sinir sistemi (MSS) periferal nöroendokrin sinyaller ile nöronlardan salınan, sinyal molekülleri olan nöropeptitlerden alınan sinyallerin birleştirilmesini sağlar. Tümü temelde peptit yapısında olan bu moleküllerden besin alımını uyarıcı ya da arttırıcı etkisi olanlar

“oreksijenik”, besin alımını azaltıcı yönde etki edenler ise “anoreksijenik peptitler” olarak sınıflandırılır (Sam ve ark., 2012). Periferde (gastrointestinal kanal ve yağ dokusu) ve merkezi sinir sisteminde sentezlenen farklı peptitler Tablo 1 ve 2’de verilmiştir.

Tablo 1. Periferde sentezlenen besin alımını düzenleyici peptitler.

Oreksijenik peptitler	Anoreksijenik peptitler
	Leptin
Ghrelin	Peptit tirozin tirozin (PYY)
	Kolesistokinin (CCK)
	Pankreatik polipeptit (PP)
	İnsülin
	Glukagon-benzeri peptit-1 (GLP-1)
	Oksintomodülün (OXM)
	Bombesin
	Obestatin

Tablo 2. Merkezi sinir sisteminde sentezlenen besin alımını düzenleyici peptitler.

Oreksijenik Peptitler	Anoreksijenik Peptitler
Nöropeptit Y (NPY)	Kokain ve amfetamin ilişkili transkript (CART)
Agouti-Gen İlişkili Protein (AgRP)	Melanokortinler (POMC posttranslasyonel yıkım ürünleri)
Galanin	Kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF)
Galanin-Benzeri Peptit	Glukagon-benzeri peptitler (GLP1 ve GLP2)
Serebellin1	Nörotensin
Melanin Konsantre Edici Hormon (Mch)	Nesfatin
Hipokretin/Oreksin	

2.2.3. Enerji Dengesi ve Gonadal Hormonlar

Gonadal steroidler, gıda alımını ve vücut ağırlığını etkiler. Östrojenler kataboliktir, gıda alımını ve vücut ağırlığını azaltır. Androjenler ise genellikle besin alımını ve yağsız kitleyi artıran anabolik ajanlar olarak kabul edilir. Ancak gonadal steroidlerin enerji dengesi üzerinde etkilerini gösterdikleri mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir (Mystkowski ve Schwartz, 2000).

Kadınlar ve erkekler obezite ve obezite ilişkili risk faktörlerinin (metabolik sendrom) görülme oranları açısından karşılaştırıldıklarında birbirlerinden farklılık gösterir (Sharma ve ark., 2018; Valencak ve ark., 2017). Menopoz öncesi dönemdeki kadınlarla aynı yaş aralığındaki erkekler karşılaştırıldığında, bu gruptaki kadınların erkeklere kıyasla kilo alımı, metabolik ve kardiyovasküler bozukluklara karşı korundukları gösterilmiştir. Ancak menopoz sonrasında bu korunmanın ortadan kalktığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda enerji tüketiminin azaldığını ve visseral yağ dokusu birikiminin arttığını ortaya koymuştur (Sharma ve ark., 2018).

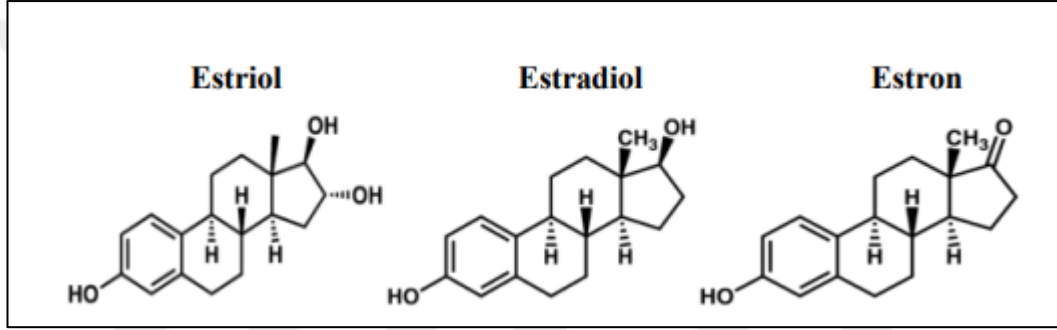
Vücutta biriken yağ dokusunun dağılımı kadın ve erkekler arasında farklılık gösterir (Sharma ve ark., 2018). Yağ dokusu dağılımındaki farklılıklar aynı zamanda menopoz öncesi ve sonrası dönemdeki kadınlar arasında da söz konusudur. Menopoz öncesi dönemdeki kadınlarda gynoid tip yani bel çevresinin altında yağ birikimi gözlenirken, erkeklerde ve post-menopozal kadınlarda üst vücut ve üst abdominal alanlarda yağ birikimi şeklinde tanımlanan android tip yağ birikimi gözlenir (Sharma ve ark., 2018; Valencak ve ark., 2017).

Obezite ve metabolik sendrom görülme oranları menopoz öncesi dönemdeki kadınlarda, erkeklere ve menopoz sonrası dönemdeki kadınlara kıyasla daha azdır. Bu da önemli bir dişi cinsiyet hormonu sınıfı olan östrojenler ile ilişkilendirilmektedir (Sharma ve ark., 2018).

2.3. Östrojen Hormonu

2.3.1. Östrojen Hormonu Genel Özellikleri

Östrojenler tüm omurgalılarda ve bazı omurgasız türlerinde üretilen evrimsel olarak korunmuş steroid yapıda hormonlardır. Memelilerde başlıca üç östrojen formu vardır. Bunlar östron (E1), östradiol (E2), östriol (E3)'dür (Şekil 4). Vücutta üretilen, biyolojik olarak aktif östrojen formu, besin alımı ve harcanan enerjiyi merkezi sinir sistemi yoluyla düzenleyen 17 β -östradioldür. E2'nin aynı zamanda glikoz ve lipit homeostazında da düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiştir (López ve Tena-Sempere, 2015).



Şekil 4: Östrojen fomları (López de Alda ve ark., 2002).

Endojen hormonlar olan östrojenlerin ana kaynağı overlerdir. Özellikle gelişmekte olan folliküller en yüksek kapasiteye sahiptir. Daha sonra hamilelik dönemindeki plasentadır. Düşük seviyelerde ise adrenal bezler ve testislerden salgılanır. Adipoz dokunun da sentezlediği bilinmektedir (López ve Tena-Sempere, 2015). Sağlıklı premenopozal kadınlarda, dolaşımdaki östrojen (E2), androstenedionun aromataz enzimiyle östrona (E1) ve sonrasında E1'in 17- β -hidroksisteroid dehidrojenaz ile E2'ye dönüştürülmesiyle ovaryumlardan salgılanır. Normal menstrasyon siklusuna sahip kadınlarda E2, uzaktaki hedef dokulara etki eden, dolaşımdaki bir hormon olarak işlev görür. Erkeklerde ve postmenopozal kadınlarda ise östrojen eyleminin belirleyicisi dolaşımdaki östrojenler değildir; E2 fonksiyonu, dolaşımdaki bir androjen kaynağından ekstrasgonadal bölgelerdeki östrojen biyosentezine dayanır. Ve normal olarak dolaşımdaki östrojen seviyeleri düşüktür (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013; Simpson ve ark., 2005)

Dişilerde ovaryumların cerrahi olarak çıkarılması E2'nin endojen üretimini ortadan kaldırdığı için ovariektomize kemirgenler çalışmalarda menopoz modeli olarak kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 2018).

2.3.2. Östrojen Reseptörleri ve Etki Mekanizmaları

Steroid hormonların etkileri reseptörleriyle düzenlenir. Östrojenin etkilerine aracılık eden üç farklı reseptörü olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında ilk sırada transkripsiyonel aktivasyonla genomik yanıtlar oluşturan nükleer reseptörler olan östrojen reseptör alfa (ER- α) ve beta (ER- β) bulunur. Nükleer reseptör protein ailesinin üyeleri olarak, ER'ler esas olarak çekirdekte yer alsalar da, aynı zamanda sitoplazmada ve mitokondride de bulunabilirler (Jia ve ark., 2015). Çalışmalar, bu reseptörlerin, mitojenle aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK), kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinazlar (CamKII) ve cAMP yanıt elementi bağlayıcı proteinler (CREB) gibi ikincil mesajcı sinyal yollarını aktive edebilecekleri spesifik sitoplazmik bölümlerde de bulunduğunu göstermektedir (Li ve ark., 2018; Manavathi ve Kumar, 2006; B. McEwen, 2002). Diğer bir reseptör ise 2007 yılında tanımlanan membran ilişkili reseptör olan G protein kenetli östrojen reseptörüdür (GPER) (Davis ve ark., 2014). Hem hücre içinde hem de plazma zarında bulunur ve çeşitli hücre tiplerinde hızlı östrojen sinyalleşmesini sağlar (Li ve ark., 2018).

Nükleer reseptör süper ailesinin üyesi olan bu reseptörler ligand ile indüklenen transkripsiyon faktörleridir (Beato ve ark., 1995). Nükleer reseptör ailesinin diğer üyeleri gibi ER'ler de evrimsel olarak korunmuş yapısal ve işlevsel olarak farklı alanları içerir. Merkezi ve en çok korunan alan DNA-bağlayıcı bölge (DNA Binding Domain/DBD), DNA'nın tanınması ve bağlanmasında görev alır. Ligand bağlanması ise karboksi ucunda bulunan ligand bağlayıcı bölgede (Ligand Binding Domain/LBD) meydana gelir. Amino ucu daha az korunmuş, uzunluk ve dizilim açısından daha değişken bölgeleri içerir. Transkripsiyonel aktivasyon, reseptörün amino ucunda yerleşik liganttan bağımsız olarak aktif AF-1 ve karboksi ucundaki LBD'de bulunan ligandın bağlanmasıyla transkripsiyonel aktivasyon için gereken yapısal değişikliğe uğrayan AF-2 olmak üzere iki farklı aktivasyon fonksiyonu (AF) ile kolaylaştırılır. İki ER, amino uçlarındaki bölgeler haricinde

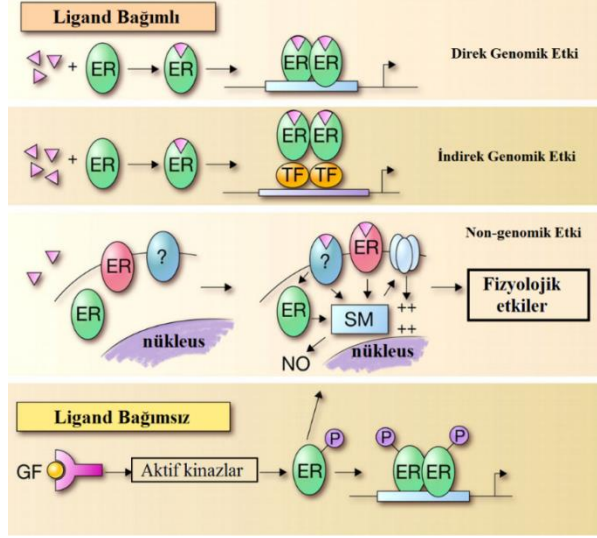
yüksek derecede bir dizi homolojisi paylaşırlar ve E2 için benzer afinitelere sahiptirler ve aynı DNA yanıt elementlerini bağlarlar (Şekil 5) (Heldring ve ark., 2007; Nilsson ve ark., 2001).



Şekil 5: İnsan östrojen reseptörü α ve östrojen reseptörü β karşılaştırılması. ER- α (595 aa) ile ER- β (530 aa) ve aralarındaki dizi homolojisi yüzdeleri. (Khan ve Ansar Ahmed 2016)

Östrojen reseptörleri, ligandın bağlanması ile hedef genlerinin baskılayıcısı veya aktivatörü olarak işlev görürler. Östrojen hormonu olmadığında DNA'ya bağlanamayan bu reseptörler, östrojen varlığında hedef gen transkripsiyonunu aktive eden reseptör dimerlerini oluştururlar. Difüzyonla nükleusa geçen östrojen-reseptör kompleksi, hedef gen promotör bölgesi üzerindeki östrojen yanıt elementi (ERE) olarak adlandırılan DNA dizilerine bağlanırlar. Böylece direk genomik etki ile hedef gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlarlar. Ayrıca transkripsiyon faktörleri (TF) ile protein-protein etkileşimleri aracılığıyla, indirek genomik etki ile dolaylı olarak hedef gen promotörünü aktive veya inaktive ederler (Beato ve ark., 1995; Fu ve Simoncini, 2008).

Diğer bir yolak ise gen transkripsiyonunu içermeyen, fizyolojik yanıtlarla sonuçlanan östradiol eylemleri olarak da bilinen non-genomik yolaktır. Ligand bağımsız genomik etkide büyüme faktörleri (GF), protein kinaz yolaklarını aktive etmek yoluyla ERE içeren östrojen reseptörlerinin fosforillenmesini sağlarlar (Şekil 6).



Şekil 6: Östrojen reseptörlerinin etki mekanizmaları (Heldring ve ark., 2007)

2.3.3. Östrojen Reseptör Alfa (ER- α)

6. kromozomun uzun kolunda yer alan *ESR1* (Estrogen Receptor 1) geni (6q25.1) tarafından sentezlenen ER- α , ilk kez 1950'li yılların sonunda Elwood Jensen tarafından östrojen bağlayan protein olarak tanımlanmıştır (Alexander ve ark., 2017; Jia ve ark., 2015). ER- α esas olarak üreme organları (uterus, ovaryumlar) başta olmak üzere, meme, böbrekler, kemik, beyaz adipoz doku, beyin ve karaciğerde eksprese edilir (Faulds ve ark., 2012).

2.3.3.1. Merkezi Sinir Sisteminde ER- α Ekspresyonu

ER- α mRNA ekspresyonu medial posterodorsal amigdala (MePD) çekirdeği, amigdala hipokampal anterolateral alanı (AHiAL), ventromedial nükleus (VMH), arkuat (ARC) nükleus, premamiller nükleus ventral (PMV) ve posterolateral kortikal amigdaloid nükleusta (PLCO) yoğun olarak gösterilmiştir (Österlund ve ark., 1998).

ER- α , özellikle hipotalamusta, ventromedial nükleusun (VMH) ventrolateral kısmı, arkuat nükleus (ARC), medial preoptik alan (MPOA) olmak üzere enerji dengesini düzenleyen çeşitli beyin bölgelerinde eksprese edilir (Frank ve ark., 2014).

2.3.4. Östrojen Reseptör Beta (ER- β)

ER- β geni ilk kez 1996 yılında sıçanlarda prostat ve ovaryumlardan çoğaltılmıştır (Kuiper ve ark., 1996). ER- α 'dan farklı bir kromozom (14q23.2)

üzerindeki *ESR2* (Estrogen Receptor 2) geni tarafından kodlanan (Alexander ve ark., 2017; Jia ve ark., 2015) ER- β , ovaryumlar, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, akciğer, erkek üreme organları, prostat, kolon, böbrek ve bağışıklık sisteminde eksprese edilir (Faulds ve ark., 2012).

2.3.4.1. Merkezi Sinir Sisteminde ER- β Ekspresyonu

ER- β için mevcut antiserumlar bazı beyin bölgelerinde her zaman spesifik sinyaller vermemekle birlikte, immünohistokimyasal çalışmalardan elde edilen sonuçlarla da proteinin çok sınırlı bir lokalizasyonu olduğu gösterilmiştir (McEwen, 2002).

Ancak 2001 yılında yapılan bir çalışma ER- β mRNA seviyeleri ile ER- β 'nin karboksi ucuna karşı bir poliklonal antikora işaretlenen ER- β immünreaktivitesi arasında iyi bir uyum olduğunu göstermektedir. OVX dışı sıçanlarda gerçekleştirilen bu çalışmada, anterior olfaktor nukleuslar, serebral korteksin IV-VI tabakaları, bazal ön beyin nukleusları, stria terminalisin bed nukleusu, preoptik alan, supraoptik ve paraventriküler nukleuslar, zona inserta, amigdala'nın medial, santral, kortikal ve bazolateral çekirdekleri, beyincik, parabrakial çekirdek, ventral tegmental bölge, soliter sistemin çekirdeği ve spinal trigeminal nukleusta ER- β immünreaktivitesi ve ER- β mRNA ekspresyonu gözlenmiştir (Shughrue ve Merchenthaler, 2001). Özellikle, sıçan serebral korteksinde ve hipotalamusun çekirdeklerinde daha da belirgin olarak gösterilmiştir (McEwen, 2002; Shughrue ve Merchenthaler, 2001).

2.3.5. G Protein Kenetli Östrojen Reseptör (GPER)

G protein kenetli reseptörler, guanin nükleotidi bağlayan G proteinleri aracılığıyla sinyalleri hücre içindeki hedeflerine ileten hücre yüzey reseptörleridir. Buldukları zar yapısını yedi kez geçen α -heliks yapıdaki transmembran proteinlerdir. Genomik olmayan, hızlı sitoplazmik etki gösteren bu reseptörler hücre zarında, endoplazmik retikulum ve golgi aygıtının zarlarında bulunabilirler. Heterotrimerik G proteinleri α , β , γ olarak adlandırılan üç farklı alt birim içerirler. Bu üç alt birim bir kompleks halinde GDP molekülüne bağlı bir şekilde bulunur. Reseptöre hormonun bağlanması ile aktive olan α alt birimi β ve γ kompleksinden ayrılır. Oluşan GTP bağlı α alt birimi ve $\beta\gamma$ kompleksi, hedefleri ile etkileşime girerek hücresel yanıtı başlatır (Davis

ve ark., 2014; Gaudet ve ark., 2015; Hadjimarkou ve Vasudevan, 2018; Sharma ve ark., 2018).

GPER1 ilk olarak 1990'lı yılların sonlarında spesifik bir ligandı olmayan G protein eşlenikli reseptör olarak tanımlanmıştır ve başlangıçta GPR-30 adı verilmiştir. Daha sonra E2'yi bağladığı ve birçok sinyal yolağını aktive ettiği gösterilmiştir. 2007 yılında da G protein kenetli östrojen reseptörü (GPER1) adı verilmiştir (Barton ve Prossnitz, 2015). GPER1 olarak adlandırılan bu reseptör, E2'ye yanıt olarak birkaç sinyal iletim yolağını aktive edebilir. Hücreler içindeki kinaz kaskadlarını ve kalsiyum akışını hızlı bir şekilde aktive ettiği gösterilmiştir. MAPK, PI3K (fosfatidil inositol 3 kinaz), PKC (protein kinaz C), Ca²⁺ (kalsiyum) mobilizasyonu ve adenil siklaz (çoklu cAMP üretmek için) içeren birçok sinyal yolağını aktive edebilir (Sharma ve ark., 2018).

2.3.5.1. Merkezi Sinir Sisteminde GPER Ekspresyonu

GPER1; sıçan, fare ve insan beyin dokuları arasında benzer bir dağılım paterni göstermektedir. Sıçan beyinde GPER1 immünoreaktivitesi ve mRNA ekspresyonu, önbeyin bölgelerinde, talamusda, hipokampüste ve hipotalamusta gösterilmiştir. Sıçan ve fare hipotalamusunda, paraventriküler nukleus (PVN), supraoptik nukleus (SON) ve aksesuar nörosekretuar nukleusta, sıçan suprakiazmatik nukleusta ve arkuat nukleusta GPER1 ekspresyonu immünohistokimyasal olarak belirlenmiştir (Brailoiu ve ark., 2007; Hadjimarkou ve Vasudevan, 2018).

2.4. Enerji Dengesinin Düzenlenmesinde Östrojenin Rolü

Östrojenler yalnızca kadın fertilitésinin farklı yönlerini kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda bilişsel ve nörolojik korumadan hücrel metabolizmaya kadar geniş bir yelpazedeki fizyolojik fonksiyonları kontrol eden dokularda da etki gösterirler. Östrojenlerin ovaryumlara ek olarak çeşitli organlardan salgılandığı ve yaşam süresi boyunca seviyelerinin fizyolojik olarak dalgalanma gösterdiği düşünüldüğünde, östrojenlerin enerji dengesi denkleminin anahtar düzenleyicilerinden olabileceği ortaya çıkmaktadır (López ve Tena-Sempere, 2015).

Östrojen, besin alımını ve enerji tüketimini merkezi sinir sistemi yoluyla düzenler ve aynı zamanda yağ dokusu, iskelet kası, karaciğer, pankreas gibi önemli

metabolizma düzenleyici dokuların yanı sıra immün sistem hücrelerinin fizyolojisi üzerinde de doğrudan etki gösterir. Yağ miktarının düzenlenmesinde rol alır, aynı zamanda vücutta yağın depolanacağı bölgeyi, inflamasyonu, glikoz ve lipit dengesini de düzenler (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2018).

Ovariektomi uygulanarak ovaryumların cerrahi olarak çıkartılması östrojenin endojen üretimini ortadan kaldırdığı için E2 yoksunluğunun metabolik etkileri incelenirken ovariektomize kemirgenler sıklıkla kullanılan bir modeldir. Ovariektomi uygulanan fareler ve postmenopozal kadınlar, artmış adipozite, vücut yağ dağılımındaki değişiklikler, daha düşük enerji tüketimi, glikoz intoleransı ve düşük insülin duyarlılığı gibi östrojen azalmasından kaynaklanan benzer metabolik özellikleri paylaşmaktadırlar (Sharma ve ark., 2018; Stubbins ve ark., 2012)

Östrojenin metabolizma düzenlenmesindeki rolünün araştırılmasını sağlayan diğer bir fare modeli de aromataz knock-out (ARKO) farelerdir. Östrojen sentetaz veya sentaz olarak da adlandırılan aromataz, androjenlerden östrojen biyosentezinin son basamağında yer alan bir enzimdir. Dişi ve erkek ARKO farelerde intra-abdominal yağlanmada, dolaşımdaki insülin, kolesterol, leptin seviyelerinde artış ile fiziksel aktivitede azalma gözlenmiştir (Jones ve ark., 2000; Sharma ve ark., 2018).

2.4.1. Östrojenin Periferik Etkileri

Periferik doku ve organlarda östrojen, metabolizma üzerinde birçok yönde etki gösterir. Pankreas, karaciğer ve iskelet kası üzerindeki etkileriyle insülin duyarlılığını düzenler ve böylece pankreatik beta hücre popülasyonunu ve lipit metabolizmasını etkiler. Yağ dokusunun dağılımını, farklılaşmasını, kahverengi yağ dokusunun termojenik potansiyelini ve inflamasyonu düzenler (López ve Tena-Sempere, 2015).

2.4.1.1. Östrojenin Yağ Dokusu Dağılımı ve Lipit Metabolizması Üzerine Etkileri

Vücudun orta bölgesinde, özellikle karın bölgesinde göbek ve iç organlar çevresinde aşırı yağ birikmesi android tip veya erkek tipi obezite olarak adlandırılır. Bu tip obezitedeki intraabdominal (visseral) yağlanma tip 2 diyabet, hiperlipidemi, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi hastalıkların görülme riskini artırır.

İntraabdominal yağ dokusunun, birim hacim başına daha fazla kılcal damar ve efferent sempatik aksone sahip olması nedeniyle adipoz dokudan metabolik ve fonksiyonel olarak farklı olduğu düşünülmektedir. Diğer bir obezite tipi ise özellikle basen ve kalça bölümünde yağ birikimiyle karakterize olan jinoid tip veya kadın tipi obezitedir (Palmer ve Clegg, 2015; Sharma ve ark., 2018; Valencak ve ark., 2017). Jinoid tip obezitede subkutan (deri altı) yağ dokusu deri altında geniş bir alana dağılırken, visseral yağ dokusuna göre de nispeten vaskularizasyon ve innervasyon yönünden daha fakirdir. Kadınlarda daha fazla subkutan yağ dokusu birikimi gözlenirken, erkeklerde visseral yağ dokusu birikimi daha fazladır (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010). Ancak menopoza sonrasında kadınlardaki yağ birikimi de visseral yağ dokusu yönüne kaymaktadır. Tüm bunlar östrojen ve reseptörlerinin, yağ hücrelerinin subkutan depolanmasını arttırırken visseral depolanmasını inhibe ettiğini göstermektedir (Palmer ve Clegg, 2015).

Östrojenler lipolizi uyarırken, lipogenezi azaltmak yoluyla yağ dokusunu etkiler (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010; Jia ve ark., 2015). Ovariyektomize dişi farelerde E2 uygulamasının serbest yağ asidi salınımını (lipoprotein lipaz seviyesini düşürerek) ve lipogenezi (asetil-koenzim A karboksilaz ve yağ asidi sentazın seviyesini düşürerek) azaltarak adiposit büyüklüğünü azalttığı gösterilmiştir (Jia ve ark., 2015). Aynı zamanda adipositlerdeki insülin reseptörlerini arttırarak, insülin duyarlılığını arttırdığı da bildirilmiştir (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010).

2.4.1.2. Östrojenin İskelet Kasında Glikoz Alımı Üzerine Etkileri

İnsülin sekresyonuna yanıt olarak glikoz taşınmasının yaklaşık % 75'ine iskelet kası aracılık eder. İnsülin aracılı glikoz taşınmasında, glikoz taşıyıcı proteinler (GLUT) rol alır. Beş farklı formu bulunan GLUT'lardan üçü (GLUT1, GLUT2, GLUT4) hücrelerin glikoz alımında önemli rol oynamaktadır. İskelet kası, kalp kası ve yağ dokusu gibi dokularda GLUT4 izoformu bulunur. GLUT4 kasta yüksek oranda eksprese edilir. Glikoz alımını düzenleyen insülin sinyal yolağı aktivasyonu, hücre içine glikozun taşınmasını kolaylaştıran sitoplazmik GLUT4'ün hücre zarına translokasyonunu sağlar (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010; Jia ve ark., 2015; Mauvais-Jarvis ve ark., 2013)

E2, kasta glikoz homeostazını GLUT4'ün ekspresyonunu ve translokasyonunu içeren insülin sinyal yolağının anahtar proteinleri üzerindeki etkileriyle modüle eder. Hem ER- α hem de ER- β reseptörlerinin, GLUT4 taşıyıcılarının ifadesi üzerinde farklı etkileri vardır. ER- α 'nın GLUT4 ifadesini indüklediği gösterilmiştir, buna karşın ER- β iskelet kasında inhibe edici bir etkiye sahip görünmektedir (Barros ve ark., 2009; Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010; Jia ve ark., 2015).

2.4.1.3. Östrojenin Karaciğer Metabolizması Üzerine Etkileri

Karaciğer, glikojenolizis ve glukoneogenez ile glikoz üretimi aracılığıyla glikoz homeostazının sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. Östrojenlerin, çoğunlukla ER- α aktivitesine bağlı olarak karaciğerde glikoz homeostazı ve hepatik kolesterol çıkışını düzenlediği gösterilmiştir. E2 uygulaması postmenopozal kadınlarda yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve trigliseritleri artırırken düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), total kolesterol, lipoprotein a ve açlık durumundaki insülini azalmıştır (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010; Jia ve ark., 2015).

2006 yılında (Bryzgalova) yapılan bir çalışmadaki veriler, ER- α eksikliğinin hepatik insülin direncine yol açtığını göstermektedir. Ancak, ER- α eksikliği olan dişi farelerle yapılan başka bir çalışmada, karaciğer insülin duyarlılığında yalnızca küçük değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Ribas ve ark., 2010). Bu nedenle, E2 eksikliği veya E2 direncinin neden olduğu insülin direncindeki karaciğerin rolü hala belirsizdir (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013).

ER- α knock-out (ERKO) ve ER- β knock-out (BERKO) fareler kullanılarak yapılan çalışmada ER- α 'nın hepatik glikoz homeostazının düzenlenmesinde baskın rol oynadığı belirtilmiştir (Bryzgalova ve ark., 2006). ER- α eksikliği olan ve kontrol farelerinden izole edilen karaciğer dokusunun mikroarray analizi, hepatik lipit biyosentezinde rol oynayan anahtar genlerin ER- α bağımlı olarak yükseldiğini ve lipit transportunu düzenleyen genlerin ekspresyonunun düştüğünü ortaya çıkarmıştır (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010). Başka bir çalışmada ise E2nin, yüksek yağlı diyetle beslenen, leptin dirençli dişi farelerde lipofilik genleri, trigliserid birikimini ve karaciğer yağlanmasını ER- β agonisti aracılığıyla baskıladığı saptanmıştır (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013).

2.4.1.4. Östrojenin Pankreatik Hücre Fonksiyonu Üzerine Etkileri

Östrojenler, pankreatik hücre fonksiyonunun bilinen düzenleyicileridir ve β hücrelerini apoptozdan korur. Her iki ER de, pankreatik β hücrelerinde tanımlanmıştır.

ER- α , pankreastaki insülin seviyesinin düzenlenmesinde rol alan baskın reseptör izoformudur. ER- α 'nın yokluğu adacık disfonksiyonu ve hiperinsülinemi ile sonuçlanır. Östrojenlerin apoptoza karşı koruyucu etkileri de ER- α aracılığı ile gerçekleşmektedir.

Ayrıca östrojenler, β hücrelerinde ATP'ye duyarlı potasyum (KATP) kanallarının fonksiyonunu da düzenler. KATP kanallarının kapanması, glukozla uyarılan insülin salınımında önemlidir. Kanal kapandıktan sonra hücre zarı depolarize olur ve insülin serbest kalır. β hücrelerindeki ER- β 'nin işlevi KATP kanalının ve insülin sekresyonunun regülasyonunu sağlamaktır (Foryst-Ludwig ve Kintscher, 2010; Jia ve ark., 2015). ER- β knock-out farelerde insülin direnci belirlenmiştir (Barros ve ark., 2009).

2.4.2. Östrojenin Merkezi Etkileri

Bir dizi karmaşık sistem, depolanan enerji seviyelerini ve vücut ağırlığını sabit tutmak için enerji homeostazının düzenlenmesinde rol alır. Merkezi sinir sistemine periferden tokluk, enerji seviyeleri ve enerji depolarının bilgilerini taşıyan sinyaller gelir. Yağ dokusu, iskelet kası, karaciğer, pankreas ve gastrointestinal kanaldan gelen bu sinyaller yoluyla beyin, vücudun metabolik durumundan haberdar edilir. Hipotalamus, enerji alımının düzenlenmesinde ve enerji dengesinin sürdürülmesinde görevli olan beyin bölgesidir. Ve enerji alımı ve tüketimindeki değişikliklere cevap verebilen nöron gruplarının oluşturduğu hipotalamik çekirdekleri barındırır.

ER'ler merkezi sinir sisteminde çok miktarda eksprese edilir. Yapılan çalışmalar ER- α ve ER- β 'nin iştah, tokluk ve enerji harcanmasının düzenlenmesinde rol alan beyin bölgelerinde eksprese edildiğini göstermektedir. Bunlar hipotalamusa ait VMN'nin ventrolateral parçası, ARC, PVN, preoptik ve lateral alanlardır. Bu durum östrojenin nüklear reseptörleri aracılığıyla beslenme davranışı ve enerji

tüketimine katılımını ve dolayısıyla enerji dengesinin düzenlenmesinde rol aldığını açıklayabilmektedir (Liu ve Shi, 2015).

Bazedoksifen, menopoz sonrasında kognitif fonksiyonların sürdürülebilmesi için kullanılan ve dokuya özgü etki gösteren selektif östrojen reseptör modülatörü (SERM) dır. OVX farelerle yapılan bir çalışmada oral yolla verilen bazedoksifenin besin alımını değiştirmediği gösterilmiştir. Bu durumun, kan-beyin bariyerini geçemediği bilinen bazedoksifenin beyine ulaşamadiği için östrojenin merkezi etkilerini gösterememesi nedeniyle olduğu düşünölmüştür (Kim ve ark., 2014; Xu ve Lopez, 2018). Östrojenin besin alımını azaltıcı etkilerini beyin üzerinden gösterdiği düşünölmektedir ve yapılan çalışmalarda beyinin çeşitli bölgelerine yapılan E2 enjeksiyonlarının besin alımını azalttığı gösterilmiştir (Butera ve Beikirch, 1989; Palmer ve Gray, 1986).

2.4.2.1. ER- α Aracılı Etkileri

ER- α 'nın, vücut ağırlığı artışıını önlemek için östrojenik etkilere aracılık eden birincil ER olduğu düşünölmektedir (Xu ve ark., 2017). ER- α , östrojenlerin anti-obezite etkilerine aracılık eder ve bu reseptörün silinmesi, adipoziteyi artırarak hem erkek hem dişi farelerde metabolik sendroma neden olur (Frank ve ark., 2014; Heine ve ark., 2000).

ER- α genindeki (Esr1) mutasyonlara sahip olan insan ve farelerde obezite gözlenmiştir (Heine ve ark., 2000; Okura ve ark., 2003) ve Esr1 knock-out fareler de, E2 uygulamasının anti-obezite etkilerine karşı tepkisizdir. Beyinde eksprese edilen ER- α , vücut ağırlığı ile ilişkilendirilmiştir; E2'nin farklı beyin bölgelerine mikroenjeksiyonlarının, hayvanlarda besin alımını ve vücut ağırlığını azalttığı belirtilmektedir (Butera ve Beikirch, 1989; Palmer ve Gray, 1986).

Beyinde ER- α eksprese etmeyen mutant farelerde hiperfajiyle birlikte obezite geliştiği gösterilmiştir. Bu farelerde aynı zamanda dolaşımdaki E2 seviyesinin yükselmesine rağmen obezite gelişmesi, ER- α aracılı östrojenik yanıtın önemini göstermektedir.(Xu ve ark., 2011).

2.4.2.2. ER- β Aracılı Etkileri

Farelerle yapılan çalışmalarda ER- β 'nın silinmesi obeziteyi veya obezite ile ilişkili metabolik sonuçların herhangi birini desteklememesi nedeniyle yetersiz görülerek fazla önemsenmemekle birlikte (Frank ve ark., 2014; Ohlsson ve ark., 2000), yüksek yağlı diyetle beslenen ER- β knock-out farelerde obezite geliştiği gösterilmiştir (Foryst-Ludwig ve ark., 2008). Başka bir çalışmada ise ER- β agonisti diarylpropionitril (DPN)'nin merkezi olarak uygulanması beslenmeyi baskılamasa da, ER- β 'ya antisens oligonükleotidlerin uygulanmasıyla östrojenin anoreksijenik etkileri ortadan kaldırılmıştır (Liang ve ark., 2002; López ve Tena-Sempere, 2015). Ayrıca seçici ER- β agonistleri (β -LGND'ler) geliştirilmiştir ve bu agonistlerin yüksek yağlı diyet kaynaklı vücut ağırlığı artışı, artan enerji tüketimiyle ilişkili olarak azalttığı gösterilmiştir (Yepuru ve ark., 2010).

2.4.2.3. GPER Aracılı Etkileri

Östrojen farklı reseptörleri aracılığıyla birçok yolak üzerinden, doğrudan veya dolaylı olarak metabolik etkilerini gerçekleştirir. GPER'in metabolizma ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır. Birçok çalışmada, GPER knock out (GPER-KO) farelerin vücut ağırlığında artış olduğu bildirilmektedir ve GPER aktivitesinin, ya da GPER'in seçici ligandlar tarafından aktivasyonunun obeziteyle mücadelede terapötik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir (Barton ve Prossnitz, 2015; Sharma ve ark., 2018). 2016 yılında yapılan bir çalışmada ise, dişi GPER-KO farelerin, karanlık fazda artan enerji tüketimine bağlı olarak yağ kitlesindeki azalma nedeniyle beslenme kaynaklı obeziteden korunduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2016).

2.4.3. Östrojenin İlişkili Olduğu Besin Alımını Düzenleyici Moleküller

Metabolik süreçlerin kontrolü merkezi sinir sistemi ve sindirim sistemi ile yağ dokudan gönderilen açlık ve tokluk sinyallerini içeren periferik sinyaller ve bu sinyallerin merkezi düzeydeki etkileri ile sürdürülür. Vagus siniri, beyin ile gastrointestinal kanal arasındaki etkileşimi sağlayarak, periferden gelen sinyalleri beyin sapına iletir. Bu bölgedeki sinyaller ise nukleus traktus solitarius (NTS) aracılığıyla hipotalamus ve diğer beyin bölgelerine iletilir. Hipotalamusa iletilen

sinyaller besin alımının düzenlenmesine yönelik nöroendokrin devreleri uyararak, çeşitli peptidler aracılığıyla besin alımı ve metabolizmanın kontrolünü sağlar. Açlık, tokluk ve iştah sinyallerine yanıt olarak salgılanan bu peptitler besin alımını uyarıcı ya da azaltıcı yönde etki ederek enerji alımı ile tüketimi arasındaki dengeyi oluştururlar (Mauvais-Jarvis ve ark., 2013).

Östrojen doğrudan etkilerinin yanında besin alımını etkileyen bu peptitlerle olan etkileşimleri aracılığıyla besin alımını azaltır (Brown ve Clegg, 2010). Yapılan çalışmalar östrojenin merkezi sinir sistemi ve periferden salgılanan çeşitli peptitlerle ilişkili olduğunu göstermiştir.

Tablo 3: Östrojen ile ilişkili besin alımını düzenleyici moleküller.

	Merkezi Peptitler	Periferal Peptitler
Oreksijenik Peptitler	<ul style="list-style-type: none">Nöropeptit YMelanin konsantr edici hormon	<ul style="list-style-type: none">Ghrelin
Anoreksijenik Peptitler	<ul style="list-style-type: none">α-MSH	<ul style="list-style-type: none">LeptinKolesistokininİnsülin

2.4.3.1. Oreksijenik Peptitler

Nöropeptit Y (NPY)

NPY (Nöropeptit Y) 1982 yılında beyin dokusunda saptanmış, 36 aminoasitlik, oreksijenik özellik gösteren merkezi bir peptittir (Tatemoto ve ark., 1982). Oreksijenik etkilerinin dışında birçok fizyolojik süreçte rol alır. NPY, MSS'de başta ARC nukleus olmak üzere DMN, PVN ve LHA gibi besin alımı ve enerji dengesini düzenleyen hipotalamik alanlarda bulunur. Hipotalamus dışında serebral korteks, hipokampus, talamus ve beyin sapında yer alır. İntraserebroventriküler olarak uygulanan NPY'nin besin alımını ve vücutta depolanan yağı arttırdığı gösterilmiştir (Bi ve ark., 2012; Crespo ve ark., 2014; Xu, 2017).

Memelilerde tanımlanmış olan 5 farklı NPY reseptörü (Y1,Y2,Y4,Y5,Y6) vardır. NPY etkileri bu reseptörler aracılığıyla düzenlenir. NPY oreksijenik etkilerini Y1 ve Y5 reseptörleri aracılığıyla gösterir (Crespo ve ark., 2014; Simpson ve ark., 2009).

ARC nukleusda yerleşik NPY nöronları, hem merkezi hem de gastrointestinal kanal ve yağ dokusundan gelen periferik sinyalleri alır. Mideden salgılanan ghrelin

hormonunun santral ve periferik olarak uygulanması farelerde NPY/AgRP nöronlarını uyararak besin alımını arttırmıştır. Yağ dokusundan salgılanan leptin ise NPY/AgRP nöronlarını baskılar ve POMC nöronlarını aktifleştirir. Böylece NPY ekspresyonu ve besin alımı azalır. Adiponektin ve oreksin gibi besin alımını arttıran moleküller ARC nükleusdan NPY sentez ve salınımını uyarırken, insülin ve amilin benzeri hormonlar NPY ifadesini baskılayarak gıda alımını azaltır (Crespo ve ark., 2014; Elmquist ve ark., 1999).

Hipotalamustaki NPY nöronları sadece beslenmeyi etkilemez aynı zamanda üremeyi de etkiler. Bu nedenle östrojen, NPY gen ekspresyonunu düzenleyerek bu iki nöroendokrin sistemi de modüle edebilir. NPY nöronları, dolaşımdaki azalmış glikoz, leptin veya insülin seviyeleri gibi azalmış enerji durumunu gösteren ve beslenmeyi uyararak için PVN'de NPY salınımını arttıran sinyallerle aktive edilir (Acosta-Martinez ve ark., 2007).

Östrojen anoreksijenik etkilerini NPY ekspresyonunu veya salınımını azaltarak gösterir. E2, NPY/AgRP nöronlarının aktivitesini azaltarak besin alımını azaltır. Dişi farelerde, östrus sırasında hipotalamustaki NPY ekspresyonunun en düşük seviyede olduğu gösterilmiştir (Olofsson ve ark., 2009). Ovariyektomize sıçanlarda östrojen eksikliği, östradiol uygulamasıyla geri döndürülebilen hızlı bir kilo alımıyla sonuçlanır. Aynı zamanda, östrojen eksikliğinin PVN'deki NPY konsantrasyonları ile ARC nükleusdaki NPY mRNA ekspresyonunu da arttırdığı gözlenmiştir (Ainslie ve ark., 2001). Ovariyektomize sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada ise östradiol uygulamasının PVN'de hipotalamik NPY seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Bonavera ve ark., 1994; Brown ve Clegg, 2010).

Melanin konsantre edici hormon (MCH)

Östrojen MCH aktivitesi ile etkileşerek besin alımını etkiler. Erkek sıçanlar ve OVX dişi sıçanlarda, her iki cinsiyette de E2 uygulamasını takiben MCH'in merkezi enjeksiyonu, östrojenin MCH aracılı beslemeyi baskıladığını göstermiştir. Dişilerde endojen östrojen izlendiğinde, östrojen daha düşük seviyelerde olduğunda (diöstrus) MCH indüklenmiş besin alımı daha fazladır. Genel olarak E2, MCH'in oreksijenik etkisini azaltarak östrus döngüsü boyunca besin alımındaki değişikliklere

MCH sinyalizasyonundaki değişimin aracılık edebileceğini düşündürmüştür (Frank ve ark., 2014; Messina ve ark., 2006).

Östradiol, birkaç yoldan MCH sinyalini azaltabilir. Lateral hipotalamus (LH) ve zona incertada (ZI) östradiol ER'ler aracılığıyla, gen transkripsiyonunu değiştirebilir. ER'ler, gen ekspresyonunu lokal olarak düzeneyerek MCH sentezini azaltabilir. Östradiolun fizyolojik dozları OVX sıçanların ZI'sinde ve obez erkek sıçanların LH'ında MCH mRNA ekspresyonunu azaltmıştır (Morton ve ark., 2004; Murray ve ark., 2000).

Yapılan bir çalışmada, LH nöronlarının MCH-1 reseptörlerini ve ER'leri birlikte eksprese etmediği, ancak birbirine yakın olduklarını gösterilmiştir (Muschamp ve Hull, 2007).

Ghreltin

Başlıca midede, gastrik oksintik hücrelerde üretilen ghreltin, 3. kromozomun p kolundaki bir genin ürünüdür. Bu gen, post-translasyonel modifikasyonlarla ghreltin ve analogları olan C-ghreltin ve obestatin olmak üzere üç ana grup molekülü oluşur. Ghreltin, 28 aminoasitten oluşur (Kojima ve Kangawa, 2005; López-Ferreras ve ark., 2017; Rexford ve Daniel, 2009).

Ağırlıklı olarak mideden salgılansa da ince ve kalın bağırsaklardan ve pankreastan da salgılandığı gösterilmiştir. Aynı zamanda merkezi sinir sisteminde de sentezlendiği bilinmektedir. Hipotalamus (DMN, VMN, PVN ile ARC arasında kalan 3. ventriküle komşu hücreden fakir alanlarda ve diğer birkaç beyin bölgesinde ghreltin pozitif hücrelerin varlığı saptanmıştır (Frank ve ark., 2014; Kojima ve Kangawa, 2005)

Kan basıncının düşmesi, iştah artışı, vücut yağlanması, vücut ağırlığı artışı, mide salgısının artması gibi birçok fizyolojik fonksiyonda rolü olan ghreltin, periferde sentezlenen tek oreksijenik moleküldür. Ekspresyonu beslenme ile düzenlenir ve plazmadaki seviyesi açlıkta artar, beslenme sonrasında ise azalır (Kojima ve Kangawa, 2005; Rexford ve Daniel, 2009).

Periferel veya merkezi ghreltin uygulaması erkek sıçanlarda ve ovariektomize dişi sıçanlarda besin alımını artırır (Arnold ve ark., 2006). Östrojen ghreltin etkinliğini etkiler. Ekzojen olarak uygulanan ghreltinin normal dişi sıçanlarda, erkek

sıçan ve OVX dişi sıçanlara göre besin alımını daha az uyardığı gösterilmiştir (Clegg ve ark., 2007; Frank ve ark., 2014).

Ancak ghrelin proöstrus fazındaki normal bir dişi sıçana enjekte edildiğinde aynı hiperfajik seviyeler gözlenmemiştir. Ayrıca OVX sıçanlara E2 verildiğinde ghrelin kaynaklı hiperfaji ortadan kalkmıştır. Erkek sıçanlarda ghrelin doğrudan ARC nukleusa verilmiş ve ghrelinin etkilerinin azaldığı gösterilmiştir (Clegg ve ark., 2007). Ghrelin reseptörü olan büyüme hormonu stimüle edici reseptörü (GHSR: Growth Hormone Secretagogue Receptor) olmayan OVX farelerle yapılan bir çalışmada, cerrahi işlem öncesinde normal tip farelerle aynı vücut ağırlıklarında olan ve aynı miktarlarda besin alan bu farelerde ovariyektomi sonrası besin alımı artmamıştır. Ayrıca yüksek yağlı besin verilen dişi GHSR^{-/-} farelerin, erkek GHSR^{-/-} farelerden daha düşük vücut ağırlığına ve yağlanmaya sahip olduğu bildirilmiştir (Brown ve Clegg, 2010; Clegg ve ark., 2007; Frank ve ark., 2014)

2.4.3.2. Anoreksijenik Peptitler

α -Melanosit Stimüle Edici Hormon (α -MSH)

POMC nöronlarının sentezlediği, melanokortin peptitlerinin öncüsü olan POMC, sonrasında α -melanosit stimüle edici hormon (α -MSH) gibi daha küçük peptitlere parçalanır. α -MSH, beyindeki MC3/MC4 reseptörleri aracılığıyla besin alımını azaltır (Parker ve Bloom, 2012).

POMC nöronlarının ER- α eksprese ettiği gösterilmiştir (Xu ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda dişi farelerde POMC nöronlarında ER- α ekspresyonunun azalması, E2 kaynaklı besin alımı baskılanmasını azaltarak besin alımı ve vücut ağırlığında önemli artışlara neden olmuştur. Tüm bunlar ER- α 'nın POMC nöronlarında enerji homeostazını etkilediğini ve E2'nin anoreksijenik etkileri için bir mekanizma sağlayabileceğini düşündürmektedir (Frank ve ark., 2014; Xu ve ark., 2011).

Sonuç olarak; E2'nin, besin alımını baskılamak ve negatif geri beslenme döngüsünü sürdürmek için hipotalamik POMC nöronlarına etki ettiği şeklinde yorumlanmıştır (Frank ve ark., 2014).

Leptin

Yağ dokusu tarafından sentezlenen bir hormondur. 167 aminoasitlik bir polipeptiddir. 7. kromozomda bulunan Ob geninden eksprese edilir, bu sebeple ob proteini de denilmektedir. İlk olarak 1994 yılında tanımlanmıştır ve beyaz yağ dokusu tarafından sentezlenir. Ancak leptin hormonunun yüksek seviyelerde olmamakla birlikte plasenta, testis, ovaryum, göbek kordonu, mide epiteli, kemik iliği hücreleri tarafından da sentezlendiği gösterilmiştir (Crespo ve ark., 2014; Frank ve ark., 2014; Fungfuang ve ark., 2013).

Leptin kan-beyin bariyerini transmembran difüzyon ile her iki yönde de geçebilir ve anoreksijenik etkilerini leptin reseptörleri taşıyan NPY/AgRP ve POMC nöronlarının bulunduğu ARC nukleus üzerinden gerçekleştirir. Leptin, besin alımını baskılayan POMC nöronlarını aktive ederken besin alımı üzerinde tam tersi etkiye sahip NPY/AgRP nöronlarını baskılayarak besin alımını azaltıcı etki gösterir (Crespo ve ark., 2014; Frank ve ark., 2014). Hipotalamik ghrelin ise leptinin anoreksijenik etkilerini azaltıcı yönde etki gösterir (Crespo ve ark., 2014).

Leptin reseptörünün birkaç varyantı vardır. Leprb olarak isimlendirilen uzun formun enerji dengesinin düzenlenmesi açısından kritik olduğu düşünülmektedir. Leprb'ler, VMH ve ARC nukleus dahil olmak üzere çeşitli beyin bölgelerinde bulunurlar. Leptin, hipotalamik nöronları aktive etme veya inhibe etme yeteneğine sahiptir (Frank ve ark., 2014; Kim ve ark., 2016). ARC nukleustaki leprb ekspresyonu ER- α ile ko-lokalizedir. Östrojenin muhtemelen leptin reseptör geni üzerindeki bir östrojene yanıt elemanı (estrogen response elements; ERE) yoluyla ARC nukleustaki leprb'nin ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir (Frank ve ark., 2014; Xu ve Lopez, 2018).

Östrojen - leptin ilişkisi besin alımı ve enerji dengesinin kontrolünde önemli bir yere sahiptir. Kadınlarda menopozla birlikte meydana gelen vücut ağırlığı ve yağ dağılımındaki değişiklikler benzer olarak sıçanlarda ovariektomi sonrasında besin alımının artması ve fiziksel aktivitenin azalması, vücut ağırlığının ve yağ dokusunun artışı şeklinde ortaya çıkar (Fungfuang ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2018). Leptin üretimi adipoz doku kitlesi ile pozitif korelasyon gösterir. Bu nedenle leptin düzeyleri, kadınlarda puberte döneminden önce bile erkeklerden daha yüksektir. Puberteden sonra östrojenler, seks steroid reseptör bağımlı transkripsiyon

mekanizmaları ile leptin sentezini ve sekresyonunu artırırken, testosteron azaltır (Frank ve ark., 2014; Xu ve Lopez, 2018).

Kolesistokinin (CCK)

CCK, ilk sentezlendiğinde 115 aminoasitlik prepro-CCK polipeptidi şeklindedir. Daha sonra CCK-8, CCK-22, CCK-33 ve CCK-58 olmak üzere dört farklı forma dönüşür. Sindirim sisteminde duodenum, jejunum ve proksimal ileum mukozası içerisindeki enteroendokrin hücrelerin sentezlediği bir hormondur. Ayrıca çeşitli beyin bölgelerinde ve myenterik pleksusta gösterilmiştir. CCK gastrointestinal sistemde; gastrik boşalma, distansiyon, safra kesesi kontraksiyonu, pankreatik sekresyon ve intestinal motiliteyle ilişkilendirilmiştir. Besin alımından hemen sonra salgılanarak tokluğun oluşmasını ve gastrik boşalmanın inhibisyonunu sağlar (Chandra ve Liddle, 2007; Pratt ve ark., 2004).

Besin alımını baskılayan ve tokluk hissi oluşturan bir peptid olan CCK'nın kandaki seviyesi yükselir. Besinlerin duodenuma geçişi ile pankreatik enzim sekresyonu aktive olur. Aynı zamanda safra kesesinin kasılmasını sağlayarak safra salgısının duodenuma geçişini artırır. Mide boşalmasını da yavaşlatarak tokluk hissinin daha uzun sürmesini sağlar (Chandra ve Liddle, 2007).

Östrojen ve CCK arasındaki ilişkiyi gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Dişi sıçanlarda östrojen CCK aracılı tokluğu artırır. Dişi sıçanlarda, intraperitoneal CCK enjeksiyonu, östrus ve proöstrus sırasında sırasında besin alımını inhibe ederken diöstrus sırasında etmemiştir (Eckel ve ark., 2002; Wager-Srdar ve ark., 1987). E2 verilmiş OVX fareler ile proöstrus evresindeki normal dişi farelerde CCK reseptörü olan CCK-A'nın antagonistleri besin alımını arttırmıştır. Ancak diöstrus evresinde daha düşük seviyelerdeki E2 ile bu etki azalmıştır (Asarian ve Geary, 2013).

CCK, tokluk eylemini öncelikle subdiaphragmatik vagal afferent nöronları aktive ederek sağlar. CCK doyumluğu vagal afferentlere bağlı olduğundan, vagal afferent liflerin terminallerindeki CCK reseptörlerinin arttırılmasının, CCK duyarlılığının artmasına neden olabileceği düşünülmüştür. Bu artışı da östrojenin sağlayıp sağlamadığını belirlemek için yapılan çalışmalar, östrojenin CCK-A reseptörlerinin sayısını arttırmadığını, bunun yerine CCK-A reseptörlerinin

duyarlılığını artırarak CCK'nın vagal potansiyelini arttırdığını göstermiştir (Asarian ve Geary, 2013; Xu ve ark., 2017; Xu ve Lopez, 2018).

İnsülin

İnsülin, pankreasın hormonal salgı birimleri olan langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden salgılanan polipeptit yapılı bir hormondur. Glukagon ile birlikte karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde rol alır ve kan şekerini düşürücü etkisi vardır. Dolaşım sistemi aracılığıyla merkezi sinir sistemine ulaşan insülinin beyinde birçok reseptörü bulunur. Özellikle hipotalamusta ARC nukleusta bulunan reseptörleri aracılığıyla anoreksijenik etkilerini gerçekleştirir (Crespo ve ark., 2014; Schwartz ve ark., 2000).

ARC nukleusta bulunan ve besin alımını arttırıcı yönde etki gösteren NPY/AgRP nöronlarını inhibe ederken, besin alımını baskılayıcı etki gösteren POMC/CART (CART: cocaine and amphetamine regulated transcript) nöronlarını aktive eder. Böylece besin alımını baskılar (Crespo ve ark., 2014). Hipotalamik insülin reseptörlerinin aktivasyonu besin alımını ve vücut ağırlığını azaltır (Schwartz ve ark., 2000).

Hormonlar beyine önemli düzenleyici sinyaller sağlar. Gonadal steroid hormon düzeylerinin manipüle edilmesi, leptin ve insülin duyarlılıklarını ve vücut yağ dağılımını etkileyebilir. Bu da, androjenlerin ve E2'nin, beyinin insülinin katabolik etkilerine olan duyarlılığının temel belirleyicileri olduğunu düşündürmektedir. Orantısız olarak düşük östrojen düzeyi, MSS'de insülin duyarlılığını artırır (Frank ve ark., 2014).

2.5. Nesfatin-1

2.5.1. Nesfatin-1 Genel Özellikleri

2006 yılında, Oh-I ve arkadaşları NEFA/nucleobindin2 (NUCB2)'yi öncelikle ölümsüz hücre hatlarında ve daha sonra kemirgenlerin hipotalamusunda keşfetmişlerdir. NUCB2 gen ürünü, bilinmeyen bir fonksiyona sahip protein olarak tarif edilen 396 aminoasitlik bir peptittir (Barnikol-Watanabe ve ark., 1994). Bu prohormon, konvertazlar tarafından, amino- ucu fragmanı nesfatin-1'e (1-82),

karboksi- ucu fragmanı ise nesfatin-2 (85-161) ve nesfatin-3'e (166-396) öncüllük edecek şekilde birkaç fragmana ayrılır. NUCB2'nin post-translasyonel ürünlerinden nesfatin-2 ve nesfatin-3 besin alımı üzerinde herhangi bir etki göstermezken, nesfatin-1 iştah ve metabolizma düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir doygunluk molekülü olarak belirlenmiştir. Sıçan beyin-omurilik sıvısı ve hipotalamik paraventriküler nukleus (PVN)'da belirlenen amino- ucu fragmanı nesfatin-1'in kemirgenlerde intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak verilmesinin, gıda alımını doz bağımlı olarak azalttığı bulunmuştur (Dore ve ark., 2017; Oh-I ve ark., 2006; Stengel ve Taché, 2010).

2.5.2. Nesfatin-1 Ekspresyonu

NUCB2 mRNA ekspresyonu başlangıçta, gıda alımının düzenlenmesinde rol oynayan sıçan hipotalamik ve beyin sapı çekirdeklerinde, arkuat nukleus, paraventriküler nukleus (PVN), supraoptik nukleus, lateral hipotalamik alan, zona inserta ve nukleus traktus solitarius'da (NTS) saptanmıştır. Sonraki çalışmalarda dorsomedial nukleus, tuberal hipotalamik alan, periventriküler nukleus, arkuat nukleus, Edinger -Westphal çekirdeği, lokus seruleus, medüller rafe nukleusları ve vagus siniri dorsal motor çekirdeği olmak üzere ek hipotalamik ve arka beyin çekirdeklerinde de NUCB2/nesfatin-1 immünoaktivitesi saptanmıştır. Son olarak insular korteks, merkezi amigdalooid çekirdek, ventrolateral medulla ve serebellumu içeren ön beyin ve arka beyin çekirdeklerinde de ile nesfatin-1'in varlığı gösterilerek MSS'deki haritalaması genişletilmiştir (Stengel ve Taché, 2010).

Beyin ve bağırsak peptiderjik içeriği örtüşmektedir ve çalışmalar nesfatin-1'in kan-beyin bariyerini konsantrasyondan bağımsız transmembran difüzyon ile her iki yönde de geçebileceğini göstermektedir. Bu nedenle nesfatin-1'in periferik bir kaynağı olup olmadığı da araştırılmıştır. Periferal dokularda gerçekleştirilen immünohistokimyasal çalışmalar sıçan midesinde, pankreas, hipofiz bezi ve testiste NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonunun varlığını göstermiştir (Stengel ve ark., 2009; Stengel ve Taché, 2010). NUCB2/nesfatin-1, sıçanlarda midenin X/A benzeri endokrin hücrelerinde ghrelin ile, hem sıçan hem de farelerin pankreasında ise langerhans adacıklarının β hücrelerindeki insülin ile ko-lokalizedir (Wei ve ark., 2018).

NUCB2/nesfatin-1 reseptörü henüz tanımlanamamış olmasına rağmen, MSS'de (örneğin; hipotalamus, korteks) ve periferik organlarda (örn. Gastrointestinal sistem, hipofiz, pankreas), nesfatin-1 için spesifik bağlanma yerleri tespit edilmiştir (Dore ve ark., 2017; Ishida ve ark., 2012).

Nesfatin-1 anoreksijenik özelliklerinin yanında, kardiyovasküler etkiler ve üreme fonksiyonları, glikoz homeostazisi, lipid metabolizması, uyku ve duygu durumu düzenleme ile ilişkili fonksiyonlara sahiptir (Dore ve ark., 2017). Birçok çalışma NUCB2/nesfatin-1'in insülin duyarlılığını artırarak glikoz metabolizmasını etkileyebileceğini göstermiştir (Yang ve ark., 2012). Ayrıca Nesfatin-1'in periferik infüzyonunun, adipozite ile trigliserit ve kolesterolün plazma seviyelerini düşürebileceği ve sıçanlarda kalp atım hızını ve kan basıncını artırdığı gösterilmiştir (Yosten ve Samson 2009). NUCB2/nesfatin-1'in erkek sıçanlarda üreme ekseninin düzenlenmesinde de rol oynadığı, korku ve endişeyle ilişkili davranışları arttırabildiği bilinmektedir. İnsanlarda da, birçok psikiyatrik bozukluk NUCB2/nesfatin-1'in plazma veya serum seviyelerinde değişikliklere neden olmaktadır (Wei ve ark., 2018).

2.5.3. Nesfatin-1 ve Besin Alımının Düzenlenmesi

Oh-I ve arkadaşları (2006), hem nesfatin-1 hem de onun prekürsörü NUCB2'nin anoreksijenik özelliklere sahip olduğunu gösteren ilk kişilerdir. NUCB2 veya nesfatin-1'in benzer dozlarda üçüncü ventriküle enjeksiyonu karanlık faz boyunca ad libitum beslenen sıçanlarda besin alımını azaltmıştır. Aynı araştırmacılar, üçüncü ventriküle akut nesfatin-1 antikoru uygulaması ve aynı zamanda 10 gün süresince günlük Nucb2 antisens oligonükleotit enjeksiyonu uygulamışlardır. Deneklerde besin alımının arttığı gözlenmiş ve NUCB2/nesfatin-1'in endojen seviyelerinin beslenme davranışını düzenlemede rol oynadığı şeklinde yorumlanmıştır (Oh-I ve ark., 2006). Nesfatin-1'in anoreksijenik etkisi, ad libitum beslenen ve aç bırakılmış sıçanlar ile farelerde nesfatin-1'in merkezi olarak enjekte edildiği diğer birçok çalışmalarla da doğrulanmıştır (Atsuchi ve ark., 2010; Goebel ve ark., 2011; Gotoh ve ark., 2013; Könczöl ve ark., 2012; Maejima ve ark., 2009; Stengel ve ark., 2009; Wernecke ve ark., 2014; Yosten ve Samson 2009; Gina ve ark., 2010)

Nesfatin-1'in periferik uygulaması da incelenmiştir. İntraperitoneal akut uygulaması, hem zayıf hem de leptin-dirençli obez farelerde besin alımını azaltmıştır. Bu da periferik nesfatin-1 uygulamasının, leptin-bağımsız bir şekilde anoreksijenik etki gösterdiğini düşündürmüştür. Periferik nesfatin-1 uygulaması, besin alımının merkezi düzenlemesini doğrudan beyini vagal afferentler yoluyla veya kolesistokinin (CCK) gibi endokrin haberciler yoluyla etkiliyor olabileceği ifade edilmektedir (Dore ve ark., 2017).

Endojen NUCB2/nesfatin-1'in kendisi beslenme davranışını düzenlemesine rağmen, nesfatin-1 ifadesinin de beslenme durumu tarafından düzenleniyor olabileceği düşünülmektedir. Kemirgenlerde, hem merkezi (SON ve PVN'de) hem de periferik (deri altı adipoz doku ve plazmada) Nucb2 mRNA ve NUCB2/nesfatin-1 protein düzeylerinin açlık ile azaldığı ve beslenme ile normalize edildiği gösterilmiştir (Garcia-Galiano ve ark., 2010; Oh-I ve ark., 2006; Ramanjaneya ve ark., 2010).

Literatür bilgisi ışığında nesfatin-1 nöronlarında ER- α ve ER- β ekspresyonunu gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, nesfatin-1'in merkezi anoreksijenik etkilerinin östrojen aracılığıyla nesfatin-1 nöronlarında eksprese edilen ER- α ve/veya ER- β üzerinden direkt olarak gerçekleşip gerçekleşmediğinin ve bu ekspresyonda cinsiyetler arası olası farklılıkların belirlenebilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla hiçbir ön uygulama yapılmamış dişi ve erkek sıçanlarda ER- α ve ER- β reseptörlerinin nesfatin-1 nöronlarındaki ekspresyonları ikili immünohistokimyasal işaretleme ile araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Bu çalışmada, ana bilim dalımızda daha önce tamamlanan proje kapsamında elde edilmiş ve seri kesit olarak alındığı için bir bölümü kullanılmamış sıçan beyin kesitleri kullanıldı. Kesitler, Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi tarafından temin edilen Sprague Dawley cinsi 200-250 g ağırlığında dişi ve erkek sıçanlardan elde edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen denek sayısı Tablo 4’de verilmiştir.

Bu tez çalışması Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından etik yönden uygun bulunarak yapılmıştır (22.08.2017 tarihli 2017-11/05 sayılı karar).

3.2. Dokuların Eldesi ve Saklanması

Beyin kesitleri, derin eter anestezisi altında transkardiyak perfüzyon ile sakrifiye edilen deneklerin beyinlerinden elde edilmiştir. Çıkarılan beyinler %4’lük paraformaldehit içerisinde bir gece +4⁰C’de postfiksasyona bırakılmıştır. Beyin kesitleri, vibratom ile rostra-kaudal eksen boyunca 40 µm kalınlığında 5 seri halinde alınmıştır. Alınan kesitler Tris-HCl tamponu (0,05 M) ile yıkandıktan sonra kullanım zamanına kadar antifriz madde içerisinde -20⁰C’de saklanmıştır.

Tablo 4: Çalışmada kullanılan denek sayıları

Deney Grupları	Denek Sayısı
ER- α + nesfatin-1 işaretlemesi	n:6 Dişi n:6 Erkek
ER- β + nesfatin-1 işaretlemesi	n:3 Dişi n:3 Erkek

3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem

Yüzen kesitlere ikili immünohistokimyasal teknik uygulandı. Tüm işlemler orbital çalkalayıcı (orbital shaker) aracılığıyla cam vialler içerisinde yzürülen kesitler üzerinde gerçekleştirildi.

3.3.1. Antikorlar İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi

Primer antikorlar (Tablo 5)'den en iyi sonuçların alınabilmesi için belirlenen dilüsyon oranı, inkübasyon süresi ve sıcaklığı ile endojen peroksidaz aktivitesinin bloklanması gibi ön uygulama işlemleri Tablo 6'da verilmiştir.

Endojen peroksidaz aktivitesinin bloklanması

ER- α ve ER- β primer antikorları için en uygun dilüsyon ve inkübasyon süresinin belirlenebilmesi amacıyla yapılan ön çalışmalar sırasında antikorların zemin boyanmasına neden olduğu gözlemlendi. Bu nedenle endojen peroksidaz aktivitesinin bloklanması için Tris-HCl tamponunda hazırlanan %3 hidrojen peroksit (H_2O_2) solüsyonu kullanıldı.

3.3.2. İmmünohistokimyasal İşaretlemelerin Kontrolü

Çalışmada kullanılacak antikorların özgünlüğünü belirleyebilmek için kontrol kesitlerinde primer antikor yerine bloklayıcı serum kullanılarak gerçekleştirilen kontrol boyamalarında hiçbir işaretlenme gözlenmedi.

Tablo 5 : Primer Antikorlar

Antikor	Üretici Firma	Katalog No
Tavşan anti-ER- α	Santa Cruz Biotechnology, Inc	SC-542
Tavşan anti-ER- β	Thermo-Scientific, Inc.	PA1-310B
Tavşan anti-nesfatin-1	Phoenix Pharmaceuticals, Inc	H-003-22

Tablo 6 : Antikorlar için belirlenen optimum şartlar

Antikor	Dilüsyon	İnkübasyon Süresi	İnkübasyon Sıcaklıkları	Endojen Peroksidaz Aktivitesinin Bloklanması	
				%H ₂ O ₂	Süre
Tavşan anti-ER- α	1:5000	1 gece	Oda Sıcaklığı	%3	5 dakika
Tavşan anti-ER- β	1:10000	2 gece	Oda Sıcaklığı	%3	5 dakika
Tavşan anti nesfatin-1	1:30000	1 gece	Oda Sıcaklığı	-	-

3.3.3. Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptör Alfa ve Beta (ER- α ve ER- β) İşaretlemeleri

Herhangi bir işlem yapılmamış deneklerde ikili immünohistokimyasal yöntemle işaretlenen kesitler incelendi.

Nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptör alfa (ER- α) varlığının belirlenmesi için ikili immünoperoksidaz prosedürü

1. Antifriz madde içerisindeki kesitler oda sıcaklığına geldikten sonra kriyoprotektanın uzaklaştırılabilmesi için yıkama solüsyonunda 3 kez 10'ar dakika yıkandı.
2. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak için kesitler Tris-HCl tamponu ile hazırlanan %3 H₂O₂ solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
3. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl solüsyonu ile yıkandı.
4. Hedef antijeni maskeleyebilecek non-spesifik bağlanmaları baskılamak için bloklayıcı serum ile 2 saat inkübe edildi. Bloklama solüsyonu olarak %10'luk normal at serumu kullanıldı.
5. 1:5000 dilüsyonunda tavşan anti-ER- α antikorunu (SC-542; Santa Cruz Biotechnology, Inc) ile oda sıcaklığında 1 gece inkübasyona bırakıldı.
6. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl solüsyonu ile yıkandı.
7. 1:300 oranında Biotin-konjuge eşek anti-tavşan sekonder antikor kullanılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.
8. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl solüsyonu ile yıkandı.
9. Avidin biyotin kompleksi (ABC) solüsyonu (100 μ l A ve 100 μ l B solüsyonu/5 ml Tris-HCl) ile 1 saat inkübe edildi.
10. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl solüsyonu ile yıkandı.

11. Substrat kromojen solüsyonu Ni-DAB (Nikel 1 g, 12,5 mg DAB, 1,3 µL H₂O₂/50 ml Tris-HCl) ile immünohistokimyasal reaksiyon görünür hale getirildi.
12. Boyamayı takiben kesitler 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl tamponu ile yıkandı.
13. Kesitler bloklayıcı serumda 2 saat inkübe edildi.
14. 1:30000 dilüsyonunda tavşan anti-nesfatin antikorida oda sıcaklığında 1 gece inkübe edildi.
15. Tris-HCl tamponu ile 3 defa 10'ar dakika yıkandı.
16. 1:300 oranında biyotin-konjuge eşek anti-tavşan sekonder antikor kullanılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.
17. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl tamponu ile yıkandı.
18. Kesitler avidin biyotin kompleksi (ABC) ile 1 saat inkübe edildi.
19. 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl tamponu ile yıkandı.
20. Kromojen substrat DAB (DAB; 12,5 mg DAB, 1,3 µL H₂O₂/25 ml Tris-HCl) reaksiyon görünür hale getirildi.
21. Boyamanın ardından kesitler 3 kez 10'ar dakika Tris-HCl tamponu ile yıkandı.
22. İkili işaretlemeler tamamlandıktan sonra kesitler lamlara yayılarak kurutuldu ve DPX ile kapatıldı.

Nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptör beta (ER-β) varlığının belirlenmesi için ikili immünooperoksidaz prosedürü

1. Kesitler oda sıcaklığına geldikten sonra kriyoprotektanın uzaklaştırılabilmesi için yıkama solüsyonunda 3x10 dakika yıkandı.
2. Kesitler dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak için Tris-HCl tamponu ile hazırlanan %3 H₂O₂ solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
3. Tris-HCl tamponu ile 3x10 dakika yıkandı.
4. Hedef antijeni maskeleyebilecek non-spesifik bağlanmaları baskılamak için bloklayıcı serum ile 2 saat inkübe edildi. Bloklama solüsyonu olarak %10'luk normal at serumu kullanıldı.
5. Tavşan anti-ER-β primer antikoru (1:10000) solüsyonu ile oda sıcaklığında 2 gece inkübasyona bırakıldı.

6. basamak ve sonrası nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptör alfa (ER- α) varlığının belirlenmesi için kullanılan ikili immünoperoksidaz prosedürü ile aynı şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.4. Preparatların İncelenmesi

İmmün işaretlemeler koordinatları “stereotaksik koordinatlarda sıçan beyni” (Paxinos ve Watson 2009) atlasına göre belirlenen kesitlerde değerlendirildi. Periventriküler nukleus için bregma -0.24 mm ile -3.60 mm, arkuat nukleus için bregma -2,12 mm ile -3,80 mm, paraventriküler nukleusun medial parvoselüler kısmı içinse bregma -1.56 mm ile -2,04 mm koordinat aralıkları belirlendi. Her bir denek için birbirlerine eşit uzaklıkta bulunan 5 farklı seviyeden alınmış, rostra-kaudal düzlemdaki kesitler kullanıldı. Daha önceden her bir denekten 5 seri şeklinde alınarak cam viallerde saklanan kesitlerin birer vialinde bulunan, tek bir serisinde ikili immünperoksidaz yöntemi ile boyama işlemi gerçekleştirildi.

Serideki tüm kesitler lamlara yayılıp kapatıldıktan sonra hücre sayımları Olympus BX50 fotomikroskop ile 40X objektif kullanılarak gerçekleştirildi. Belirlenen hipotalamik çekirdeklerdeki tüm nesfatin-1 nöronları sayıldı. Nesfatin-1 işaretli nöronlar içerisinde ER- α veya ER- β immün-pozitif olan nöronların oranı hesaplandı. Sayımlardan elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.5 İstatistiksel Değerlendirme

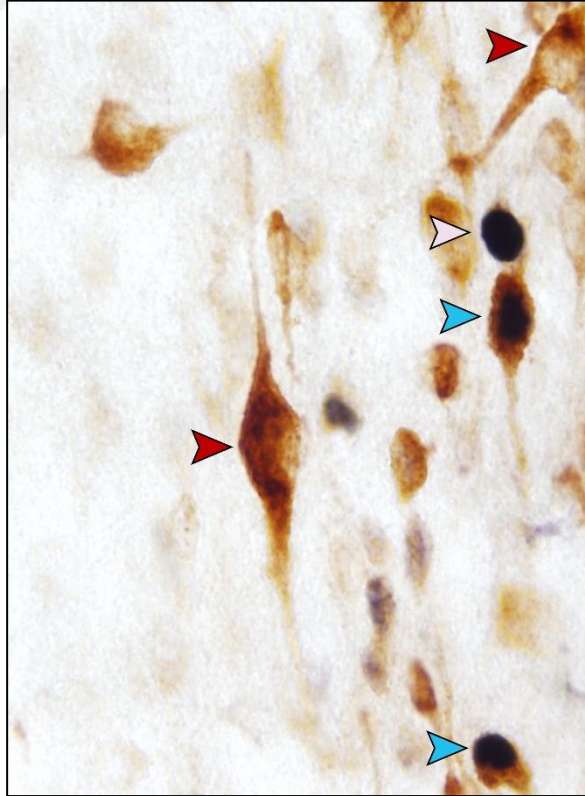
İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 20, SSPS Inc., Chicago, IL, USA) (SPSS) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanıldı ve gruplar arası fark değerlendirilirken P değerinin 0,05'ten küçük ($P<0,05$) olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İmmünohistokimyasal İşaretlemeler

ER antikorlarıyla yapılan işlemler nikel DAB ile siyah renkte işaretlendikten sonra, aynı kesitler ikinci boyama için nesfatin-1 antikoruyla inkübe edilerek, DAB ile kahverengi renkte işaretlendi (Şekil 7). Daha sonra kesitler lama alınıp kapatılarak ve ışık mikroskopunda incelendi. Hem sitoplazmik hem de çekirdek boyanmasına sahip nöronlar ikili işaretlenmiş olarak değerlendirildi.

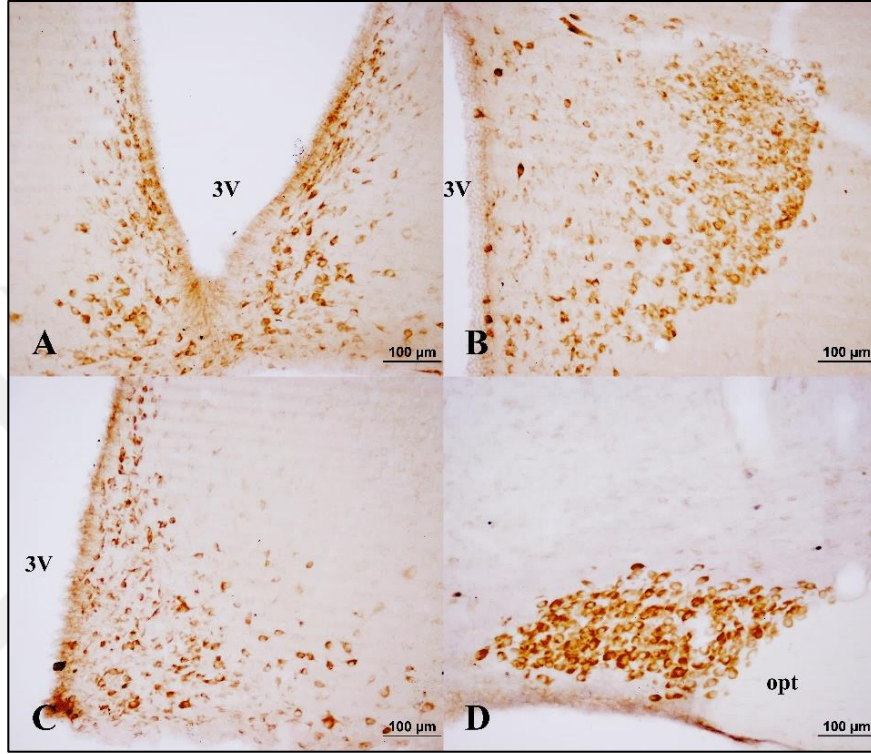
Hipotalamusun periventriküler nukleus ve akuat nukleusunda ER- α ile lokalize olan nesfatin-1 nöronlarının oranları belirlenirken, ER- β için paraventriküler çekirdeğin medial parvosellüler kısmındaki işaretlemeler değerlendirildi.



Şekil 7: İmmünohistokimyasal İşaretlemeler. Östrojen reseptörleri nöron çekirdeklerinde siyah renkli (beyaz ok) ve nesfatin-1 ekspresyonu kahverengi renkli (kırmızı ok) immüno-presipitasyon olarak belirlenmiştir. Östrojen reseptörlerini eksprese eden nesfatin-1 nöronları mavi ok ile gösterilmiştir.

4.2. Hipotalamusta Nesfatin-1 Nöronlarının Dağılımı

Nesfatin-1 nöronlarının hipotalamustaki dağılımı literatürle uyumlu olarak paraventriküler nukleus, arkuat nukleus, supraoptik nukleus, lateral hipotalamik alan, periventriküler nukleusda belirlendi (Şekil 8.).



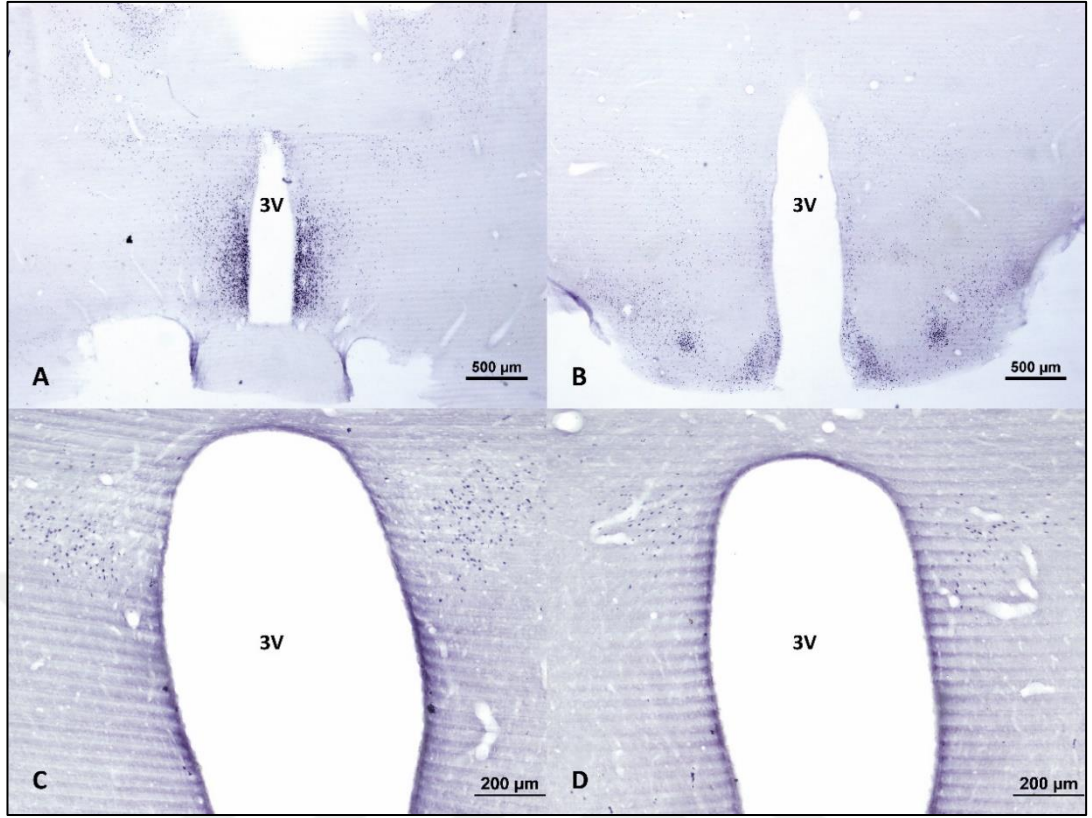
Şekil 8: Nesfatin-1 nöronlarının hipotalamusta dağılımı. Periventriküler nukleus, paraventriküler nukleus, arkuat nukleus ve supraoptik nukleusda nesfatin-1 nöronlarının yerleşimi. (3V: 3. Ventrikül)

4.3. Hipotalamusta ER- α Ekspresyonu

Hipotalamusta ventromedial nukleus (VMN), arkuat nukleus (ARC) ve medial preoptik alan (MPOA)'da ER- α ekspresyonu belirlendi (Şekil 9-A,B).

4.4. Hipotalamusta ER- β Ekspresyonu

Paraventriküler nukleusun medial parvosellüler kısmında güçlü bir ER- β immünoreaktivitesi belirlendi (Şekil 9-C,D).



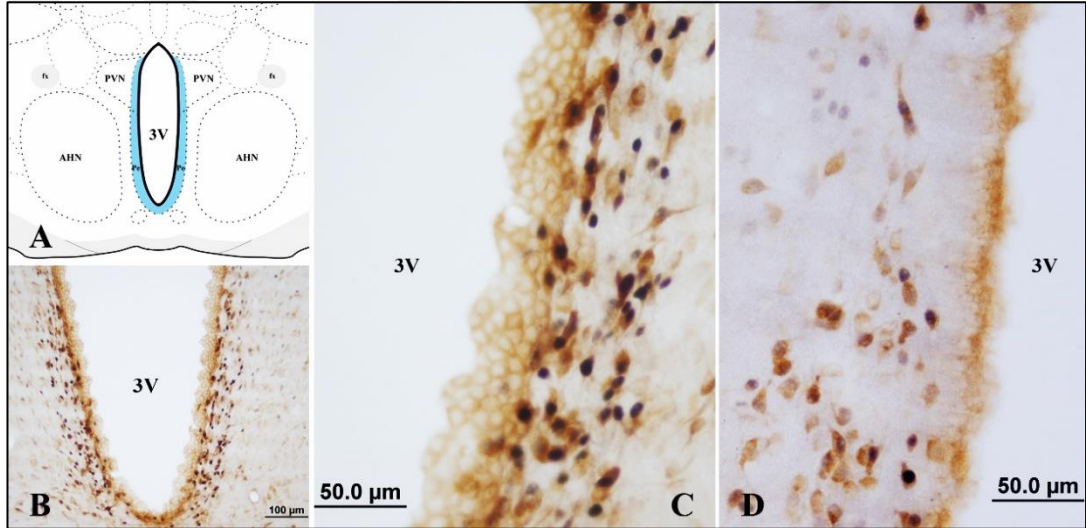
Şekil 9: Hipotalamusta ER- α ve ER- β ekspresyonu. (A) medial preoptik alan (MPOA)'da (B) Arkuat nukleus (ARC) ve Ventromedial nukleus (VMN)'da ER- α ekspresyonu. (C,D) Medial parvosellüler (mpv) PVN'de ER- β ekspresyonu. (3V: 3. Ventrikül)

4.5. Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptörlerinin Varlığı

Hiçbir işlem yapılmamış dişi ve erkek deneklerden elde edilen beyin kesitlerinde gerçekleştirilen ikili immünohistokimyasal işaretlemeler sonucunda nesfatin-1 nöronlarında iki tip östrojen reseptörünün de var olduğu gözlemlendi.

4.5.1. Nesfatin-1 Nöronlarında ER- α Ekspresyonu

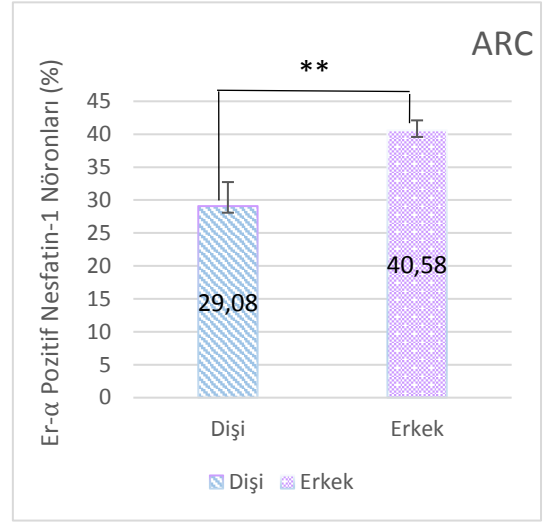
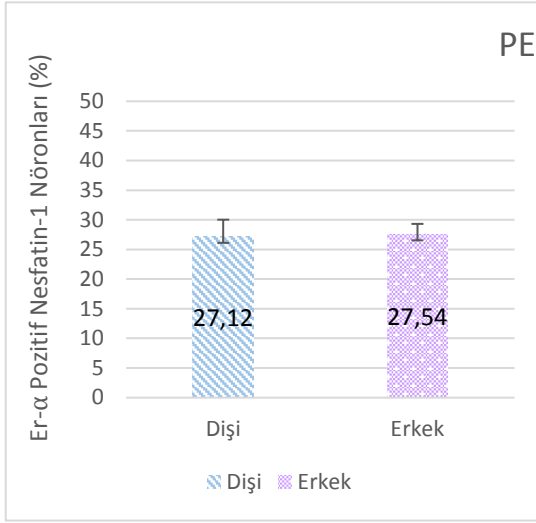
Hipotalamik periventriküler ve arkuat nukleuslarda bulunan nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonu değerlendirildi. Periventriküler nukleusta (Şekil 10), dişi deneklerde nesfatin-1 nöronlarının ortalama $27,12 \pm 2,91$ 'i, erkek deneklerde ise $27,54 \pm 1,78$ 'i ER- α ekspresyonuna sahip olarak bulundu. Arkuat nukleustaki ER- α ekspresyonu (Şekil 11) incelendiğinde; dişilerde $29,08 \pm 3,65$ oranında, erkeklerde ise $40,58 \pm 1,52$ oranında ER- α immünoaktivitesi belirlendi (Tablo 7). Periventriküler nukleusta, ER- α eksprese eden nesfatin-1 nöronları gruplar arasında farklılık göstermezken (Grafik 1), arkuat nukleusta ER- α ekspresyonunda dişi ve erkek denekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P=0,037$) belirlendi (Grafik 2).



Şekil 10: Periventriküler nukleusta nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonu. (A,B) Periventriküler nukleusun yerleşimi, periventriküler nukleusta (C) dişi deneklerde, (D) erkek deneklerde nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonu. (AHN:Anterior hipotalamik nukleus, PVN:Paraventriküler çirdek, ME:median eminens, 3V:3. Ventrikül.)

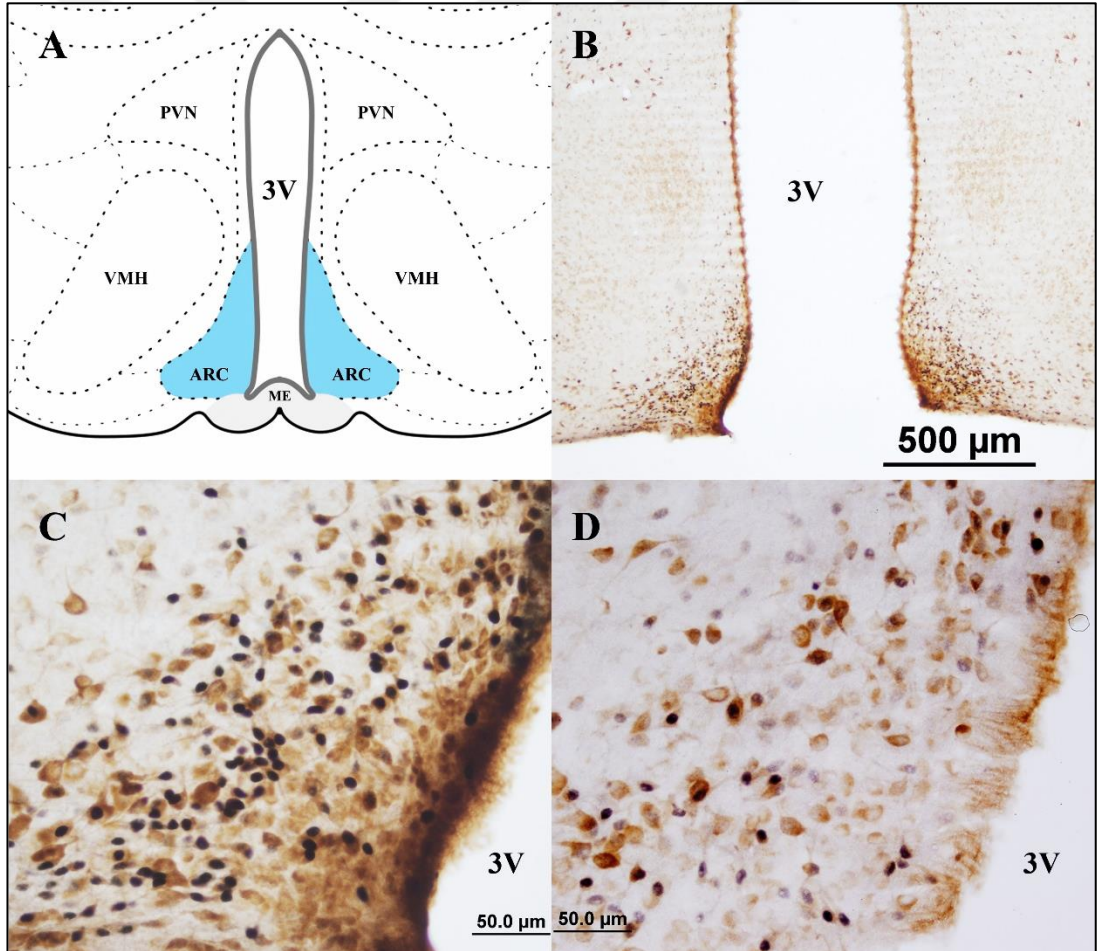
Tablo 7: Er- α eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının ortalama sayıları ve yüzdeleri \pm SE.

Cinsiyet	Alan	Nesfatin -1 Nöronlarının Ortalama Sayıları	ER- α Eksprese Eden Nesfatin-1 Nöronlarının Ortalama Sayıları	ER- α Eksprese Eden Nesfatin-1 Nöronlarının Ortalama Yüzdeleri
Dişi	Pe	552,66 \pm 131,78	158,16 \pm 54,80	%27,12 \pm 2,91
	ARC	720,16 \pm 289,50	242,33 \pm 135,30	%29,08 \pm 3,65
Erkek	Pe	547,66 \pm 51,60	144,00 \pm 17,19	%27,54 \pm 1,78
	ARC	639,00 \pm 135,38	265,66 \pm 61,22	%40,58 \pm 1,52



Grafik 1: Periventriküler nukleusta nesfatin nöronlarında ER-α ekspresyonu.

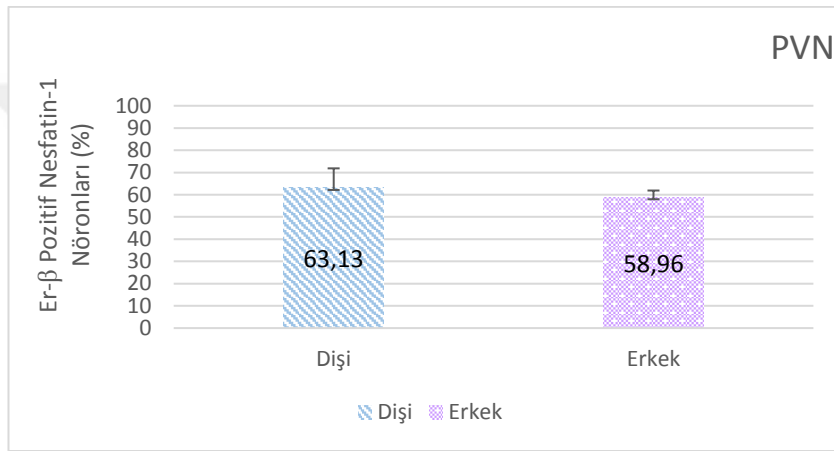
Grafik 2: Arkuat nukleusta nesfatin nöronlarında ER-α ekspresyonu.



Şekil 11: Arkuat nukleusta nesfatin-1 nöronlarında ER-α ekspresyonu. ARC nukleusun yerleşimi (A,B), dişi deneklerde (C), erkek deneklerde (D) arkuat nukleusta yerleşik nesfatin-1 nöronlarında ER-α ekspresyonu. (ARC:Arkuat nukleus, VMH:Ventromedial nukleus, PVN:Paraventriküler çirdek, ME:median eminens, 3V:3. Ventrikül.)

4.5.2. Nesfatin-1 Nöronlarında ER-β Ekspresyonu

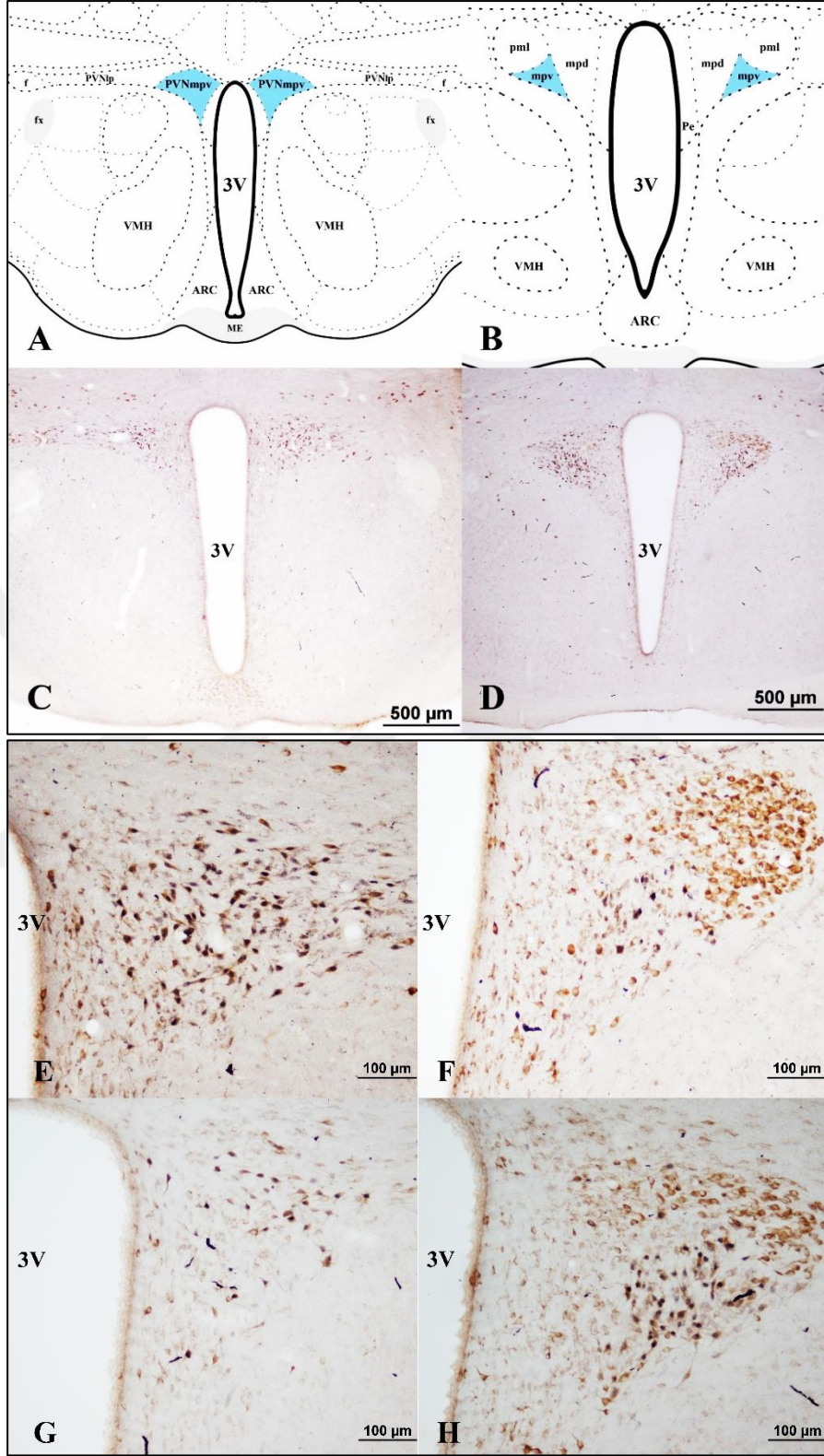
Hipotalamusta ER-β ekspresyonu en belirgin olarak paraventriküler nukleusta belirlenmiştir. Bu çekirdekteki ER-β ve nesfatin-1 ko-lokalizasyonunun tüm deneklerde özellikle paraventriküler nukleusun medial parvosellüler kısmında olduğu görüldü (Şekil 12). Bu alanda ER-β immünopozitif nesfatin-1 nöronlarının ortalama yüzdesi dişi deneklerde %63,13±8,72 olarak hesaplanırken, erkek deneklerde %58,96±2,92 şeklinde hesaplandı (Tablo 8). ER-β ekspresyonu açısından cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Grafik 3).



Grafik 3: Paraventriküler nukleusta yerleşik ER- β pozitif nesfatin-1 nöronları.

Tablo 8: Er-β eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının ortalama sayıları ve yüzdeleri ± SE.

Cinsiyet	Alan	Nesfatin -1 Nöronlarının Ortalama Sayıları	ER-β Eksprese Eden Nesfatin-1 Nöronlarının Ortalama Sayıları	ER-β Eksprese Eden Nesfatin-1 Nöronlarının Ortalama Yüzdeleri
Dişi	PVN	209,66±10,05	134,00±19,16	%63,13 ± 8,72
Erkek	PVN	201,33±20,21	118,33±10,68	%58,96 ± 2,92



Şekil 12: Paraventriküler nükleus nesfatin-1 nöronlarında ER- β ekspresyonu. Paraventriküler nükleusun medial parvosellüler kısmının yerleşimi (A-D), dişi deneklerde (E,F) ve erkek deneklerde (G,H) PVN'de ER- β ve nesfatin-1 kolokalizasyonu.(PVNlp: Lateral Parvosellüler PVN, mpv: Medial Parvosellüler, mpd: Dorsal Medial Parvosellüler, pml: Posterior Magnosellüler Lateral, Pe: Periventriküler Nükleus, ARC: Arkuat Nükleus, VMH: Ventromedial Nükleus, ME: Median Eminens, 3V:3. Ventrikül)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile kurulan hipotez doğrultusunda yapılan araştırma sonucunda elde edilen bulgularla, nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptörlerinin varlığı literatürde ilk kez gösterilmiştir.

Düzenli menstural döngüye sahip kadınlarda (Pelkman ve ark., 2001) ve erişkin kemirgenlerde (Geary, 2004) beslenme davranışı östrojenlerin doğal dalgalanmalarını izler. Kemirgenlerde proöstrusda östradiolün yükselişinden sonra, östrus sırasında günlük besin alımı diöstrus sırasında görülen maksimum günlük kalori almından %20 daha az olan minimum seviyeye düşer (Asarian ve Geary, 2013).

Erkeklerde de metabolik homeostazın sağlanmasında normal östrojen seviyeleri ve fonksiyonel östrojen reseptörleri ile çalışan östrojen sinyalizasyonu gereklidir (Heine ve ark., 2000; Jones ve ark., 2000; Ribas ve ark., 2010).

Östrojenin etkilerini göstermesine aracılık eden östrojen reseptörleri karmaşık hücre içi sinyaller ile birleşir (Billeci, 2008). Bu nedenle östrojen reseptör formlarının, östrojen reseptörlerinin özel aktifleştirici alanlarının ve vücut ağırlığı kontrolü üzerindeki östrojenik eylemler için gerekli östrojen reseptörleri ile ilişkili hücre içi sinyallerin tanımlanması üzerinde yoğun çabalar sarf edilmektedir (Xu, 2017).

Sunulan tez çalışması ile nesfatin-1 nöronlarının regülasyonunda ve dolayısıyla nesfatin-1'in rol aldığı merkezi sinir sistemi aracılı besin alımı baskılanmasında nükleer östrojen reseptörlerinin olası rolü araştırılmıştır ve elde edilen bulgular tartışılmıştır.

Hipotalamusta ER- α Dağılımı

ER- α 'nın beyindeki dağılımı birçok çalışma tarafından gösterilmiştir. Bu tez çalışmasının immünohistokimyasal sonuçları, literatürle uyumlu olarak hipotalamusta ventromedial nükleus (VMN), arkuat nükleus (ARC) ve medial preoptik alanda (MPOA) ER- α ekspresyonu göstermiştir.

Nesfatin-1 Nöronlarında ER- α Varlığı

ER- α , Nesfatin-1 ve Besin Alımı

ER- α 'yı eksprese eden *ESRI* geni silinmiş fareler östrojenin obeziteyi önleyici etkilerine yanıt oluşturamamıştır (Geary ve ark., 2001).

Yalnızca beyinde, ER- α 'sı olmayan fareler üretilmiştir ve bu farelerde obezite geliştiği gösterilmiştir. Aynı zamanda bu mutant farelerde artan besin alımı, düşük enerji tüketimi ve düşük aktivite gözlenmiştir. Beyindeki ER- α 'nın silinmesi, östrojenler tarafından negatif geri besleme regülasyonunu bozarak, 17 β -östradiol'ün kanda daha yüksek seviyelere çıkması ile sonuçlanmıştır. Ancak, dolaşımda 17 β -östradiol düzeyi yükselmiş olmasına rağmen obeziteyi önlemede başarısız olmuştur, bu da enerji dengesinin düzenlenmesinde beyinin baskın bir rol oynadığını göstermektedir (Xu ve ark., 2011).

ER- α , beslenme davranışının düzenlenmesinde yer alan birden fazla beyin bölgesinde eksprese edilir. Medial amigdala (MeA)'da bulunan ER- α , özellikle fiziksel aktiviteyi uyarırken, ARC nukleusta eksprese edilen ER- α esas olarak besin alımını baskılayarak vücut ağırlığı artışını önler (Xu ve ark., 2017).

E2, VMN nöronlarında ve ARC nukleus POMC nöronlarında fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI3K)/Akt yolağını ve bu nöronların aktivitesini uyarır. Bu etkiler bir PI3K inhibitörü tarafından bloke edilebilir. VMN veya ARC nukleus POMC nöronlarındaki PI3K'nın genetik inhibisyonu, E2'nin anti-obezite etkilerini azaltmaktadır. Bu da PI3K'nın, E2'nin metabolik homeostaz üzerindeki etkilerine aracılık etmede önemli bir rol oynadığını gösterir (Saito ve ark., 2016; Zhu ve ark., 2015). Tüm bunlar ER- α tarafından başlatılan hızlı sinyal yollarının, vücut ağırlığı artışını önlemek için östrojenik etkilere aracılık ettiği hipotezini desteklemektedir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, değişen dozlarda ER- α agonistlerinden olan PPT uygulanmasının 1 saat içinde besin alımını azalttığı gösterilmiştir. Aydınlik evrenin son iki saatinde besin kısıtlaması yapıldıktan sonra karanlık evrenin ilk 5 dakikası içerisinde PPT enjeksiyonları yapılmıştır. Sonrasında yiyecekler ulaşılabilir hale getirilerek, 1, 2, 4 ve 22. saatlerde besin alımları hesaplanmıştır. PPT, hem nükleer hem de ekstra-nükleer ER- α 'yı hedeflediği için araştırmacılar bu hızlı anoreksijenik etkinin en iyi membran ilişkili ER- α (mER- α) ve/veya sitozolik ER-

α 'nın başlattığı genomik olmayan sinyal yolları ile açıklanabileceğini ifade etmişlerdir (Butler ve ark., 2018).

Ancak, Pedram ve ark., (2009) transgenik bir fare modeli (Membrane Only Estrogen Receptor α : MOER) üretmişlerdir. Bu fareler sadece hücre membranı üzerinde bulunan ve hızlı sinyalleri başlatma kapasitesinde olan ER- α reseptörüne sahiptir. Sitozolde veya nükleusta ER- α aktivitesinin olmadığı ve ER- α knock-out farelere benzer olarak obez fenotipe sahip oldukları belirlenmiştir. Bu bulgular, mER- α tarafından başlatılan hızlı sinyallerin E2'nin anti-obezite etkilerine aracılık etmek için yeterli olmadığını göstermektedir (Pedram ve ark., 2009).

ER- α 'nın hızlı anoreksijenik etkilerine benzer olarak, sıçanlarda üçüncü veya dördüncü beyin ventrikülü içine nesfatin-1 enjekte edildiğinde, gece (nokturnal) beslenmesinde nesfatin-1 kaynaklı azalma, enjeksiyondan sonraki ilk saatte ortaya çıkmıştır (Oh-I ve ark., 2006; Stengel ve ark., 2009). Bu da östrojenin ER- α aracılı hızlı anoreksijenik etkilerinde özellikle hipotalamusun ARC nükleusunda yerleşik ve ER- α eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının rolü olabileceğini düşündürmüştür.

ER- α , Nesfatin-1 ve NPY

Nesfatin-1'in membran uyarılabilirliği üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada alınan elektrofizyolojik kayıtlarda, ARC nükleusda NPY nöronlarının hiperpolarize olduğu gözlenmiştir ve dolayısıyla nesfatin-1'in NPY nöronlarını inhibe ettiği düşünülmüştür (Price ve ark., 2009). Başka bir çalışma ile sıçanlarda nesfatin-1'in i.c.v olarak uygulanması ile ARC nükleusda NPY mRNA ekspresyonunun belirgin bir şekilde azaldığı gösterilerek bu bulgu desteklenmiştir (Wernecke ve ark., 2014).

NPY/AgRP nöronlarının östrus döngüsü boyunca beslenmedeki döngüsel değişiklikler için işlevsel olarak gerekli olduğu belirlenmiştir. NPY'nin hipotalamik ekspresyonunun östrus döngüsüne bağlı olarak değiştiği ve östrus sırasında plazmada östrojenin en yüksek seviyede olduğu sırada beslenmenin ve NPY ekspresyonunun en düşük seviyelerde olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışma merkezi E2 uygulamasının, NPY/AgRP nöronlarında açlıkla indüklenen c-Fos aktivasyonunu baskıladığını ve yeniden beslenme yanıtını körelttiğini de göstermiştir. Ancak fare hipotalamusundaki NPY/AgRP nöronlarında ER- α bulunmadığı belirlenmiştir, bu da E2'nin ER- α

eksprese eden presinaptik nöronlar yoluyla dolaylı olarak bu nöronları düzenleyebileceğini düşündürmektedir (Olofsson ve ark., 2009).

Çalışmamızda ARC nukleusdaki nesfatin-1 nöronlarının yaklaşık üçte birinin ER- α ifade ettiği belirlenmiştir. Nesfatin-1'in ARC nukleusdaki NPY mRNA ekspresyonu üzerindeki etkileri de göz önüne alındığında; nesfatin-1 nöronları NPY/AgRP nöronlarının aktivitesini E2 aracılı olarak düzenliyor olabilir.

ER- α , Nesfatin-1 ve Serotonin

E2 ve serotonin beyinde, besin alımını baskılamak için sinerjik etkiler sağlamak üzere etkileşime girer (Xu ve Lopez, 2018). Serotonin reseptörü olan 5-HT_{2C} agonisti metaklorofenilpiperazin (mCPP)'nin intraperitoneal ve i.c.v uygulamasının, östradiol ile muamele edilmiş, OVX sıçanlarda karanlık fazın ilk 1 saati içerisinde besin alımını azalttığı gösterilmiştir. Ancak mCPP'nin aynı dozu, E2 olmadan karanlık fazın ilk 1 saatinde besin alımını değiştirmemiştir. İ.c.v. mCPP uygulamasının 22. saatteki etkileri incelendiğinde, her iki grupta da besin alımı azalırken, E2 verilen grupta daha büyük ölçüde azaltmıştır (Rivera ve ark., 2012). Serotonin eksprese eden nöronlarda spesifik ER- α kaybının da farelerde E2'nin besin alımını azaltıcı etkilerini belirgin bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (Cao ve ark., 2014).

Nesfatin-1 ve serotonin sinerjik sistem arasındaki etkileşimin araştırıldığı bir çalışmada serotonin 5HT_{2C} reseptör agonisti mCPP'nin hipotalamusta Nucb2 ekspresyonunu arttırarak leptin-bağımsız bir şekilde anoreksiyi indüklediği belirlenmiştir. Bu etkiler, 5HT_{2C} reseptörü mutant farelerde gözlenmemiştir. Ayrıca 5HT_{2C} reseptörü mutant farelerde Nucb2 ve POMC ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Bu da 5HT_{2C} reseptörlerinin aktivasyonunun, Nucb2 ekspresyonunun düzenlenmesinde ve sonuçta, beslenme davranışında rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Nonogaki ve ark., 2008).

Serotonin reseptörlerini eksprese eden gen delesyonu ile oluşturulan mutant farelerde ER- α ile ko-lokalize olduğu ve aktivitesinin E2 ile düzenlendiği bilinen POMC nöronlarının ürünü olan POMC ekspresyonu da nesfatin-1 ekspresyonu gibi azalmıştır. Bu durum E2'nin ER- α aracılığıyla etkilediği hücreleri –olasılıkla

nesfatin-1 nöronlarını- serotonerjik sistem aracılığıyla da etkiliyor olabileceğini düşündürmüştür.

ARC Nukleusda Cinsiyetler Arası ER- α İmmünoreaktivite Farkı

Östrojen reseptörleri ER- α ve ER- β , nükleer reseptör süperailisinin bir üyesi olan transkripsiyon faktörleridir (Sharma ve Thakur, 2006). Gonadal steroidler, sıçan beyninde doğumdan sonraki 7–10 gün içerisinde ER seviyesini düzenler. Daha sonra ER konsantrasyonu hızla azalarak yetişkin seviyesine ulaşır (Kuppers ve Beyer, 1999). Yetişkin dişi sıçan beyninde, ER α mRNA'nın seviyesi farklı östrus evreleri sırasında değişmektedir; bu da gonadal steroidlerin erken gelişim evrelerinin dışında da ER seviyesinin kontrolünde yer aldığını düşündürmüştür (Shughrue ve ark., 1992).

Hipotalamusta ER- α ekspresyonu, östradiol ve progesteronun dolaşımdaki seviyelerinin bir sonucu olarak östrus döngüsü boyunca değişir (Simerly ve Young, 1991). Çeşitli hayvan ve insan çalışmaları, ER- α ekspresyonunun, türler arasında dolaşımdaki östrojen seviyeleri ile düzenlenebileceğini göstermiştir (Kruijver ve ark., 2002; Shughrue ve ark., 1992; Yamada ve ark., 2009). Hipotalamusta da ER- α 'nın mRNA ya da protein seviyesinde östradiol tarafından düzenlenmesi belirli bir beyin bölgesine özgü bir şekilde gerçekleşir. Genel olarak östradiolun, diğer birçok hormonun yaptıklarına benzer şekilde kendi reseptörlerini negatif yönde (downregulation) etkilediği varsayılır. Bununla uyumlu olarak, birkaç çalışma ovariektomi ile endojen E2'nin çoğunun ortadan kaldırılmasının dişi sıçanların hipotalamusunun VMH'ında ER α mRNA-pozitif nöronların sayısını arttırdığını göstermiştir (Lauber ve ark., 1990; Simerly ve Young, 1991). Özellikle, ER- α mRNA seviyeleri, E2 uygulanmasından sonra ARC nukleusda azalmıştır (Yamada ve ark., 2009).

Diğer bir çalışmada ise ER- α ekspresyonu, E2 verilen OVX sıçanlarda, E2 verilmeyen kontrol grubundaki OVX sıçanlardan daha yüksek bulunmuştur. VMH'deki ER- α miktarının, östrus döngüsü boyunca E2'nin artan konsantrasyonlarına yanıt olarak, proöstrus sırasında E2 maksimum seviyesine ulaşana kadar, giderek arttığı gösterilmiştir (Shughrue ve ark., 1992).

OVX sıçanlara, farmakolojik dozda (50 µg) ya da fizyolojik dozda (2 µg) olmak üzere iki farklı E2 dozu enjekte edilen bir çalışmada ARC nukleusunda ER-α ekspresyonu, östradiolun farmakolojik dozu verilen sıçanlarda önemli ölçüde azalmıştır ancak östradiolun fizyolojik dozu verilen sıçanlarda değişmemiştir. Bu nedenle, en azından farmakolojik seviyede E2 verilen sıçanlarda, hipotalamik ER-α mRNA ve protein seviyelerinin, ER içeren hücrelerde hormonal aktivasyona yanıt vermeyi sürdürmek için dolaşımdaki E2 konsantrasyonu ile ters orantılı olduğu, böylece aşırı östrojenik aktivasyonu önleyen homeostatik sistem sağladığını düşündürmüştür (Mahavongtrakul ve ark., 2013).

Tek başına progesteron verildiğinde (Malikov ve Madeira, 2013) ya da gebelik sırasında olduğu gibi progesteron seviyesi yüksek, östrojen seviyesi düşük olduğunda ER-α ifadesinin arttığı; progesteron varlığında östrojen verildiğinde veya doğum sonrasında östrojen seviyesi hızlı biçimde yükseldiği zaman ER-α ifadesinin azaldığı bilinmektedir (Steyn ve ark., 2007).

Genç yetişkin erkeklerde ve kadınlarda VMH'de ER-α immünoaktivitesini karşılaştıran bir çalışma, kadınlarda erkeklere göre daha güçlü ER-α immünoaktivitesi olduğunu göstermiştir (Kruijver ve ark., 2002). Farelerle yapılan bir çalışmada ise yetişkin dişi serebral korteksinde erkek farelere göre daha yüksek ER-α ve ER-β seviyeleri olduğu gösterilmiştir (Sharma ve Thakur, 2006). 1992 yılında Shughrue ve ark. in situ hibridizasyon tekniği kullanarak yetişkin erkek sıçanlarda yetişkin dişi OVX sıçanlardan daha az sayıda ER mRNA eksprese eden hücre olduğunu bildirmişlerdir. Erkeklerde metabolik regülasyonda yer alan önemli hipotalamik çekirdeklerde dişilere göre daha az miktarda ER-α ifade ediliyor gibi görünse de, hipotalamusta ER-α'nın gen ekspresyonu ve protein seviyeleri dolaşımdaki steroid hormon seviyelerindeki değişimlerle modifiye edilebilir (Sharma ve Thakur, 2006).

Çalışmamızda dişi ve erkek deneklerin arkuat nukleusunda ER-α immünoaktivitesini karşılaştırdığımızda; erkek deneklerde daha yüksek olduğunu belirledik. Bu çalışmada gösterdiğimiz ER-α ekspresyonu ile diğer çalışmalarda gösterilmiş olan ER-α mRNA ekspresyonu arasındaki uyumsuzluk, sentezlenen nihai protein ile transkripsiyon seviyeleri arasındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

Ayrıca çalışmada kullandığımız dişi deneklere ovariektomi işlemi yapılmamıştır ve östrus döngüsünün hangi aşamalarında oldukları bilinmemektedir. Bu nedenle dişi deneklerde E2 ve progesteron kaynaklı etkiler nedeniyle ER- α ekspresyonu azalmış olabilir.

Literatürde gonadal steroid hormonlarının değişimi ile östrojen reseptörlerinin düzenlenmesine ilişkin bulgularda tutarsızlık bulunmaktadır. Bu durum cinsiyetler arası ER- α immunoreaktivitesi farkının bölgesel kontrolünde östrojenin düzenleyici etkilerinin dışında östrojene bağlı olmayan farklı mekanizmaların da rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir.

Hipotalamusta ER- β dağılımı

Beyinde ER- α 'nın dağılımı iyi bir şekilde belirlenmiştir ancak ER- β 'nin yerleşim alanları daha değişkendir (McEwen, 2002).

Reseptörün karboksi- ucunun kısa bir parçasına karşılık gelecek şekilde üretilen, ticari olarak temin edilebilen ilk poliklonal antikör olan ER- β (no:310, Affinity BioReagents, Inc.), medial amigdala, paraventriküler nukleus ve preoptik alanda tutarlı bir şekilde güçlü bir nukleer işaretlenme paterni üretmiştir ve lateral septum hücrelerinde sitoplazmik/lif işaretlenmeleri oluşturmuştur. Ayrıca supraoptik nukleusta nukleer ER- β işaretlenmesi saptanmıştır, bu işaretlenmenin fiksasyon prosedüründe akrolein kullanımına da bağlı olabileceği düşünülmüştür. Aynı antikör, sentetik ER- β peptidi ile 1:1 oranında preabsorbe edilerek immün işaretleme yapıldığında, bu beyin bölgelerinde işaretlenme olmadığı belirlenmiştir. Fiksatif (akrolein ve paraformaldehit), hayvanın gonadal durumu (normal, gonadektomize) veya östrus döngüsünün evresi gibi faktörlerin beyinde ER- β proteininin saptanmasını etkilediği düşünülmektedir (Alves ve ark., 1998; X. Li, Schwartz, ve Rissman, 1997; McEwen ve Alves, 1999). Bu nedenle bazı beyin bölgelerinde, özellikle de PVN ve SON'da, ER- β içeren hücrelerin nörokimyasal fenotipleri ile ilgili çalışmaların sonuçları çelişmektedir (McEwen ve Alves, 1999).

Bu çalışmada gözlemlenen ER- β immünoreaktivitesi, yalnızca blocking serum kullanılarak yapılan kontrol boyaması herhangi bir nukleer işaretleme ile sonuçlanmadığı için spesifik görünmektedir.

Hipotalamus içinde tanımladığımız ER- β immünoaktivitesinin dağılımı, aynı antikor kullanılarak yapılan immün boyama ile nispeten uyumludur. Paraventriküler nukleusta güçlü bir işaretlenme gözlenirken, diğer alanlarda soluk sinyaller bulunmaktadır. Daha önce yapılan immün işaretlemelerde ve ER- β mRNA ekspresyonu çalışmalarında ovariektomize denekler kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda ise hiçbir işlem uygulanmamış normal sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanın gonadal durumu ER- β proteinin saptanmasını etkilediği için bu farklılık gözlenmiş olabilir.

Nesfatin-1 Nöronlarında ER- β Varlığı

ER- β , Nesfatin-1 ve Besin Alımı

Ohlsson ve ark. (2000), tarafından normal yemle beslenen erkek ve dişi farelerde ER- β eksikliğinin normal vücut ağırlığı ve yağ kütlesi ile sonuçlandığını gösterdikleri çalışma, östrojenin ER- β aracılı metabolik etkilerini gösteren ilk çalışmalardandır. Normal beslenen farelerde östrojenin ER- β aracılı herhangi bir metabolik etkisi yokmuş gibi görünse de yüksek yağlı besinle beslenen ER- β knock-out farelerde obezite geliştiği gösterilmiştir (Foryst-Ludwig ve ark., 2008).

12 ya da 20 hafta boyunca yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde, deri altı yağ dokusunda NUCB2 protein ekspresyonunda bir artış olduğu gösterilmiştir (Ramanjaneya ve ark., 2010). Oral gavaj yoluyla yüksek yağ içeren kapsüller verilen erkek farelerde serum NUCB2/nesfatin-1 seviyeleri artmıştır (Mohan ve ark., 2014). Nesfatin-1 peptidinin orta bölümünün periferik ve merkezi enjeksiyonu, yüksek yağlı besinle beslenen farelerde gıda alımını azaltmıştır (Prinz ve ark., 2015; Shimizu ve ark., 2009). ER- β ise yüksek yağlı besinlerle beslenme durumunda harcanan enerji miktarını arttırarak anti-obezite etkileri göstermektedir (Foryst-Ludwig ve ark., 2008; Yepuru ve ark., 2010).

ER- β , Nesfatin-1 ve Stres

Nesfatin-1'in anoreksijenik etkilerinin yanında stres yanıtlarıyla da ilişkili olduğu bilinmektedir. Anksiyete benzeri davranış ve stres yanıtını içeren PVN ve hipokampus gibi beyin alanlarında NUCB2/nesfatin-1 immünoaktivitesi saptanmıştır. Nesfatin-1'in anoreksijenik dozunun i.c.v uygulanmasının etkileri,

yükseltilmiş artı labirent (plus-maze) ve şartlı anksiyete testi kullanılarak araştırılmıştır ve nesfatin-1'in sıçanlarda anksiyete benzeri davranışlara neden olduğu gösterilmiştir (Merali ve ark., 2008).

Hareketsizlik stresine maruz kalmak; kortikosteron serum düzeylerini (Xu ve ark., 2010) ve PVN, SON, ARC, NTS, lokus seruleus (LC), raphe pallidus (RP) /rafe çekirdekleri ve ventrolateral medulla (VLM) gibi çeşitli beyin bölgelerindeki nesfatin-1 nöronlarında c-fos ekspresyonunu arttırmıştır (Miriam ve ark., 2010; Yoshida ve ark., 2010). Hareketsizlik stresi, PVN ve VLM'de Nucb2 mRNA ekspresyonunu arttırırken (Könczöl ve ark., 2010), i.c.v. nesfatin-1 uygulaması da PVN, SON, NTS, LC gibi beyin alanlarında c-fos ekspresyonunu arttırmıştır (Yoshida ve ark., 2010). Böylece, NUCB2 / nesfatin-1 sisteminin stres koşulları altında aktive olduğu ve merkezi NUCB2/nesfatin-1'in strese karşı otonomik, nöroendokrin ve davranışsal yanıtları düzenlemede rol oynadığı sonucuna varılmıştır (Dore ve ark., 2017).

Farmakolojik çalışmalar (Lund ve ark., 2005) ile knock-out (Imwalle ve ark., 2005; Krezel ve ark., 2001) çalışmaları, E2'nin kaygı ve korku giderici özelliklerinin hipotalamusun paraventriküler nukleusunda bulunan nöronlar üzerindeki ER- β aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir (Rivera ve Stincic, 2018). Dişi ER- β knock-out farelerin, artan anksiyete ve azalmış kognitif fonksiyon gösterdiği belirlenmiştir (Krezel ve ark., 2001). Korku ve endişe yanıtlarıyla ilişkili olan amigdala ve hipotalamusun paraventriküler nuklesunda ER- β 'nin knock-out olması, östradiolün bu beyin bölgeleri üzerinde etki gösterememesine ve bunun bir sonucu olarak da anksiyeteye sebep olabilir.

Çalışmamızda özellikle paraventriküler çekirdeğin medial parvoselüler kısmında ER- β ve nesfatin-1'in birlikte bulunma oranı %50'den fazladır. İki molekül de stres yanıtlarının düzenlenmesinde rol almasına rağmen, etkilerini birbirlerine zıt yönde gösteren moleküllerdir. Bu nedenle östrojen varlığında stres yanıtlarının düzenlenmesi sırasında ER- β , nesfatin-1 ekspresyonunu baskılayabilir.

Nesfatin-1 / Östrojen

Çalışmalar gonadal steroidlerin endojen nesfatin-1'i düzenlediğini göstermektedir (Bertucci ve ark., 2016; Chung ve ark., 2015).

Chung ve ark., (2015) östrojen/östradiol (E2) ve progesteronun (P4) hipofiz bezinde nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Ovariectomize dişi farelere P4 ve E2 ile enjekte edilmiştir. Ovariectomi sonrası hormon verilmeyen grupta hipofiz bezinde NUCB2 mRNA ekspresyonunun azaldığı, P4 ve E2 verilen gruplarda ise belirgin bir şekilde arttığı bildirilmiştir. Ayrıca hipotalamusun da P4 ve E2 enjeksiyonuna cevaben dolaylı olarak hipofiz bezindeki NUCB2 mRNA ekspresyonunu düzenleyebileceği düşünülmüştür. Bu nedenle hipofiz bezinde E2 ve P4'ün direk etkilerini gözlemlemek için hipofiz bezi kültüründe NUCB2 mRNA ekspresyonu incelenmiştir. E2'nin NUCB2 mRNA ekspresyonunu arttırdığı; P4'ün tek başına ve E2 ile birlikte uygulanmasının ise NUCB2 mRNA ekspresyonunu düşürdüğü gösterilmiştir. Eş zamanlı uygulanan P4 ve E2'nin NUCB2 mRNA ekspresyonunu azaltması, araştırmacılara P4'ün inhibe edici etkilerinin E2'nin uyarıcı etkilerinden daha güçlü olduğunu düşündürmüştür.

Menstrüel siklus boyunca E2 ve P4 seviyelerindeki değişimlerin iştah kontrolünü ve yeme davranışını etkilediği bilinmektedir. Ovulasyon döneminde azalan besin alımı E2'nin iştahı bastırıcı etkileriyle ilişkiliyken, luteal fazdaki iştah artışı östrojenik aktivite üzerindeki P4'ün inhibe edici etkisine bağlıdır (Chung ve ark., 2015).

2016 yılında dişi japon balıklarıyla yapılan bir çalışmada da E2 ve testosteronun endojen nesfatin-1 üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bunun için E2 ve testosteron içeren silikon kapsüller ile hiçbir şey içermeyen kapsüller intraperitoneal olarak yerleştirilmiştir. Hem E2 hem de testosteronun beyindeki NUCB2 mRNA ekspresyonunu arttırdığı, ancak bu steroidlerin bağırsak ve hipofizde NUCB2 mRNA ekspresyonu üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan dolaşımda E2 kaynaklı endojen nesfatin-1 seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Bağırsak ve hipofizde NUCB2 mRNA ekspresyonu azalırken, dolaşımdaki nesfatin-1 seviyesinin yükselmesi araştırmacılara nesfatin-1'in bir negatif geri bildirim (feedback) mekanizmasını uyararak daha fazla nesfatin-1 salgılanmasını önlemek için ilk adım olarak sentez mekanizmasının, yani gen ekspresyonunun baskılanmasına neden olduğunu düşündürmüştür (Bertucci ve ark., 2016).

Östrojen ile nesfatin-1 arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sınırlıdır. Ancak bu iki çalışma da östrojenin nesfatin-1 ekspresyonu üzerinde düzenleyici bir

etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu tez çalışmasının sonuçları da bu hipotezi desteklemektedir.

Arkuat nukleusta bulunan POMC nöronları ER- α ile ko-lokalizedir. Yapılan çalışmalar POMC nöronlarının ortalama %20-30'sinin ER- α eksprese ettiğini göstermektedir (Miller ve ark., 1995; De Souza ve ark., 2011; Xu ve ark., 2011; Xu ve Lopez, 2018). POMC mRNA ekspresyonu östrus siklusu boyunca dalgalanmalar gösterir ve proöstrus evresinde yükselir. Ovariektemi, POMC mRNA seviyelerini E2 uygulaması ile geri döndürülebilir şekilde düşürür (Martínez De Morentin ve ark., 2014; Pelletier ve ark., 2007). Ayrıca ER- α knock-out farelerde daha düşük POMC ekspresyonu gösterilmiştir (Hirosawa ve ark., 2008)

Çalışmamızda benzer şekilde ARC nukleusta yerleşik nesfatin-1 nöronlarının da ER- α ile ko-lokalize olduğunu gösterdik. ARC nukleusta nesfatin-1 nöronlarının ortalama %35'inin ER- α eksprese ettiğini belirledik.

Sunulan tez çalışması ile, nesfatin-1 nöronlarında ER- α ve ER- β varlığının literatürde ilk kez gösterilmiş olması, nesfatin-1 nöronlarının hipotalamusa ulaşan östrojenik sinyalleri algılayıp yanıt oluşturabileceğine işaret etmektedir. Nesfatin-1 nöronlarının östrojen sinyali ve seviyelerine verdiği fizyolojik tepkilerin ve östrojene bağlı besin alımı üzerindeki düzenleyici etkilerinin anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara gerek olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Acosta-Martinez M, Horton T, Levine JE (2007). Estrogen receptors in neuropeptide Y neurons: at the crossroads of feeding and reproduction. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 18: 48–50.

Ainslie DA, Morris MJ, Wittert G et al (2001). Estrogen deficiency causes central leptin insensitivity and increased hypothalamic neuropeptide Y. *International Journal of Obesity* 25: 1680–1688.

Alexander A, Irving AJ, Harvey J (2017). Emerging roles for the novel estrogen-sensing receptor GPER1 in the CNS. *Neuropharmacology* 113: 652–660.

Alves SE, Lopez V, McEwen BS et al (1998). Differential colocalization of estrogen receptor beta (ERbeta) with oxytocin and vasopressin in the paraventricular and supraoptic nuclei of the female rat brain: an immunocytochemical study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95: 3281–6.

Arnold M, Mura A, Langhans W et al. (2006). Gut Vagal Afferents Are Not Necessary for the Eating-Stimulatory Effect of Intraperitoneally Injected Ghrelin in the Rat. *Journal of Neuroscience* 26: 11052–11060.

Asarian L, Geary N (2013). Sex differences in the physiology of eating. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 305: R1215–R1267.

Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M et al (2010). Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *NeuroReport*, 21: 1008–1011.

Barnikol-Watanabe S, Groß NA, Götz H et al (1994). Human Protein NEFA, a Novel DNA Binding / EF-Hand / Leucine Zipper Protein. *Molecular Cloning and Sequence Analysis of the cDNA, Isolation and Characterization of the Protein. Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 375: 497–512.

Barros RPA, Gabbi C, Morani A et al (2009). Participation of ER α and ER β in glucose homeostasis in skeletal muscle and white adipose tissue. *American Journal of Physiology*, 297: 124–133.

Barton M, Prossnitz ER (2015). Emerging roles of GPER in diabetes and atherosclerosis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 26: 185–192.

Beato M, Herrlich P, Schütz G (1995). Steroid hormone receptors: Many Actors in search of a plot. *Cell*, 83: 851–857.

- Beaulieu K, Hopkins M, Blundell J et al (2018). Homeostatic and non-homeostatic appetite control along the spectrum of physical activity levels: An updated perspective. *Physiology and Behavior*, 192: 23–29.
- Bertucci JJ, Blanco AM, Canosa LF et al (2016). Estradiol and testosterone modulate the tissue-specific expression of ghrelin, ghs-r, goat and nucb2 in goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 228: 17–23.
- Bi S, Kim YJ, Zheng F (2012). Dorsomedial hypothalamic NPY and energy balance control. *Neuropeptides*, 46: 309–314.
- Blevins JE, Eakin TJ, Murphy JA et al (2003). Oxytocin innervation of caudal brainstem nuclei activated by cholecystokinin. *Brain Research*, 993(1–2): 30–41.
- Bonavera JJ, Dube MG, Kalra PS et al (1994). Anorectic effects of estrogen may be mediated by decreased neuropeptide-Y release in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology*, 134: 2367-2370.
- Brailoiu E, Dun SL, Brailoiu GC et al (2007). Distribution and characterization of estrogen receptor G protein-coupled receptor 30 in the rat central nervous system. *Journal of Endocrinology*, 193: 311–321.
- Braunstein GD (2011). “The Hypothalamus.” *The Pituitary*. 3rd Edition. Academic Press, pp:303-341.
- Brown LM, Clegg DJ (2010). Central effects of estradiol in the regulation of food intake, body weight, and adiposity. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 122: 65–73.
- Bryzgalova G, Gao H, Ahren B et al (2006). Evidence that oestrogen receptor-alpha plays an important role in the regulation of glucose homeostasis in mice: Insulin sensitivity in the liver. *Diabetologia*, 49: 588–597.
- Butera PC, Beikirch RJ (1989). Central implants of diluted estradiol: independent effects on ingestive and reproductive behaviors of ovariectomized rats. *Brain Research*, 491: 266–273.
- Butler MJ, Hildebrandt RP, Eckel LA (2018). Selective activation of estrogen receptors, ER α and GPER-1, rapidly decreases food intake in female rats. *Hormones and Behavior*, 103: 54–61.
- Cao X, Xu P, Oyola MG et al (2014). Estrogens stimulate serotonin neurons to inhibit binge-like eating in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 124: 4351–4362.
- Chandra R, Liddle RA (2007). Cholecystokinin. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 14: 63-67.

- Chung Y, Kim J, Im E et al (2015). Progesterone and 17 β -estradiol regulate expression of nesfatin-1/NUCB2 in mouse pituitary gland. *Peptides*, 63: 4–9.
- Clegg DJ, Brown LM, Zigman JM et al (2007). Estradiol-dependent decrease in the orexigenic potency of ghrelin in female rats. *Diabetes*, 56: 1051–1058.
- Cone RD (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neuroscience*, 8: 571–578.
- Crespo CS, Cachero AP, Jiménez LP et al (2014). Peptides and food intake. *Frontiers in Endocrinology*, 5: 1–13.
- Davis KE, Carstens EJ, Irani BG et al (2014). Sexually dimorphic role of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) in modulating energy homeostasis. *Hormones and Behavior*, 66: 196–207.
- De Souza FSJ, Nasif S, López-Leal R et al (2011). The estrogen receptor α colocalizes with proopiomelanocortin in hypothalamic neurons and binds to a conserved motif present in the neuron-specific enhancer nPE2. *European Journal of Pharmacology*, 660: 181–187.
- Dore R, Levata L, Lehnert H et al (2017). Nesfatin-1: Functions and physiology of a novel regulatory peptide. *Journal of Endocrinology*, 232: R45–R65.
- Dagher, A. (2010). The neurobiology of appetite: hunger as addiction. Editor: Dubé L, *Obesity Prevention*. Academic Press, pp: 15-22.
- Eckel LA, Geary N, Medical W et al (2002). Estradiol treatment increases feeding-induced c-Fos expression in the brains of ovariectomized rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R738–R746
- Elmquist JK, Elias CF, Saper CB (1999). From lesions to leptin: Hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*, 22: 221–232.
- Faulds MH, Zhao C, Dahlman-Wright K et al (2012). The diversity of sex steroid action: Regulation of metabolism by estrogen signaling. *Journal of Endocrinology*, 212: 3–12.
- Flier JS (2004). Obesity Wars: Molecular Progress Confronts an Expanding Epidemic. *Cell*, 116: 337–350.
- Foryst-Ludwig A, Clemenz M, Hohmann S et al (2008). Metabolic actions of estrogen receptor beta (ER β) are mediated by a negative cross-talk with PPAR γ . *PLoS Genetics*, 4: e1000108
- Foryst-Ludwig A, Kintscher U (2010). Metabolic impact of estrogen signalling through ER α and ER β . *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 122: 74-81.

Frank A, Brown LM, Clegg DJ (2014). The role of hypothalamic estrogen receptors in metabolic regulation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35: 550–557.

Frayn KN (2010). *Metabolic regulation: A Human Perspective*. 3rd Edition, Wiley-Blackwell Press, pp:329-350

Fu XD, Simoncini T (2008). Extra-nuclear signaling of estrogen receptors. *IUBMB Life*, 60: 502–510.

Fungfuang W, Terada M, Komatsu N et al (2013). Effects of estrogen on food intake, serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue of female rats. *Laboratory Animal Research*, 29: 168.

Garcia-Galiano D, Navarro VM, Roa J et al (2010). The Anorexigenic Neuropeptide, Nesfatin-1, Is Indispensable for Normal Puberty Onset in the Female Rat. *Journal of Neuroscience*, 30: 7783–7792

Gaudet HM, Cheng SB, Christensen EM et al (2015). The G-protein coupled estrogen receptor, GPER: The inside and inside-out story. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 418: 207–219.

Geary N (2004). Endocrine controls of eating: CCK, leptin, and ghrelin. *Physiology and Behavior*, 81: 719–733.

Geary N, Asarian L, Korach KS et al (2001). Deficits in E2-Dependent Control of Feeding, Weight Gain, and Cholecystokinin Satiation in ER- α Null Mice. *Endocrinology*, 142: 4751–4757.

Goebel M, Stengel A, Wang L et al (2011). Central nesfatin-1 reduces the nocturnal food intake in mice by reducing meal size and increasing inter-meal intervals. *Peptides*, 32: 36–43.

Gotoh K, Masaki T, Chiba S et al (2013). Nesfatin-1, corticotropin-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone, and neuronal histamine interact in the hypothalamus to regulate feeding behavior. *Journal of Neurochemistry*, 124: 90–99.

Grimberg A, Kutikov JK (2017). *Hypothalamus. Fetal and Neonatal Physiology 5th Edition*, Elsevier Press, Philadelphia, pp:1451-1461.

Hadjimarkou MM, Vasudevan N (2018). GPER1/GPR30 in the brain: Crosstalk with classical estrogen receptors and implications for behavior. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 176: 57–64.

Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA et al (2000). Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97: 12729–12734.

Heldring N, Pike A, Andersson S et al (2007). Estrogen Receptors : How Do They Signal and What Are Their Targets. *Physiology Review*, 87: 905–931.

Hirosawa M, Minata M, Harada KH et al (2008). Ablation of estrogen receptor alpha (ER α) prevents upregulation of POMC by leptin and insulin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371: 320–323.

Horvath TL (2005). The hardship of obesity: A soft-wired hypothalamus. *Nature Neuroscience*, 8: 561–565.

Imwalle DB, Gustafsson JÅ, Rissman EF (2005). Lack of functional estrogen receptor β influences anxiety behavior and serotonin content in female mice. *Physiology and Behavior*, 84: 157–163.

Ishida E, Hashimoto K, Shimizu H et al (2012). Nesfatin-1 Induces the Phosphorylation Levels of cAMP Response Element-Binding Protein for Intracellular Signaling in a Neural Cell Line. *PLoS ONE*, 7: 1–8.

Jia M, Dahlman-Wright K, Gustafsson JÅ (2015). Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 29: 557–568.

Jones ME, Thorburn AW, Britt KL et al (2000). Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 12735–12740.

Kalra SP, Kalra PS (2010) Neuroendocrine control of energy homeostasis: update on new insights. Editor: Martini L, Pfaff DW *Neuroendocrinology: the Normal Neuroendocrine System*. Progress in Brain Research. Vol:181, Elsevier Press, New York, pp:17-33

Khan D, Ansar Ahmed S (2016). The immune system is a natural target for estrogen action: Opposing effects of estrogen in two prototypical autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 6: 1–8.

Kim JH, Meyers MS, Khuder SS et al (2014). Tissue-selective estrogen complexes with bazedoxifene prevent metabolic dysfunction in female mice. *Molecular Metabolism*, 3: 177–190.

Kim JS, Rizwan MZ, Clegg DJ et al (2016). Leptin signaling is not required for anorexigenic estradiol effects in female mice. *Endocrinology*, 157(5): 1991–2001.

Kojima M, Kangawa K (2005). Ghrelin : Structure and Function. *Physiol Rev*, 85: 495–522.

Könczöl K, Bodnár I, Zelena D et al (2010). Nesfatin-1/NUCB2 may participate in the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats. *Neurochemistry International*, 57: 189–197.

- Könczöl K, Pintér O, Ferenczi S et al (2012). Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *International Journal of Obesity*, 36: 1514–1521.
- Krezel W, Dupont S, Krust A et al (2001). Increased anxiety and synaptic plasticity in estrogen receptor beta -deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 12278–82.
- Kruijver FPM, Balesar R, Espila AM et al (2002). Estrogen receptor- α distribution in the human hypothalamus in relation to sex and endocrine status. *The Journal of Comparative Neurology*, 454: 115–139.
- Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M et al (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93: 5925–30.
- Kuppers E, Beyer C (1999). Expression of estrogen receptor- α and beta mRNA in the developing and adult mouse striatum. *Neuroscience Letters*, 276: 95–98.
- Lauber AH, Romano GJ, Mobbs CV et al (1990). Estradiol Regulation of Estrogen Receptor Messenger Ribonucleic Acid in Rat Mediobasal Hypothalamus: An in situ Hybridization Study. *Journal of neuroendocrinology*, 2: 605–11.
- Lee M, Wardlaw SL (2007). The central melanocortin system and the regulation of energy balance. *Front Biosci*, 12: 3994–4010.
- Li J, Rao D, Gibbs RB (2018). Effects of Cholinergic Lesions and Cholinesterase Inhibitors on Aromatase and Estrogen Receptor Expression in Different Regions of the Rat Brain. *Neuroscience*, 384: 203–213.
- Li X, Schwartz PE, Rissman EF (1997). Distribution of estrogen receptor-beta-like immunoreactivity in rat forebrain. *Neuroendocrinology*, 66: 63–67.
- Liang YQ, Akishita M, Kim S et al (2002). Estrogen receptor β is involved in the anorectic action of estrogen. *International Journal of Obesity*, 26: 1103–1109.
- Liu X, Shi H (2015). Regulation of Estrogen Receptor Expression in the Hypothalamus by Sex Steroids: Implication in the Regulation of Energy Homeostasis. *International Journal of Endocrinology*, 2015:949085.
- López de Alda, MJ et al (2002). Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry. *Analyst*, 127: 1299–1304.
- López-Ferreras L, Richard JE, Anderberg RH et al (2017). Ghrelin's control of food reward and body weight in the lateral hypothalamic area is sexually dimorphic. *Physiology and Behavior*, 176: 40–49.

- López M, Tena-Sempere M (2015). Estrogens and the control of energy homeostasis: A brain perspective. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 26: 411–421.
- López M, Tena-Sempere M (2017). Estradiol effects on hypothalamic AMPK and BAT thermogenesis: A gateway for obesity treatment? *Pharmacology and Therapeutics*, 178: 109–122.
- Lund TD, Rovis T, Chung WCJ et al (2005). Novel actions of estrogen receptor- α on anxiety-related behaviors. *Endocrinology*, 146: 797–807.
- Maejima Y, Sedbazar U, Suyama S et al (2009). Nesfatin-1-Regulated Oxytocinergic Signaling in the Paraventricular Nucleus Causes Anorexia through a Leptin-Independent Melanocortin Pathway. *Cell Metabolism*, 10: 355–365.
- Mahavongtrakul M, Kanjiya MP, Maciel M et al (2013). Estradiol dose-dependent regulation of membrane estrogen receptor- α , metabotropic glutamate receptor-1a, and their complexes in the arcuate nucleus of the hypothalamus in female rats. *Endocrinology*, 154: 3251–3260.
- Malikov V, Madeira MD (2013). Regulation of ER α protein expression by 17 β -estradiol in cultured neurons of hypothalamic ventromedial nucleus. *Neurochemical Research*, 38: 82–89.
- Manavathi B, Kumar R (2006). Steering estrogen signals from the plasma membrane to the nucleus: Two sides of the coin. *Journal of Cellular Physiology*, 207: 594–604.
- Martínez De Morentin PB, González-García I, Martins L et al (2014). Estradiol regulates brown adipose tissue thermogenesis via hypothalamic AMPK. *Cell Metabolism*, 20: 41–53.
- Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL (2013). The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews*, 34(3): 309–338.
- McEwen B (2002). Estrogen actions throughout the brain. *Recent progress in hormone research*, 57: 357–384.
- McEwen BS, Alves SE (1999). Estrogen actions in the central nervous system. *Endocr Rev*, 20: 279–307.
- Merali Z, Cayer C, Kent P et al (2008). Nesfatin-1 increases anxiety- and fear-related behaviors in the rat. *Psychopharmacology*, 201: 115–123.
- Mercer RE, Chee MJS, Colmers WF (2011). The role of NPY in hypothalamic mediated food intake. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32: 398-415.
- Messina MM, Boersma G, Overton JM et al (2006). Estradiol decreases the orexigenic effect of melanin-concentrating hormone in ovariectomized rats. *Physiology and Behavior*, 88: 523–528.

- Miller MM, Tousignant P, Yang U et al (1995). Effects of age and long-term ovariectomy on the estrogen-receptor containing subpopulations of beta-endorphin-immunoreactive neurons in the arcuate nucleus of female C57BL/6J mice. *Neuroendocrinology*, 61: 542–551.
- Miriam G, Andreas S, Lixin W et al (2010). Restraint stress activates nesfatin-1-immunoreactive brain nuclei in rats, 3: 14–16.
- Mobbs CV, Moreno CL, Poplawski M (2013). Metabolic mystery: Aging, obesity, diabetes, and the ventromedial hypothalamus. *Trends in Endocrinology and Metabolism, Elsevier Current Trends*, 24: 488-494.
- Mohan H, Ramesh N, Mortazavi S et al (2014). Nutrients differentially regulate nucleobindin-2/nesfatin-1 in vitro in cultured stomach ghrelinoma (MGN3-1) cells and in vivo in male mice. *PLoS ONE*, 9: 1–28.
- Morton GJ, Mystkowski P, Matsumoto AM et al (2004). Increased hypothalamic melanin concentrating hormone gene expression during energy restriction involves a melanocortin-independent, estrogen-sensitive mechanism. *Peptides*, 25(4): 667–674.
- Murray JF, Baker BI, Levy A et al (2000). The influence of gonadal steroids on pre-pro melanin-concentrating hormone mRNA in female rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 12: 53–59.
- Muschamp JW, Hull EM (2007). Melanin concentrating hormone and estrogen receptor- α are coextensive but not coexpressed in cells of male rat hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 427: 123–126.
- Mystkowski P, Schwartz MW (2000). Gonadal steroids and energy homeostasis in the leptin era. *Nutrition*, 16: 937–946.
- Nilsson S, Mäkelä S, Treuter E et al (2001). Mechanisms of Estrogen Action. *Physiological Reviews*, 81: 1535–1565
- Nonogaki K, Ohba Y, Sumii M et al (2008). Serotonin systems upregulate the expression of hypothalamic NUCB2 via 5-HT_{2C} receptors and induce anorexia via a leptin-independent pathway in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372: 186–190.
- Norman AW, Henry HL (2015). *Hormones*. 3rd Edition, Academic Press, pp: 55–79.
- Oh-I S, Shimizu H, Satoh T et al (2006). Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*, 443: 709–712.
- Ohlsson C, Hellberg N, Parini P et al (2000). Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor- α -deficient male mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 278: 640–645.

Okura T, Koda M, Ando F et al (2003). Association of polymorphisms in the estrogen receptor α gene with body fat distribution. *International Journal of Obesity*, 27: 1020–1027.

Olofsson LE, Pierce AA, Xu AW (2009). Functional requirement of AgRP and NPY neurons in ovarian cycle-dependent regulation of food intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 15932–15937.

Österlund M, Kuiper GG, Gustafsson JÅ et al (1998). Differential distribution and regulation of estrogen receptor- α and - β mRNA within the female rat brain. *Molecular Brain Research*, 54: 175–180.

Palmer BF, Clegg DJ (2015). The sexual dimorphism of obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology* 402: 113-119

Palmer K, Gray JM (1986). Central vs. peripheral effects of estrogen on food intake and lipoprotein lipase activity in ovariectomized rats. *Physiology and Behavior*, 37: 187–189.

Parker JA, Bloom SR (2012). Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite. *Neuropharmacology*, 63: 18–30.

Pedram A, Razandi M, Kim JK et al (2009). Developmental phenotype of a membrane only estrogen receptor α (MOER) mouse. *Journal of Biological Chemistry*, 284: 3488–3495.

Pelkman CL, Chow M, Heinbach RA et al (2001). Short-term effects of a progestational contraceptive drug on food intake, resting energy expenditure, and body weight in young women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 19–26.

Pelletier G, Li S, Luu-The V et al (2007). Oestrogenic regulation of pro-opiomelanocortin, neuropeptide Y and corticotrophin-releasing hormone mRNAs in mouse hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*, 19: 426–431.

Poddar M, Chetty Y, Chetty VT (2017). How does obesity affect the endocrine system? A narrative review. *Clinical obesity*, 7: 136–144.

Pratt JS, Blum A, Vishnuvardhan D et al (2004). Cleavage-site mutagenesis alters post-translation processing of Pro-CCK in AtT-20 cells. *Biochemistry*, 43: 9502–9511.

Price CJ, Samson WK, Ferguson AV (2009) Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain research*, 1230: 99-106.

Prinz P, Teuffel P, Lembke V et al (2015). Nesfatin-130-59 injected intracerebroventricularly differentially affects food intake microstructure in rats under normal weight and diet-induced obese conditions. *Frontiers in Neuroscience*, 9: 1–12.

- Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE et al (2010). Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: A novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology*, 151: 3169–3180.
- Rexford SA, Daniel A (2009). Brain regulation of appetite and satiety. *National Institutes of Health*, 37: 811–823.
- Ribas V, Nguyen MTA, Henstridge DC et al (2010). Impaired oxidative metabolism and inflammation are associated with insulin resistance in ER α -deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298: 304–319.
- Rivera HM, Santollo J, Nikonova LV et al (2012). Estradiol increases the anorexia associated with increased 5-HT $_2$ C receptor activation in ovariectomized rats. *Physiology and Behavior*, 105: 188–194.
- Rivera HM, Stincic TL (2018). Estradiol and the control of feeding behavior. *Steroids*, 133: 44–52.
- Saito K, He Y, Yang Y et al (2016). PI3K in the ventromedial hypothalamic nucleus mediates estrogenic actions on energy expenditure in female mice. *Scientific Reports*, 6: 1–10.
- Sam AH, Troke RC, Tan TM et al (2012). The role of the gut/brain axis in modulating food intake. *Neuropharmacology*, 63: 46–56.
- Schwartz MW, Woods SC, Porte D et al (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404: 661–671.
- Sharma G, Mauvais-Jarvis F, Prossnitz ER (2018). Roles of G protein-coupled estrogen receptor GPER in metabolic regulation. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 176: 31–37.
- Sharma PK, Thakur MK (2006). Expression of estrogen receptor (ER) α and β in mouse cerebral cortex: Effect of age, sex and gonadal steroids. *Neurobiology of Aging*, 27: 880–887.
- Sherwood, L. (2011). *Fundamentals of human physiology*. 4th Edition, Brooks/Cole Cengage Learning, Canada, pp:114
- Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K et al (2009). Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: The leptin-independent mechanism. *Endocrinology*, 150: 662–671.
- Shughrue PJ, Bushnell CD, Dorsa M (1992). Estrogen Receptor Messenger Ribonucleic Acid in Female Rat Brain during the Estrous Cycle: A Comparison Females and Intact Males. *Endocrinology*, 131: 381-388.

- Shughrue PJ, Merchenthaler I (2001). Distribution of estrogen receptor beta immunoreactivity in the rat central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*, 436: 64–81.
- Simerly RB, Young BJ (1991). Regulation of estrogen receptor messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus by sex steroid hormones. *Mol.Endocrinol*, 5: 424–432.
- Simpson ER, Misso M, Hewitt KN et al (2005). Estrogen - The good, the bad, and the unexpected. *Endocrine Reviews*, 26: 322–330.
- Simpson KA, Martin NM, Bloom SR (2009). Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, 53: 120–128.
- Sohn JW (2015). Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB Reports*, 48: 229–233.
- Spinazzi R, Andreis PG, Rossi GP et al (2006). Orexins in the Regulation of the Hypothalamic- Pituitary-Adrenal Axis. *Clinical and Experimental Medicine*, 58: 46–57.
- Stellar E (1954). The physiology of motivation. *Psychological Review*, 61(1): 5–22.
- Stengel A, Goebel M, Wang L et al (2009). Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: Differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology*, 150: 4911–4919.
- Stengel A, Goebel M, Yakubov I et al (2009). Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology*, 150: 232–238.
- Stengel A, Taché Y (2010). Nesfatin-1 - Role as possible new potent regulator of food intake. *Regulatory Peptides*, 163: 18–23.
- Steyn FJ, Anderson GM, Grattan DR (2007). Expression of ovarian steroid hormone receptors in tuberoinfundibular dopaminergic neurones during pregnancy and lactation. *Journal of Neuroendocrinology*, 19: 788–793.
- Stubbins RE, Holcomb VB, Hong J et al (2012). Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *European Journal of Nutrition*, 51: 861–870.
- Sun X, Tang M, Zhang J et al (2006). Excitatory effects of gastric electrical stimulation on gastric distension responsive neurons in ventromedial hypothalamus (VMH) in rats. *Neuroscience Research*, 55: 451–457.

- Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V (1982). Neuropeptide Y - A novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, 296: 659-660.
- Valencak TG, Osterrieder A, Schulz TJ (2017). Sex matters: The effects of biological sex on adipose tissue biology and energy metabolism. *Redox Biology*, 12: 806–813.
- Wager-Srdar SA, Gannon M, Levine AS (1987). The effect of cholecystokinin on food intake in gonadectomized and intact rats: The influence of sex hormones. *Physiology and Behavior*, 40: 25–28.
- Wang A, Luo J, Moore W et al (2016). GPR30 regulates diet-induced adiposity in female mice and adipogenesis in vitro. *Scientific Reports*, 6: 1–12.
- Waterson MJ, Horvath TL (2015). Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. *Cell Metabolism*, 22: 962–970.
- Wei Y, Li J, Wang H et al (2018). NUCB2/nesfatin-1: Expression and functions in the regulation of emotion and stress. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 81: 221–227.
- Wernecke K, Lamprecht I, Jöhren O et al (2014). Nesfatin-1 increases energy expenditure and reduces food intake in rats. *Obesity*, 22: 1662–1668.
- WHO (2016). World Health Organization obesity and overweight fact sheet.
- Woods SC, Benoit SC, Clegg DJ et al (2004). Regulation of energy homeostasis by peripheral signals. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 18: 497–515.
- Xu Y (2017). Brain Estrogens and Feeding Behavior. Editor: Mauvais-Jarvis F, *Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity*. Vol:1043, Springer International Publishing, pp: 337–357.
- Xu Y, Lopez M (2018). Central regulation of energy metabolism by estrogens. *Molecular Metabolism*, 15: 104.
- Xu Y, Nedungadi TP, Zhu L et al (2011). Distinct hypothalamic neurons mediate estrogenic effects on energy homeostasis and reproduction. *Cell Metabolism*, 14: 453–465.
- Xu Y, O'Malley BW, Elmquist JK (2017). Brain nuclear receptors and body weight regulation. *The Journal of Clinical Investigation*, 127: 1172–1180.
- Yamada S, Noguchi D, Ito H et al (2009). Sex and regional differences in decrease of estrogen receptor α -immunoreactive cells by estrogen in rat hypothalamus and midbrain. *Neuroscience Letters*, 463: 135–139.

Yang M, Zhang Z, Wang C et al (2012). Nesfatin-1 action in the brain increases insulin sensitivity through Akt/AMPK/TORC2 pathway in diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 61: 1959–1968.

Yepuru M, Eswaraka J, Kearbey JD et al (2010). Estrogen receptor- α -selective ligands alleviate high-fat diet- and ovariectomy-induced obesity in mice. *Journal of Biological Chemistry*, 285: 31292–31303.

Yoshida N, Maejima Y, Sedbazar U et al (2010). Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Aging*, 2: 775–784.

Yosten GLC, Samson WK (2009). Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297: R330–R336.

Yosten GLC, Samson WK (2010). The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298: R1642-1647.

Zhang N, Yang L, Guo L et al (2018). Activation of Dorsomedial Hypothalamic Neurons Promotes Physical Activity and Decreases Food Intake and Body Weight in Zucker Fatty Rats. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11: 1–12.

Zhu L, Xu P, Cao X et al (2015). The ER α -PI3K cascade in proopiomelanocortin progenitor neurons regulates feeding and glucose balance in female mice. *Endocrinology*, 156: 4474–4491.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

- 3V:** 3. ventrikül
aa: Aminoasit
ABC: Avidin biyotin kompleksi
AF: Aktivasyon fonksiyonu
AgRP: Agouti geni ilişkili peptit
AHiAL: Amigdala hipokampal anterolateral alanı
AHN: Anterior hipotalamik nukleus
ARC: Arkuat Nukleus
ARKO: Aromataz knock-out
BDNF: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BERKO: ER- β knock-out
Ca²⁺: Kalsiyum
CamKII: Kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinazlar
CART: Kokain ve amfetamin ilişkili transkript
CCK: Kolesistokinin
CREB: cAMP yanıt elementi bağlayıcı proteinler
CRF: Kortikotropin salgılatıcı faktör
DAB: Diaminobenzidin
DBD: DNA Binding Domain
DMN: Dorsomedial Nukleus
DPN: Diarylpropionitril
E1: Östron
E2: Östradiol
E3: Östriol
ER- α : Östrojen reseptör alfa
ERE: Estrogen response element, östrojen yanıt elementi
ERKO: ER- α knock-out
ER- β : Östrojen reseptör beta
ESR1: Estrogen Receptor 1, östrojen reseptörü 1
GF: Büyüme faktörleri
GHSR: Growth Hormone Secretagogue Receptor, Büyüme hormonu stimüle edici reseptör
GLP-1: Glukagon-benzeri peptit-1
GLP2: Glukagon-benzeri peptit-2
GLUT: Glikoz taşıyıcı protein
GPER: G protein kenetli östrojen reseptörü
GPER-KO: GPER knock out
H₂O₂: Hidrojen peroksit
HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
i.c.v.: İntraserebroventriküler
KATP: ATP'ye duyarlı potasyum kanalları
LBD: Ligand Binding Domain/

LC: Lokus seruleus
LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein
Leprb: Leptin reseptörü
LH: Lateral hipotalamus
LHA: Lateral Hipotalamik Alan
MAPK: Mitojenle aktive edilmiş protein kinazlar
MC3R: Melanokortin-3 reseptörleri
MC4R: Melanokortin-4 reseptörleri
MCH: Melanin konsantre edici hormon
mCPP: Metaklorofenilpiperazin
ME: Median eminens
MeA: Medial amigdala
MePD: Medial posterodorsal amigdala
mER- α : Membran ilişkili ER- α
MOER: Membrane Only Estrogen Receptor α
mpd PVN: Dorsal medial parvosellüler paraventriküler nukleus
MPOA: Medial preoptik alan
mpv PVN: Medial parvosellüler paraventriküler nukleus
MSS: Merkezi sinir sistemi
NPY: Nöropeptit Y
NTS: Nukleus traktus solitarius
NUCB2: Nucleobindin2
OXM: Oksintomodülin
P4: Progesteronun
Pe: Periventriler nukleus
PFA: Perifornikal alan
PI3K: Fosfatidil inozitol 3 kinaz
PKC: Protein kinaz C
PLCO: Posterolateral kortikal amigdaloid nukleus
pml PVN: posterior magnosellüler lateral paraventriküler nukleus
PMV: Ventral premamiller nukleus
POMC: Pro-opiomelanokortin
PP: Pankreatik polipeptit
PVN: Paraventriküler Nukleus
PVNlp: Lateral parvosellüler paraventriküler nukleus
PYY: Peptit tirozin tirozin
RP: Raphe pallidus, rafe çekirdekleri
SERM: Selektif östrojen reseptör modülatörü
SON: Supraoptik nukleus
TF: Transkripsiyon faktörleri
VLM: Ventrolateral medulla
VMN: Ventromedial Nukleusda
Y1-6: NPY reseptörleri
ZI: Zona incerta
 α -MSH: α -melanosit stimüle edici hormon
 β -LGND: Seçici ER- β agonisti

8. EKLER

8.1. Şekil Listesi

- Şekil 1:** Hipotalamusun anatomik yerleşimi (Sherwood, 2011).
- Şekil 2:** Besin alımının düzenlenmesinde rol alan hipotalamik çekirdekler ve çevreleyen diğer çekirdekler.
- Şekil 3:** ARC nukleus, merkezi melanokortin sistem ve besin alımının düzenlenmesi. (Lee ve Wardlaw, 2007)
- Şekil 4:** Östrojen fomları (López de Alda ve ark., 2002).
- Şekil 5:** İnsan östrojen reseptörü α ve östrojen reseptörü β karşılaştırılması.
- Şekil 6:** Östrojen reseptörlerinin etki mekanizmaları (Heldring ve ark., 2007)
- Şekil 7:** İmmünohistokimyasal İşaretlemeler.
- Şekil 8:** Nesfatin-1 nöronlarının hipotalamusta dağılımı.
- Şekil 9:** Hipotalamusta ER- α ve ER- β ekspresyonu.
- Şekil 10:** Periventriküler nukleusta nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonu.
- Şekil 11:** Arkuat nukleusta nesfatin-1 nöronlarında ER- α ekspresyonu.
- Şekil 12:** Paraventriküler nukleus nesfatin-1 nöronlarında ER- β ekspresyonu.

8.2. Tablo Listesi

- Tablo 1.** Periferde sentezlenen besin alımını düzenleyici peptitler.
- Tablo 2.** Merkezi sinir sisteminde sentezlenen besin alımını düzenleyici peptitler.
- Tablo 3:** Östrojen ile ilişkili besin alımını düzenleyici moleküller.
- Tablo 4:** Çalışmada kullanılan denek sayıları.
- Tablo 5:** Primer Antikorlar.
- Tablo 6:** Antikorlar için belirlenen optimum şartlar.
- Tablo 7:** Er- α eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının ortalama sayıları ve yüzdeleri \pm SE.
- Tablo 8:** Er- β eksprese eden nesfatin-1 nöronlarının ortalama sayıları ve yüzdeleri \pm SE.

8.3. Grafik Listesi

- Grafik 1:** Periventriküler nukleusta nesfatin nöronlarında ER- α ekspresyonu.
- Grafik 2:** Arkuat nukleusta nesfatin nöronlarında ER- α ekspresyonu.
- Grafik 3:** Paraventriküler nukleusta yerleşik ER- β pozitif nesfatin-1 nöronları.

9. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgileri ve hoşgörüsüyle bana her zaman destek ve yol göstericisi olan, aynı zamanda yüksek lisans tez çalışmamın planlanmasından içeriğinin düzenlenmesine kadar tüm aşamalarında zamanı, özverisi ve destekleriyle hep yanımda olan çok değerli tez danışmanım ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Semiha ERSOY'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam sürecinde tezimin planlanmasında, deney aşamasında, içeriğinin düzenlenmesinde ve yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerini, desteğini ve zamanını esirgemeyen değerli hocam Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Özhan EYİĞÖR'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim ve tezim sırasında bilgi ve tecrübelerini aktararak zamanını, yardım ve katkılarını esirgemeyen değerli hocam Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. F. Zehra MİNBAŞ'a teşekkür ederim.

Eğitimim ve tez çalışmam süresince bana destek olan, bilgi birikimlerini aktaran, değerli hocalarım, Prof. Dr. Şahin A. SIRMALI'ya ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. İlkin ÇAVUŞOĞLU, Prof. Dr. Zeynep KAHVECİ ve Doç. Dr. Berrin AVCI'ya tüm yardım ve emekleri için teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bana yardımcı olan arkadaşlarım Gülçin EKİZCELİ, K. Zülal HALK ve Nursel HASANOĞLU AKBULUT'a teşekkür ederim.

İhtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU'na ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak her koşulda yanımda olan, beni her zaman destekleyen, 'ben' olarak bugünlere ulaştıran canım annem Güleser Oy ve canım babam D. Mehmet OY'a, ayrıca her zaman yanımda olan kardeşlerim İrem OY ve Selen OY'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

10. ÖZGEÇMİŞ

Ceren OY 1988 yılında Antalya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 2007 yılında başladığı Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2011 yılında mezun oldu. Akdeniz Üniversitesi Eğitim Fakültesinde bir yıl pedagojik formasyon eğitimi aldı. 2015 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda ÖYP Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı ve Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda bilimsel hazırlık eğitimi ile yüksek lisans öğrenimine başladı.



ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Ceren OY
Tez Adı	Nesfatin nöronlarının besin alımını baskılayıcı işlevi üzerine gonadal steroid hormonların etkisinin immünohistokimyasal olarak araştırılması.
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Semiha ERSOY
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) İzni	<input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasının ertelenmesini istiyorum 1 yıl <input type="checkbox"/> 2 yıl <input type="checkbox"/> 3 yıl <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin vermiyorum

Hazırlamış olduğum tezimin yukarıda belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih:17.09.2018

İmza:

RİT-FR-KDD-
12/00