

**MERKEZİ OLARAK FGF21 UYGULAMASININ  
HİPOTALAMUS-HİPOFİZ-TİROİD AKSI VE UCP1  
GEN İFADESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ümit YILMAZ**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Süleyman SANDAL  
Yüksek Lisans Tezi – 2015**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MERKEZİ OLARAK FGF21 UYGULAMASININ HİPOTALAMUS-  
HİPOFİZ-TİROİD AKSI VE UCP1 GEN İFADESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ümit YILMAZ**

**Fizyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Süleyman SANDAL**


Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2014/16 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA  
2015**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Ümit YILMAZ**'ın "**Merkezi Olarak FGF21 Uygulamasının Hipotalamus-Hipofiz-Trioid Aksı ve UCP1 Gen İfadesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/08/2015

  
Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ  
İnönü Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Sinan CANPOLAT  
Fırat Üniversitesi  
Üye

  
Doç. Dr. Süleyman SANDAL  
İnönü Üniversitesi  
Tez Danışmanı  
Üye

### ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Fibroblast Büyüme Faktörleri.....	2
2.1.1. Fibroblast Büyüme Faktörü 21 (FGF21).....	3
2.1.2. Fibroblast Büyüme Faktörü 21' in Reseptörü .....	4
2.1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü 21' in Etkileri.....	4
2.1.3.1. Glikoz Metabolizması Üzerine Etkileri .....	4
2.1.3.2. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri.....	5
2.1.3.3. Besin Alımı ve Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri .....	6
2.1.3.4. Diğer Metabolik Etkileri .....	6
2.2. Hipotalamus .....	7
2.2.1. Hipotalamusun Anatomisi ve Fonksiyonları.....	7
2.2.2. Hipotalamustan Salgılanan Hormonlar .....	8
2.2.3. Tirotropin Salgılatıcı Hormon .....	9
2.3. Hipofiz Bezi .....	10
2.3.1. Hipofiz Bezinin Anatomisi ve Fonksiyonları.....	11
2.3.2. Tiroit Uyarıcı Hormon.....	11
2.4. Tiroit Bezi ve Tiroit Hormonları.....	12
2.4.1. Tiroit Bezinin Anatomisi.....	12
2.4.2. Tiroit Hormonları .....	13
2.4.3. Tiroit Hormonlarının Metabolizmayı Düzenleyici Etkileri.....	16
2.5. Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku.....	17
2.6. Eşleşme Bozucu (Uncoupling) Protein 1 .....	19
3. MATERYAL VE METOT .....	22
3.1. Deney Hayvanları .....	22
3.2. Stereotaksik İşlem Öncesi Hazırlıklar.....	22
3.2.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının Hazırlanması.....	22

3.2.2. Beyin İnfüzyon Kitlerinin Hazırlanması .....	23
3.3. Stereotaksi İşlemleri .....	24
3.3.1. Lateral Ventrikülün Koordinatlarının Tespit Edilmesi .....	24
3.3.2. Hayvanların Anesteziye Alınması ve Cerrahi Operasyona Hazırlanması.....	24
3.3.3. Hayvanların Stereotaksik Cihazda Sabitlenmesi ve Beyin İnfüzyon Kitlerinin Yerleştirilmesi.....	25
3.4. Ozmotik Mini Pompa İşlemleri.....	27
3.4.1. Ozmotik Mini Pompaların Kullanıma Hazır Duruma Getirilmesi.....	27
3.4.2. Ozmotik Mini Pompaların Yerleştirilmesi .....	27
3.5. Hayvanların Dekapite Edilmesi, Serum ve Dokuların Alınması .....	28
3.6. Analizlerin Yapılması .....	28
3.6.1. Serum TSH Düzeyinin Belirlenmesi .....	28
3.6.2. Serum T3 ve T4 Düzeylerinin Belirlenmesi.....	29
3.7. Gerçek Zamanlı-qPZR ile Hipotalamik TRH, Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA Düzeyinin Belirlenmesi.....	31
3.7.1. Beyin ve Yağ Dokusu Homejenizasyonu ve Total RNA Saflaştırılması .....	31
3.7.2. cDNA Sentez Protokolü .....	32
3.7.3. RT-qPZR Protokolü .....	33
3.8. İstatistiksel Analizler.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Icv FGF21 Uygulanmasının Hipotalamik TRH mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi.....	38
4.2. Icv FGF21 Uygulanmasının Serum T3 ve T4 Seviyeleri Üzerine Etkileri .....	39
4.3. Icv FGF21 Uygulanmasının Beyaz Yağ Doku UCP1 mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	40
4.4. Icv FGF21 Uygulamasının Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	41
4.5. Icv FGF21 Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkisi.....	43
4.6. Icv FGF21 Uygulamasının Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi.....	44
5. TARTIŞMA .....	46
5.1. Icv FGF21 Uygulamasının TRH Gen İfadesi, Serum T3 ve T4 Hormon Seviyeleri Üzerine Etkisi.....	46
5.2. Icv FGF21 Uygulamasının Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA İfadesi Üzerine Etkisi .....	48

5.3. Icv FGF21 Uygulamasının Yem Tüketimi ve Vücut Ağırlığı Üzerine Olan Etkileri .....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	52
KAYNAKLAR .....	53
EK 1. ETİK KURUL ONAY BELGESİ .....	68
EK 2. ÖZGEÇMİŞ.....	69

## TEŐEKKÜR

2014/16 nolu yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnon Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,  
Tez araştırmamı destekleyen, katkı ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Süleyman SANDAL'a, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen blmmn tüm oğretim üyelerine, tez araştırmamın yapımı ve yazımı sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen İnon Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Oğretim yesi ve İnon Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Birimi sorumlusu Prof. Dr. Yılmaz CİĖREMİŐ'e, İnon Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı Oğretim yesi Doç. Dr. Cemil CLAK'a ve tez araştırmamın deneyleri sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen İnon Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı oğretim elemanı Arş. Gör. Suat TEKİN'e, doktora oğrencileri Mehmet DEMİR ve Yavuz ERDEN'e ve hayatımın her alanında benden desteğini esirgemeyen aileme ve eşime sevgi ve saygılarımı sunar, teŐekkür ederim.

**Ümit YILMAZ**

## ÖZET

### Merkezi Olarak FGF21 Uygulamasının Hipotalamus-Hipofiz-Tiroit Aksı ve UCP1 Gen İfadesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

**Amaç:** Fibroblast Büyüme Faktörü 21 (FGF21), karaciğer başta olmak üzere yağ doku, iskelet kası ve pankreasta ifade edilen bir proteindir. Enerji homeostazisinin düzenlenmesinde FGF21 ve tiroit hormonlarının benzer etkilere sahip olması FGF21 ile tiroit hormonları arasında muhtemel bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma intraserebroventriküler (icv) FGF21 uygulamasının hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı ve enerji metabolizması üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapıldı.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada 30 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı ve sıçanlar 3 gruba ayrıldı (n=10). Kontrol grubundaki sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Uygulama grubundaki sıçanlara 7 gün süreyle FGF21 (0.72µg/gün), sham grubundakilere ise FGF21' in çözücüsü (yapay BOS) icv olarak infüze edildi. Deney süresince hayvanların vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri günlük olarak takip edildi. 7. gün sonunda hayvanlar dekapite edilerek beyin, kan, beyaz ve kahverengi yağ dokuları toplandı. Hipotalamus dokusundan TRH mRNA düzeyi, beyaz ve kahverengi yağ dokulardan da eşleşme bozucu protein 1 (UCP1) mRNA düzeyi RT-qPCR ile, serum T3 ve T4 düzeyleri de ELISA ile belirlendi.

**Bulgular:** Gruplar hipotalamik TRH mRNA ifadesi, serum T3 ve T4 düzeyleri bakımından kıyaslandığında FGF21 uygulamasının sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak TRH mRNA ifadesini (p<0.05), serum T3 (p<0.05) ve T4 (p<0.001) seviyelerini artırdığı gözlemlendi. FGF21 infüzyonunun sham ve kontrol grubuna göre beyaz yağ dokuda UCP1 mRNA seviyesini anlamlı şekilde artırdığı (p<0.05), kahverengi yağ doku UCP1 mRNA seviyesini ise değiştirmediği tespit edildi. Grupların vücut ağırlığı ve yem tüketimi bakımından karşılaştırılmasında FGF21 infüzyonunun yem tüketimini artırdiği buna karşın vücut ağırlığını azalttığı belirlendi (p<0.05).

**Sonuç:** Çalışma sonuçlarımız icv FGF21 uygulamasının hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı üzerinden beyaz yağ dokuyu etkilediğini, gıda alımını artırmasına karşın vücut ağırlığında artışa sebep olmadığını gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Fibroblast Büyüme Faktörü 21, beyaz yağ doku, kahverengi yağ doku, T3, T4, UCP1



## ABSTRACT

### **Investigation of Effects of Centrally Administration of FGF21 on Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis and UCP1 Gene Expression**

**Aim:** Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is a protein which predominantly expressed by the liver, is also expressed in adipose tissue and the pancreas. FGF21 and thyroid hormones have similar effects to the regulation of energy homeostasis suggest a possible relationship between FGF21 and thyroid hormones. The present study was designed to investigate the effects of chronic intracerebroventricular (icv) administration of FGF21 on hypothalamus-hypophysis-thyroid axis and energy metabolism.

**Material and Method:** In this study, thirty Wistar Albino male rats were used, and were divided randomly into 3 groups (n=10, in each group). No operation was applied to the rats in the control group. Rats in the experimental groups, FGF21 (0.72µg/day), and rats in sham group, intracerebroventricular artificial cerebrospinal fluid was injected for seven days (10 µl/h). During experimental period, food intake and body weights were recorded daily. After seven days, animals were decapitated and their brain, blood, white and brown adipose tissues were taken. TRH mRNA levels in hypothalamus, uncoupling protein 1 (UCP1) mRNA levels in white and brown adipose tissues of the groups were determined by RT-PCR method. Serum T3 and T4 levels were measured by using ELISA method.

**Results:** Groups are compared in terms of hypothalamic TRH mRNA expression, serum T3 and T4 levels, according to sham and control groups, FGF21 administration was determined to statistically increased TRH mRNA expression, serum T3 (p<0.05) and serum T4 (p<0.001). According to sham and control groups, while FGF21 infusion was significantly increased UCP1 mRNA levels in white adipose tissue (p<0.05), UCP1 mRNA levels was not changed in brown adipose tissue. Groups were compared in terms of body weight and food intake, despite FGF21 infusion increased food intake, it was not found to change the body weight (p<0.05).

**Conclusion:** Our results suggest that icv FGF21 administration affects white adipose tissue over hypothalamic-pituitary-thyroid axis and while food intake is increased, it is not cause to increase body weight.

**Keywords:** Fibroblast Growth Factor 21, thyroid hormone, UCP1, white adipose tissue, brown adipose tissue

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>ARC</b>	: Arkuat çekirdek
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>BYD</b>	: Beyaz yağ doku
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozin monofosfat
<b>cDNA</b>	: Komplementer DNA
<b>DIT</b>	: Diiyodotirozin
<b>DMN</b>	: Dorso medial çekirdek
<b>GHRH</b>	: Büyüme hormonu serbestleştirici hormon
<b>gr</b>	: Gram
<b>FGF</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>FGF21</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü 21
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>İcv</b>	: İntraserebroventriküler enjeksiyon
<b>ip</b>	: İntraperitoneal enjeksiyon
<b>iv</b>	: İntravenöz enjeksiyon
<b>KYD</b>	: Kahverengi yağ doku
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>MIT</b>	: Monoiyodotirozin
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>pg</b>	: Pikogram
<b>PIH</b>	: Prolaktin baskılayıcı hormon
<b>ppTRH</b>	: prepro-TRH
<b>PVN</b>	: Paraventriküler çekirdek
<b>RT3</b>	: Revers T3
<b>Sc</b>	: Subkutan
<b>SD</b>	: Standart sapma

<b>SCN</b>	: Suprakiazmatik çekirdek
<b>SON</b>	: Supraoptik çekirdek
<b>T3</b>	: Triiyodotironin
<b>T4</b>	: Tiroksin
<b>TR</b>	: Tiroit hormon reseptörü
<b>TRH</b>	: Tirotropin serbestleştirici hormon
<b>TSH</b>	: Tiroit uyarıcı hormon
<b>TSHR</b>	: Tiroit uyarıcı hormon reseptörü
<b>UCP1</b>	: Eşleşme bozucu (uncoupling) protein 1
<b>yBOS</b>	: Yapay beyin omurilik sıvısı

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Fibroblast Büyüme Faktörlerinin filojenik sınıflandırılması.....	2
Şekil 2.2. Fibroblast Büyüme Faktörlerinin etki şekillerine göre sınıflandırılması.....	3
Şekil 2.3. Hipotalamusun konumu.....	7
Şekil 2.4. Hipotalamusta yer alan çekirdeklerin konumu.....	8
Şekil 2.5. Hipofiz bezinin anatomisi ve salgılanan hormonlar.....	11
Şekil 2.6. İnsanlarda tiroit bezinin anatomisi.....	12
Şekil 2.7. Sıçanlarda tiroit bezinin yerleşimi.....	13
Şekil 2.8. T3 ve T4 hormonları.....	13
Şekil 2.9. Tiroit hormonlarının sentezlenmesi.....	14
Şekil 2.10. Elektron taşıma zincirinde ATP üretimi ve UCP1' in proton sızdırması.....	20
Şekil 3.1. Beyin infüzyon kiti ve kanülü.....	23
Şekil 3.2. Paxinos & Watson sıçan beyin atlasına göre lateral ventrikülün yerinin belirlenmesi.....	24
Şekil 3.3. Bregma noktasının gösterimi.....	25
Şekil 3.4. Beyin infüzyon kitinin kafa tasına sabitlenmesinin basamakları.....	26
Şekil 3.5. Ozmotik mini pompaların hazırlanması.....	27
Şekil 3.6. TSH kitinin referans standartının seri dilüsyonu.....	28
Şekil 3.7. T3 ve T4 kitlerinin referans standartlarının seri dilüsyonu.....	30
Şekil 3.8. Hipotalamus, BYD ve KYD örneklerinden saflaştırılan RNA'ların agaroz jel (%1) elektroforez görüntüsü.....	32
Şekil 3.9. $\beta$ -aktin ve TRH cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri.....	34
Şekil 3.10. $\beta$ -aktin ve TRH cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	34
Şekil 3.11. $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri.....	35
Şekil 3.12. $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	36

Şekil 3.13. $\beta$ -aktin ve UCP1 (kahvrenge yağ doku) cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri .....	36
Şekil 3.14. $\beta$ -aktin ve UCP1 (KYD) cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	37
Şekil 4.1. FGF21 infüzyonunun grupların TRH mRNA ifadeleri üzerine etkileri .....	38
Şekil 4.2. FGF21 infüzyonunun grupların serum T3 hormon seviyesi üzerine etkisi ....	39
Şekil 4.3. FGF21 infüzyonunun grupların serum T4 hormon seviyesi üzerine etkisi ....	40
Şekil 4.4. FGF21 infüzyonunun grupların beyaz yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi .....	41
Şekil 4.5. FGF21 infüzyonunun grupların kahverengi yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi .....	42
Şekil 4.6. Icv FGF21 uygulamasının deney süresince kontrol, sham ve deney grubunun yem tüketimi üzerine etkisi .....	43
Şekil 4.7. Icv FGF21 uygulaması sonrasında grupların yem tüketimleri .....	44
Şekil 4.8. Icv FGF21 uygulamasının deney süresince kontrol, sham ve deney grubunun vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisi .....	45
Şekil 4.9. Icv FGF21 uygulamasının grupların vücut ağırlığı üzerine etkisi.....	45

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo 2.1. Fibroblast Büyüme Faktör reseptörleri.....	4
Tablo 2.2. Hipofiz bezinden salgılanan hormonlar.....	10
Tablo 3.1. Yapay beyin omurilik sıvısının içerdiği bileşikler ve miktarları.....	23
Tablo 3.2. $\beta$ -Aktin, TRH ve UCP1 genine ait primer dizilimleri .....	33
Tablo 4.1. Merkezi FGF21 infüzyonunun hipotalamik TRH mRNA ifade düzeyi üzerine etkisi (n=10) .....	38
Tablo 4.2. Merkezi FGF21 infüzyonunun serum T3 ve T4 hormon düzeyleri üzerine etkisi (n=10) .....	39
Tablo 4.3. Merkezi FGF21 infüzyonunun beyaz yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi (n=10) .....	40
Tablo 4.4. Merkezi FGF21 infüzyonunun kahverengi yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi .....	42

# 1. GİRİŞ

Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF), ilk üyesi yaklaşık olarak 40 yıl önce keşfedilmiş ve son üyesi olan FGF23' ün de keşfedilmesiyle toplamda 22 üyeye ulaşmış bir protein ailesidir. Geçen yıllar içerisinde FGF protein ailesinin yapılan çalışmalarla etki mekanizmaları ve birçok metabolik etkileri ortaya çıkarılmıştır (1). FGF protein ailesi etki mekanizmalarına göre sınıflandırıldığında endokrin etki gösterenler grubuna dahil olan Fibroblast Büyüme Faktörü 21'in (FGF21) enerji homeostazisinde rol oynadığı gösterilmiştir. FGF21 karaciğerde sentezlenmektedir ve  $\beta$ -klotho ile birlikte aktivite gösteren tirozin kinaz tipi reseptörü bulunmaktadır (2). Bugüne kadar yapılan reseptör taraması çalışmalarında FGF21'in karaciğerde, beyaz yağ doku (BYD) ve kahverengi yağ dokuda (KYD), pankreasta ve son olarak da hipotalamusun paraventricüler nükleus (PVN) ve suprakiazmatik nükleusunda (SCN) reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (3, 4).

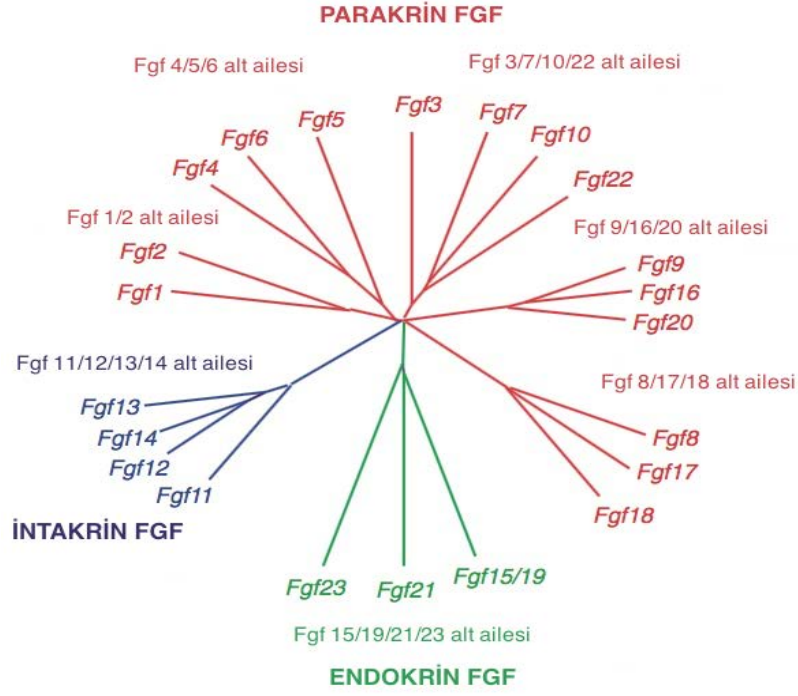
FGF21, beyaz ve kahverengi yağ hücrelerine glikozun alınmasını artırarak kan glikoz düzeyini düşürücü etki yapmaktadır. Ayrıca yağ hücrelerine alınan glikozun trigliserit olarak depolanması yerine yağ asitlerinin enerji metabolizmasında kullanılmasını indükleyerek oksijen tüketimini ve enerji harcanmasını artırdığı bilinmektedir (5). Yapılan çalışmalarda FGF21'in bu etkilerini enerji kullanımının göstergesi olarak kabul edilen eşleşme bozucu protein 1 (uncoupling protein 1; UCP1) gen ifadesini artırarak ortaya koyduğu ifade edilmiştir (6).

Metabolizma hızınının düzenlenmesinde önemli rollere sahip olduğu bilinen tiroit hormonlarının seviyesindeki değişimlerin metabolizma hızındaki değişimleri yansıttığı kabul edilmektedir (7). Metabolik sürecin düzenlenmesinde FGF21 ve tiroit hormonlarının bir takım rollere sahip olması, FGF21 ile tiroit hormonları arasında muhtemel bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma enerji dengesinin düzenlenmesinde rol aldığı ileri sürülen FGF21'in, erkek sıçanlara intraserebroventriküler (icv) uygulama sonrası hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı ve enerji kullanımının göstergesi olarak kabul edilen BYD ve KYD UCP1 gen ifadeleri arasındaki muhtemel etkileri belirlemek amacıyla yapıldı.







**Şekil 2.2.** Fibroblast Büyüme Faktörlerinin etki şekillerine göre sınıflandırılması (10)

### 2.1.1. Fibroblast Büyüme Faktörü 21 (FGF21)

İnsan FGF21' i, 19. kromozomda kodlanan 209 aminoasitlik olgun bir proteinden tüvlenerek dolaşıma verilen 181 aminoasitlik (yaklaşık 20 kDa) bir proteindir (11). FGF21 karaciğer, yağ doku, iskelet kası ve pankreasta ifade edilen ve terapötik etkilerini yağ doku, karaciğer, pankreas ve hipotalamusta gösteren bir proteindir (3, 12-14). FGF21 başlıca karaciğerde üretilir ve ifadesi kısmen bir transkripsiyon faktörü olan *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR $\alpha$ )'nın kontrolü altındadır (15-17). FGF21 ifadesi endojen PPAR $\alpha$  ligandları olan ve açlık sonrası artan yağ asitleri, ketojenik diyet veya yapay PPAR $\alpha$  ligandları olan fibratlar tarafından uyarılır (18, 19). FGF21 hem insanların hem de farelerin açlık durumlarında sirkadyan ritim gösteren bir protein olup seviyesi gece yarısı yükselmeye başlar, sabahın erken saatlerinde en tepe noktaya ulaşır ve ardından öğleden sonraki saatlerde bazal konsantrasyon düzeyine düşmeye başlar (20, 21). FGF21 açlık sonucu karaciğerden salınır ve daha sonra açlığa metabolik adaptasyon oluşturmak için hedef dokuları etkiler (22).

### 2.1.2. Fibroblast Büyüme Faktörü 21' in Reseptörü

FGF' ler hücreseel seviyedeki etkilerini klasik 4 tane FGF reseptör (FGFR) 1-4 izotiplerinden oluşmuş hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (23). FGF reseptörlerine spesifik olarak bağlanan ve homolog tek-geçişli bir transmembran proteini olan  $\beta$ -Klotho, FGF 21 aktivitesi için esansiyel bir kofaktör olarak tanımlanmıştır (24, 25). FGF reseptörleri, seçici ve non-kovalent bir esansiyel ko-reseptör olan  $\beta$ -Klotho ile birlikte FGF21- $\beta$ -Klotho-FGFR kompleksi oluşturan tirozin kinazlardır (24).  $\beta$ -Klotho yoğun olarak yağ dokuda, karaciğerde ve pankreasta ifade edilir ve etkilerini de büyük oranda bu dokularda göstermektedir (26).

**Tablo 2.1.** Fibroblast Büyüme Faktör reseptörleri

<b>Gen</b>	<b>Lokasyonu</b>	<b>Protein</b>
<b>FGFR1</b>	8p12	FGFR1b FGFR1c
<b>FGFR2</b>	10q.26.12	FGFR2b FGFR2c
<b>FGFR3</b>	4p16.3	FGFR3b FGFR3c
<b>FGFR4</b>	5q35.2	FGFR4

### 2.1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü 21' in Etkileri

FGF21'in son yıllarda yapılan çalışmalarla glikoz ve lipid metabolizması, besin alımı ve enerji harcanması yanı sıra diğer endokrin ve metabolik etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

#### 2.1.3.1. Glikoz Metabolizması Üzerine Etkileri

FGF21'in kan glikozunu azalttığı, hepatik glikoz üretimini baskıladığı, karaciğer glikojenini artırdığı ve kan glukagon seviyesini düşürdüğü belirtilmiştir (27, 28). FGF21'in bu etkileri insülinin bağımsız olmasına rağmen insülinin sergilediği metabolik etkilere katkı sağlar niteliktedir. İnsülin glikozun hücre içine alımını dakikalar içinde artıran hızlı bir yolak iken FGF21' in benzer etkisi saatler hatta günler içerisinde ortaya çıkmaktadır (29).

FGF21 insülin biyosentezini artırır ve mitojeniteyi indüklemeksizin  $\beta$ -hücre

sağkalımını teşvik etmektedir (30). FGF21'in çok kısa bir yarı ömrü olan bir peptittir ve yüksek metabolik gereksinimler sürecinde lokal salınır ve adipositlerde glikoz alımını uyarır. Bu durum  $\beta$ -hücre performansını devam ettirirken pankreatik  $\alpha$ -hücrelerinden de glukagon salınımını inhibe ederek insülinin fizyolojik etkilerine pozitif yönde katkı sağlar (30). FGF21 uygulanan diyabetik rhesus maymunların, fare ve sıçanların kan glikoz seviyelerinde anlamlı azalmalar meydana gelirken hipoglisemi gözlenmemiştir. Bu sonuç FGF21'in en azından hayvanlarda insülinin alternatifi olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür (30, 31).

FGF21 adipositlerde glikoz alımını uyarıcı bir etkiye sahiptir ve bu etkisini en az birkaç saat içinde göstermektedir. Etkisini intrasellüler alandan plazma membranına GLUT4 translokasyonu ile gösteren insülinin aksine FGF21 etkisini hücresele GLUT1 ifadesini artırarak ortaya koymaktadır (24, 30). Adipositlere alınan glikoz, trigliserit (31) olarak depolanır ve glikoz klirensini artırarak BYD' nin termojenik kapasitesini bir miktar yükseltir (6, 16). FGF21, farelerin açlık durumunda yağ asitlerinin BYD' den karaciğere mobilizasyonunda rol oynayan hormona duyarlı lipaz enzimini ve adiposit triaçilgliserol lipaz enziminin gen ifadesini düzenler (28, 32, 33). Bunlara ek olarak FGF21' in karaciğerde serbest yağ asitlerinin keton cisimlerine dönüşümü ile birlikte adipositlerde lipolizisi uyardığı gösterilmiştir (27, 28). Sonuç olarak FGF21' in enerji harcanmasını ve yağ kullanımını artırdığı ve bu duruma kilo kaybı, artmış vücut sıcaklığı ve oksijen tüketiminin eşlik ettiği bildirilmiştir (32, 34).

### **2.1.3.2. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri**

FGF21' in plazma trigliserit, serbest yağ asitleri ve LDL kolesterol seviyelerini azaltırken, hepatik lipid oksidasyonu ve plazma HDL kolesterol seviyelerini artırdığı gösterilmiştir (35, 36).

FGF21 plazmadan alınan glikozu depolamak yerine beyaz yağ hücrelerinde enerji elde etmek için primer enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin kullanımını teşvik eder (28). BYD' de yağ asitlerinin kullanılmasıyla enerji harcanması artar akabinde BYD önce 'bej' daha sonra da KYD' ye dönüşür (37). Yapılan bir çalışmada BYD' nin KYD' ye dönüşümünün gerçekleşmesi için FGF21 hem BYD hem de KYD' de enerji metabolizmasıyla ilişkili tüm mitokondriyal genlerin transkripsiyon faktörlerinin ifadesini artırdığı bildirilmiştir (38). Bir başka çalışmada da FGF21'in yağ asitleri, trigliserit ve kolesterol sentezi için gerekli olan Sterol Regulatory Element-Binding

Protein-1c (SREBP-1c) transkripsiyon faktörünü inhibe ederek karaciğer yağlanmasını azaltıcı etki gösterdiği ileri sürülmüştür (39).

### **2.1.3.3. Besin Alımı ve Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri**

FGF21'in gıda alımı üzerine olan etkileri bugüne kadar sadece deney hayvanı çalışmalarında incelenmiştir. Hem intraserebroventriküler (icv) hem de intraperitoneal olarak FGF21 uygulanmasının farelerin ve sıçanların total kalori alımını azaltmadan ve fiziksel aktivitelerini etkilemeden vücut ağırlıklarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (40, 41). FGF21'in yağ hücrelerinde primer enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin kullanımını teşvik etmesi, mitokondride glikoz kullanılarak enerji üretilirken harcanan oksijenden daha fazlasının kullanılmasına neden olur ve bu duruma vücut sıcaklığının artışı eşlik eder (14, 42).

### **2.1.3.4. Diğer Metabolik Etkileri**

Yetersiz beslenmenin kemik büyümesini engellediği bilinmektedir. FGF21'in de yetersiz veya kötü beslenme durumunda osteoblastogenezis sürecinde rol oynadığı gösterilmiştir (43). Besin alımı kısıtlanmış FGF21 knock-out fareler kontrol farelere göre daha az iskelet gelişmesi inhibisyonu göstermiştir ve bu durum FGF21'in yetersiz beslenme ile ilişkili kemik büyümesinde nedensel bir rolü olduğunu ileri sürmüştür (44). FGF21-indüklü kemik kaybının muhtemelen osteoblastogenezis ve kondrogenesisin doğrudan baskılanması nedeniyle meydana geldiği öngörülmektedir (45).

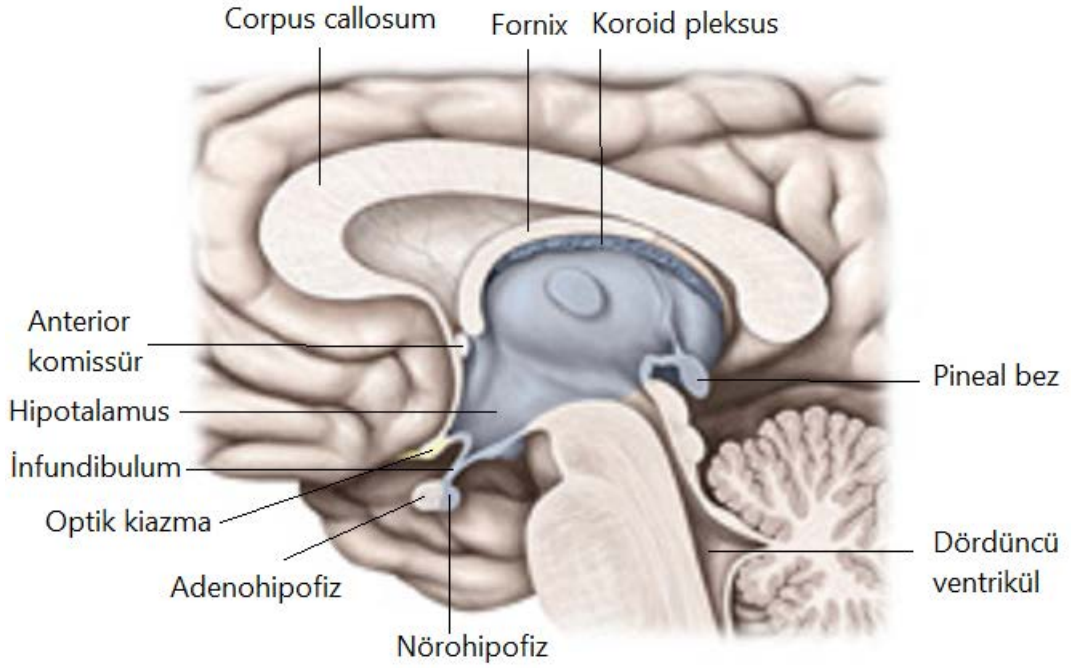
Yapılan bir çalışmada FGF21 ile büyüme hormonu arasındaki feed-back ilişkisi incelenmiştir. Büyüme hormonu-indüklü olarak adipositlerden salınan serbest yağ asitlerinin karaciğerde PPAR- $\alpha$ 'yı uyararak FGF21 salınımını uyardığı ve salınan FGF21'in de plazmadaki aşırı yağ asitlerininin adipositlere geri alımını uyardığı gösterilmiştir (46).

FGF21' in 2005 yılında keşfedilmesinden bu yana farmakolojik dozlarda obezite, diyabet ve yağlı karaciğer hastalıkları üzerine azaltıcı yönde yararlı etkilerinin olduğunun ortaya konulması bu peptidi dikkat çekici bir konuma getirmiştir (30, 31, 47).

## 2.2. Hipotalamus

### 2.2.1. Hipotalamusun Anatomisi ve Fonksiyonları

Hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı birbiriyle hormonal olarak ilişkili üç organın ve bu organların birbirleriyle etkileşimlerinin oluşturduğu dinamik bir yapıdır. Bu aksın ilk bileşeni olan hipotalamus, beyinde talamusun altında, 3.ventrikülün taban ve yan duvarlarında yerleşmiş çekirdek topluluklarından oluşmuştur. Hipotalamusta yer alan çekirdekler gerek birbirleri arasında gerekse de korteks, talamus ve beyin sapı gibi diğer beyin bölgeleri ile sinirsel bağlantılar kurmaktadır (48, 49).

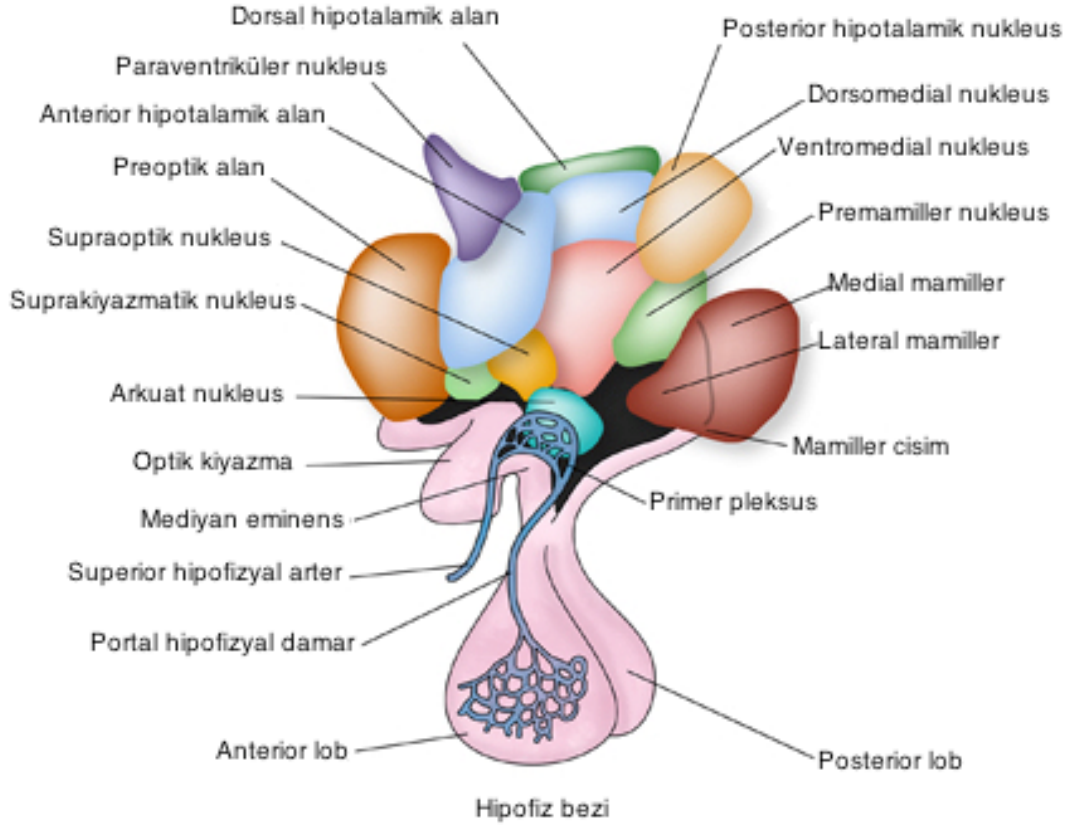


Şekil 2.3. Hipotalamusun konumu (50)

Besin alımı ile ilişkili sinyallerin beyindeki entegrasyon merkezi olan hipotalamus enerji harcanması ve vücut ağırlığının kontrolünün sağlanması yanı sıra vücut sıcaklığı, kan basıncının ayarlanması, sıvı alımının homeostatik kontrolü, üremenin endokrin kontrolü ve hipofiz bezi ile ilişkili nöral ve endokrin düzenlemelerin kontrol edildiği önemli bir beyin bölgesidir (51).

Enerji homeostazisinin kontrolünün yapıldığı açlık ve tokluk merkezleri hipotalamusta yer almaktadır. Besin alımının kontrol edilmesinde hipotalamus bölgesinin işlevi lezyon çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Hipotalamus periventriküler alan, medial alan ve lateral alan olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır. Bu bölgelerden

arkuat nukleus, enerji homeostazisini etkileyen ve açlık/tokluk durumlarında sinyalleri alan bölgedir. Arkuat nukleus, hipotalamusta konumlanmış diğer çekirdeklerden paraventriküler nukleus (PVN), dorsomediyal nukleus, ventromediyal nukleus, lateral hipotalamus, suprakiazmatik nukleus arasında nöronal mediatörler ile iletişim halindedir (Şekil 2.2) (52).



Şekil 2.4. Hipotalamusta yer alan çekirdeklerin konumu (53)

### 2.2.2. Hipotalamustan Salgılanan Hormonlar

Hipotalamustan, hipofiz bezinden salgılanan hormonların salgısını kontrol eden bazı hormonlar salgılanır. Bunlara düzenleyici hormon veya faktör denir. Bu hormonlar:

- 1- Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH): Hipofiz bezinden FSH ve LH hormonlarının salgısını kontrol eder.
- 2- Growth hormon salgılatıcı hormon (GHRH): Hipofiz bezinden büyüme hormonunun salgısını kontrol eder.
- 3- Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH): Hipofiz bezinden TSH hormonunun salgısını kontrol eder.
- 4- Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH): Hipofiz bezinden ACTH hormonunun salgısını kontrol eder.
- 5- Prolaktin inhibe edici hormon (PİH): Hipofiz bezinden prolaktin salgılanmasını engeller.
- 6- Somatostatin: Hipofiz bezinden salgılanan büyüme

hormonu ve TSH hormonunun salgılanmasını inhibe eder. Bu hormonlar ön hipofiz bezindeki hormon salgısını düzenler (54).

### **2.2.3. Tirotropin Salgılatıcı Hormon**

PVN, üçüncü ventrikülün üst kısmı ile yan yana bulunmaktadır ve ön hipotalamusta yer almaktadır. PVN’de, enerji dengesini sağlamakta görev alan birçok nöronal yol bulunmaktadır. Hipotalamusta yer alan TRH nöronları PVN’de bulunan nöronal perikaryadan köken alır ve medyan eminensin dış tabakasında yüksek yoğunluklu akson terminalleri bulunmaktadır (55). TRH, hipotalamusun paraventriküler çekirdeklerinde bulunan parvosellüler nöronal sistemde üretilir. Aksonlar tarafından median eminensdeki primer pleksusa taşınan bu hormon daha sonra portal ven aracılığıyla ön hipofize ulaşır. PVN, tiroit ve hipotalamus-hipofiz aksı arasındaki beslenme sinyallerinin birleştirilmesinde anahtar rol oynayan bölgedir (56).

Tiroit döngüsü ve işlevlerinin düzenlenmesinde “Hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı” olarak adlandırılan, tiroit hormon sekresyonunu kontrol eden ve düzenleyen, endokrin ve nöroendokrin organlardan oluşan bir sistem rol oynamaktadır. Bu sistemin kontrolü en önemli etkiyi oluşturan TRH tarafından yapılır (57). TRH, hipotalamusta pro-TRH halinde sentezlenmektedir ancak beynin çeşitli bölgelerinde posttranskripsiyonel işlemlere maruz kalarak aktif TRH halini alır. TRH, tiroitlerdeki spesifik TRH reseptörlerine bağlanır ve TSH geninin transkripsiyon ve translasyonunu artırarak TSH’ nın sentezini kontrol eder. Sentezlenen TSH’ nın salınımı da yine TRH’ nın kontrolü altındadır (58).

Plazmadaki düzeyi 25-100 pg/ml olan TRH’ nın yarı ömrü 5 dakikadır ve günlük salınma zamanı gece 24 ile sabah 4 arasındadır. Sağlıklı insanlara intravenöz olarak verilen TRH, TSH düzeylerini 2 ile 5 dakikada yükselterek 20-30 dakikada maksimuma ulaştırır, 2-3 saat sonra da bazal seviyelere dönmesini sağlar. TRH’ nın hipofiz anteromedial bölgesindeki hücreler üzerine direkt etkisi ile pulsatil olarak diurnal ritim ile salgılanan TSH, hedef hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak fonksiyon gösterir (59).

### 2.3. Hipofiz Bezi

Hipofiz bezi, beyin tabanında sfenoid kemiğin üst yüzeyindeki sella tursikada yerleşmiş, alt ve yanlardan onun tarafından sarılmış, beyin tabanında orta hatta bulunan fasülye şeklinde bir bezdir. Hipofiz bezi, hipofiz sapı ya da infundibulum olarak bilinen yapı ile hipotalamusa bağlıdır. Hipofiz bezi, küçük damarsız bir bölge olan pars intermedia ile adenohipofiz (ön hipofiz) ve nörohipofiz (arka hipofiz) olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2.3). Hipofiz bezinin hemen hemen tüm sekresyonu, hipotalamusun hormonal ya da sinirsel sinyalleri ile kontrol edilir. Hipofizden salgılanan hormonların bir kısmı periferik yapılara direkt olarak etki ederken, bir kısmı ise tropik hormonlar olup, endokrin organlarda hormon yapımını kontrol ederler (60, 61).

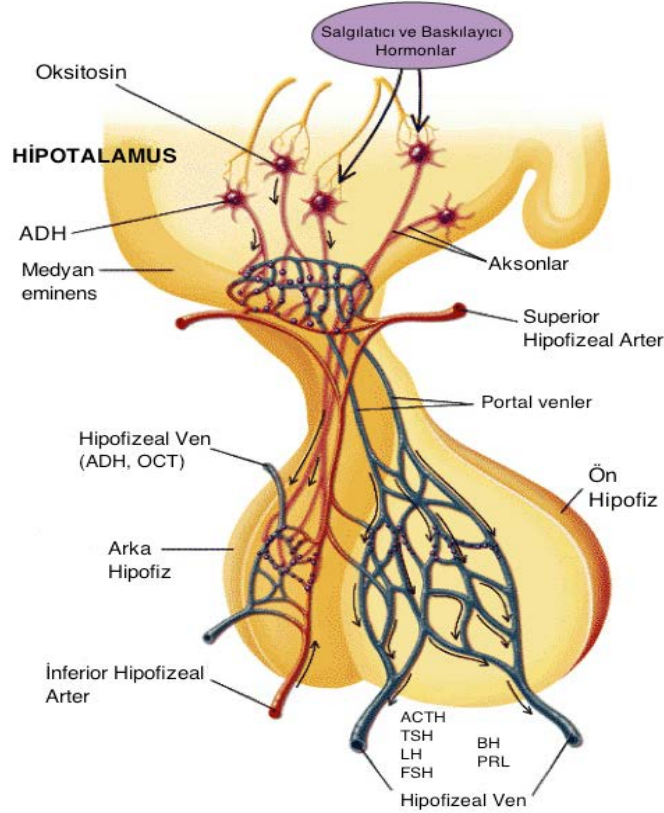
Embriyolojik olarak farinks epitelinin embriyolojik bir çöküntüsü olan Ratke kesesinden meydana gelen ön hipofiz bezi, hipofiz bezinin % 80' ini oluşturmaktadır. Ön hipofiz hücreleri; hipotalamik nöronlar tarafından üretilip, median eminens kapillerine salgılanan ve portal venler ile ön hipofize taşınan serbestleştirici/baskılayıcı ve nöropeptid-salgılatıcı hormonlar ile kendi kendilerini kontrol ederler. Hipofiz bezinin ön lobundan 6, arka lobundan 2 adet peptid yapıları salgılanmaktadır (Tablo 2.2) (62).

Hipofiz bezi büyüme, enerji metabolizmasının kontrolü, stres, üreme ve diğer fizyolojik süreçlerde anahtar rol oynayan bir düzenleyici olmakla beraber hipotalamus ve periferik organlar arasında fizyolojik sinyal alışverişinin de gerçekleştiği aracı bir organdır (63, 64).

**Tablo 2.2.** Hipofiz bezinden salgılanan hormonlar (62).

Ön hipofiz	Arka hipofiz
Büyüme Hormonu (BH)	Antidiüretik hormon (ADH)
Adrenokortikotropik hormon (ACTH)	Oksitosin
Tiroit uyarıcı hormon (TSH)	
Prolaktin (PRL)	
Lüteinize edici hormon (LH)	
Folikül uyarıcı hormon (FSH)	





**Şekil 2.5.** Hipofiz bezinin anatomisi ve salgılanan hormonlar (64)

**BH:** Büyüme hormonu, **PRL:** Prolaktin, **LH:** Luteinizan hormon, **FSH:** Folikül stimulan hormon, **ADH:** Antidiüretik hormon, **OCT:** Oksitosin, **ACTH:** Adrenokortikotropik hormon, **TSH:** Tiroit uyarıcı hormon.

### 2.3.1. Hipofiz Bezinin Anatomisi ve Fonksiyonları

#### 2.3.2. Tiroit Uyarıcı Hormon

TSH, adenohipofiz tarafından salgılanan, 28-30 kDa ağırlığında glikoprotein yapısında bir proteindir. Tiroit hormonlarının sentez ve salgılanması hipofizde sentezlenen TSH tarafından kontrol edilir. İnsanlardaki tiroit uyarıcı hormon reseptör geni (TSHR), 14. kromozomun q kolunun 31. lokasyonuna yerleşmiştir. TSH, tiroit bezi üzerindeki yaklaşık 100.000 daltonluk glikoprotein yapısındaki reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanır. TSH' in reseptörüne bağlanması adenilat siklazı aktive ederek cAMP yapımını sağlar. TSH, hem hipotalamustan salgılanan TRH ile hem de tiroit hormonlarının hipofiz üzerine geri besleme etkisi ile kontrol edilir (65, 66).

TSH' in salınması belirli bir ritim ile düzenlenir. Sağlıklı bir insanda; uykudan birkaç saat önce serum TSH düzeyi yükselmeye başlar, gece maksimum düzeye ulaşır

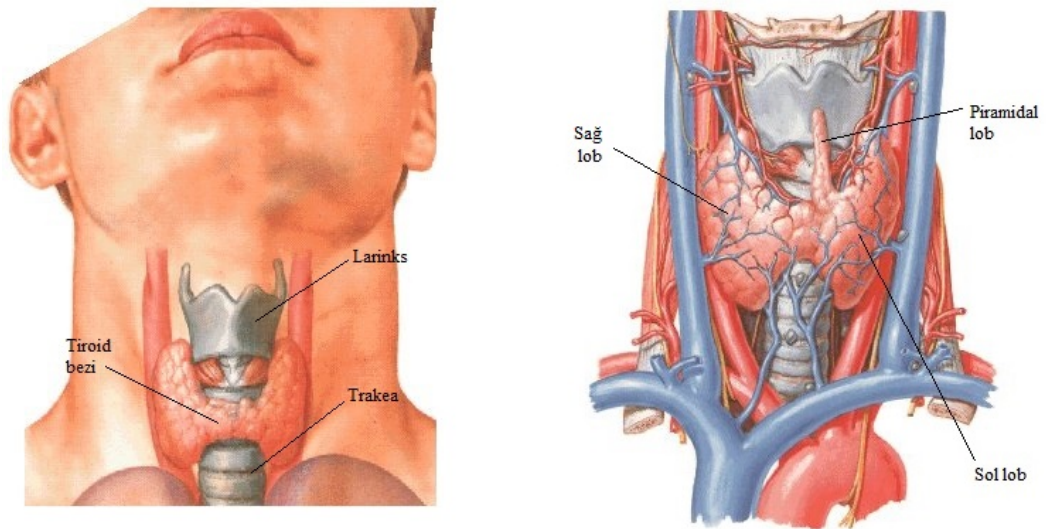
ve sabaha doğru azalarak öğleye doğru minimum düzeye düşer. Buna TSH'nın sirkadyan ritmi denir (67).

TSH, tiroit bezinin morfolojisini ve fonksiyonunu etkileyen bir hormondur. TSH, tiroitlerin gelişmesini kontrol etmenin yanı sıra tiroitlerde tiroit peroksidaz ve tiroglobulin yapımını, tiroglobulin proteolizisini, iyodun tutulmasını ve organifikasyonunu, iyodotirozinlerin yapımını, T3-T4 hormonlarının yapım ve salınmasını da kontrol eder (68).

## 2.4. Tiroit Bezi ve Tiroit Hormonları

### 2.4.1. Tiroit Bezinin Anatomisi

Tiroit bezi, C5-T1 vertebra'lar seviyesinde, krikoid kıkırdak ve trakeanın ön yan kısımlarında yerleşmiş endokrin bir bezdir. Sağ ve sol olmak üzere iki lobdan oluşur. Bu bezin fonksiyonu bazal metabolizmayı stimüle eden tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3) hormonlarını sentez etmektir. Endokrin bezlerin en büyüğü olup ağırlığı erişkinde 15-20 g kadardır. Tiroit bezi kırmızı-kahverengi renkte olup kan damarları bakımından zengin bir organdır. Histolojik yapısı incelendiğinde bezin birçok küremsi (sferik) folikülden oluştuğu görülür. Foliküler hücreler tiroglobülin denilen globüler bir protein sentezleyerek onu tiroit foliküllerinin kolloidine salgırlar. Her bir tiroglobülin molekülü tiroit hormonlarının yapıtaşını olan tirozin aminoasidini içerir (69).



Şekil 2.6. İnsanlarda tiroit bezinin anatomisi (70)

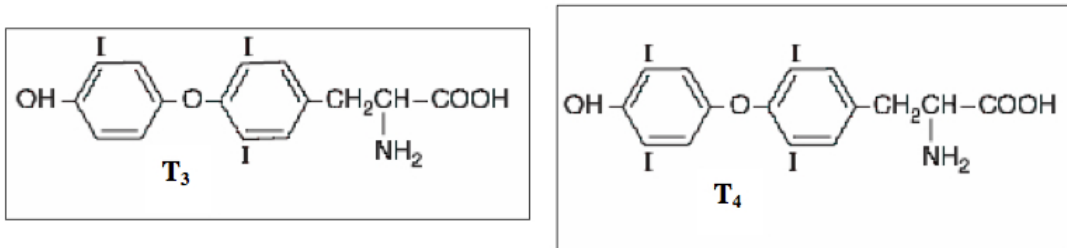


**Şekil 2.7.** Sıçanlarda tiroit bezinin yerleşimi (71)

(1- Larinks, 2- Tiroit bezi, 3- Mandibüler bez, 4- Trakea)

#### 2.4.2. Tiroit Hormonları

T3 ve T4, tiroit bezinden salgılanan ve metabolizmayı regüle etmekle görevli hormonlardır. Tiroksin 4, triiyodotronin 3 iyot bağlanmış tirozin aminoasididirler. Tiroit bezi tarafından sentezlenen başlıca hormon T4'dür. Fakat biyolojik aktivitenin çoğundan sorumlu olan T3' tür ve T3 çoğunlukla periferik dokularda T4'den sentez edilir. Tiroit hormonlarının sentezi için foliküler hücreler içinde iyodun konsantre edilmesi gerekir ve biyolojik etkinliklerini de iyot atomunun yerleşimi belirler (72, 73).

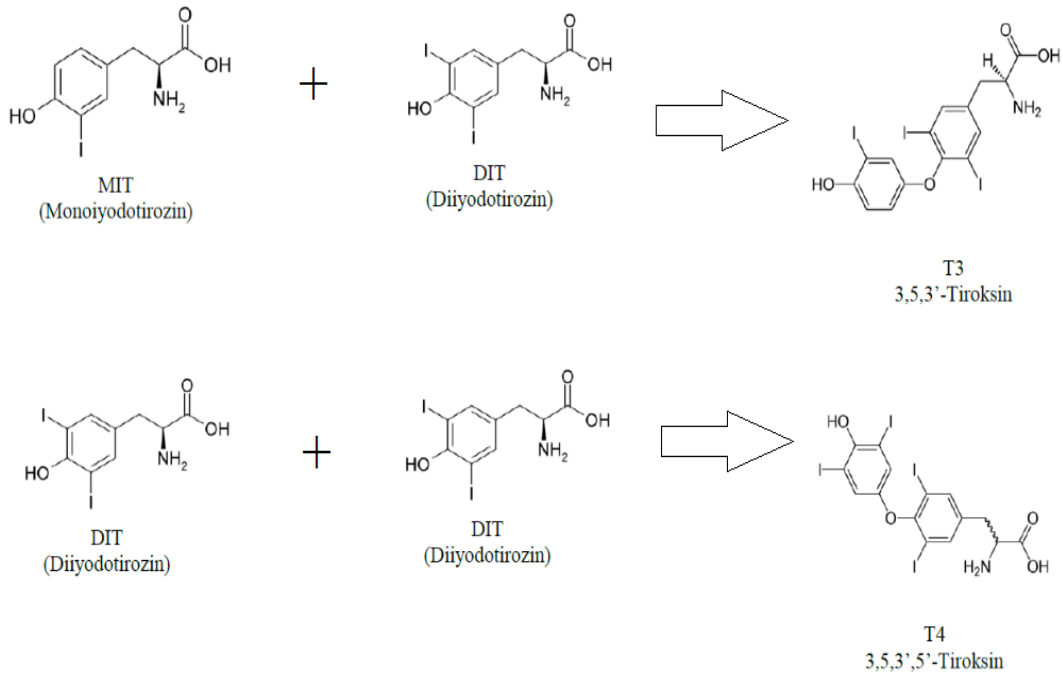


**Şekil 2.8.** T3 ve T4 hormonları (74)

İyot, iyon halinde iyodid (indirgenmiş formda, I<sup>-</sup>), okside olmuş formda iyot (I), ya da organik bileşik halinde iyot olarak besinlerle alınır. Organik ve element

halindeki iyot, sindirim ve emilim esnasında iyodide (I<sup>-</sup>) indirgenir ve plazmada bu şekilde bulunur (75). Tiroit bezi hücreleri iyodidi kan dolaşımından aktif transport yoluyla hücre içine alırlar. Bez içinde, plazmada ya da serumda bulunandan çok daha fazla iyodid bulunur. İyodid aktif transportu, TSH tarafından hızlandırılır. İyodid hücre içine girince tiroit peroksidaz ile iyot (I<sup>-</sup>) haline dönüştürülür ve tiroglobüline bağlı tirozin moleküllerine bağlanır (33, 70). Bu şekilde monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DIT) meydana gelir. Bu iyotlu tirozinlerin bir araya gelmesiyle tiroit bezinin aktif hormonları oluşmaktadır. İki molekül DIT birleşmesi ile T4, bir DIT ile bir MIT birleşmesiyle de T3 meydana gelir (61). T3 ve T4 hormonları, tiroit hücrelerinin folikül içine salgıladığı proteolitik ve peptidaz enzimleri ile tiroglobülünden ayrılarak serbestleşir ve sistemik dolaşıma geçerler. Hormon haline gelmemiş MIT ve DIT' lar serbest kalır, ancak kan dolaşımına karışmazlar. MIT ve DIT' da bulunan iyot, tiroit bezinde bulunan deiyodinaz enzimleri ile deiyonize edilir ve daha sonra serbestleşmiş bu iyotlar yeniden hormon sentezinde kullanılır (76, 77).

Bazı dokularda 5 deiyodinaz enzimi bulunur. Bu enzim T4 hormonunun iç halkasından bir iyot atomu deiyodinasyonu ile biyolojik olarak etkisiz olan reverse T3 (rT3) oluşumuna yol açar. rT3 sentezinin açlık durumunda veya bazı hastalıklar esnasında bazal metabolizma hızını azaltmaya yönelik koruyucu bir mekanizma olduğu ileri sürülmüştür (78).



**Şekil 2.9.** Tiroit hormonlarının sentezlenmesi (64)

Tiroit hormonlarının sentezini ve salgılanmasını hipofizde sentezlenen TSH kontrol eder. Kanda tiroit hormonu belli bir seviyeyi aşınca TSH salınması inhibe edilir. Bu inhibisyon, kanda hormon miktarının ayarlanmasında geri besleme mekanizması ile gerçekleşmektedir (79). Tiroit hormonu bu etkisini de diğer etkilerinde olduğu gibi adenohipofizde TSH salgılamakla görevli hücrelerin nükleer reseptörlerine bağlanarak yapmaktadır. Adenohipofizin TSH sentezleyen hücrelerinin nükleer reseptörleri T3 tarafından kapatılınca TSH salınması durur (80). Kanda tiroit hormonu seviyesi düşüncü, nükleer reseptörlerin T3 ile kapatılamayan miktarı artar ve TSH salınması, dolayısıyla T4 salınması artar. T4 diğer doku hücrelerinde olduğu gibi, tirotrof (TSH salgılayan) hücrelerde de deiyodinyasyon yoluyla T3'e dönüştürülmektedir. T3' ün TSH salgılayan hücrelerin nükleer reseptörleri ile birleşmeleri, geri besleme mekanizmasıyla, TSH salınımını inhibe eder (81).

Tiroit hormonları hücre içersine alındıklarında sitoplazmada serbest halde kalırlar veya düşük afiniteli sitozolik reseptörler ya da yüksek afiniteli nükleer mitokondriyal reseptörlerine bağlanırlar. Tiroit hormonları hedef hücrelerdeki etkilerinin büyük bir kısmını, hücre çekirdeği içindeki nükleer reseptörler aracılığı ile ve bir kısmını da mitokondri içersindeki reseptörleri aracılığı ile gösterirler (82). Nükleus içine giren tiroit hormonları reseptörlerine bağlandıktan sonra hedef genlerin transkripsiyonunu hızlandırarak yapısal ve fonksiyonel proteinlerin sentezini artırırılar. Bu hormonlar, bazı hücre türlerinde mitokondride oksidatif metabolizmayı, oksijen tüketimini ve sonuç olarak oksidatif fosforilasyon olayını (ATP oluşumunu) artırırılar. Hücrede oksidasyonun artmasında, mitokondrilerin sayısının artması ve her bir mitokondri içindeki oksidasyon yapan birimlerin sayısının artması rol oynar (83).

Tiroit hormonlarının en büyük kısmını karaciğer, böbrek ve kas gibi enerji gereksiniminin fazla olduğu dokular almaktadır. Beyin, dalak ve gonadlar çok az tiroit hormonu alırlar. Bu farklı alımların nedeni T4' ün oksijen kullanımı üzerine metabolik etkileri ile ilgilidir. Tiroit hormonları dokuların normal fonksiyonu için gerekli olan metabolizma hızını ayarlar, oksijen kullanımını artırır, karbonhidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesine yardım eder (84, 85).

### 2.4.3. Tiroit Hormonlarının Metabolizmayı Düzenleyici Etkileri

Hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı enerji metabolizması başta olmak üzere, metabolizma hızı, büyüme ve gelişme gibi süreçlerin sağlıklı bir şekilde devam edebilmesinde kilit rol oynar (86, 87).

Tiroit hormonlarının protein metabolizması üzerine olan etkileri, hormonun genel metabolizma üzerine olan etkilerinin temelini oluşturur. Tiroit hormonları protein sentezini artırdığından, özgül enzimlerin sentezini de artırır ve böylece metabolizmayı hızlandırır. Tiroit hormonlarının protein metabolizması üzerine etkisi, hormon verilen hayvanın ya da bireyin metabolik durumuna ve hormon dozuna göre değişiklik gösterir. Tiroit hormonları mRNA, tRNA ve rRNA sentezini artırarak azot dengesi üzerinde pozitif etki gösterir ve bu etki ile büyüme hormonu uyarılarak sentezi artırılır (88).

Tiroit hormonları glukozun bağırsaklardan absorpsiyon hızını, yağ dokusu ve kaslar tarafından alınım hızını artırır. Tiroit hormonları ile karbonhidrat metabolizması arasında doz bağımlı ters bir ilişki mevcuttur. Sıçanlara düşük dozda tiroit hormonu uygulanması insülin varlığında glikojen sentezini artırırken, yüksek dozda uygulanması karaciğer glikojeninin glukozu parçalanmasını hızlandırır (82).

Tiroit hormonları yağ dokuda lipolizi artırarak lipid depolarını azaltır ve kanda lipid düzeyini düşürür. Bu etkisini lipolitik maddelere karşı duyarlı hale getirmekle yapar. Lipoliz sonucu meydana gelen ve kanda düzeyi artan serbest yağ asitlerinin okside olmalarını hızlandırır. Tiroit hormonlarının lipid metabolizmasına olan klasik etkisi, kolesterolün kan plazmasındaki derişimini düşürmesidir. Kolesterolün dışkı ile atılmasını ve safra asitlerine dönüşmesini artırır (89). Ayrıca hücrelerin apoprotein reseptörlerinin yapımını artırarak, kolestrol taşıyan LDL'nin hücrelere girişini ve yıkımını da hızlandırır (90).

Tiroit hormonları ve katekolaminler KYD' yi uyararak ısı oluşumuna neden olurlar (91). KYD' nin uyarılmasında özellikle etkili olan T3 hormonu, T4' ün deiyodizasyonu ile lokal olarak oluşturulur. Termogenin transkripsiyonu ve deiyodinaz enziminin aktivasyonu T4' ün bu metabolik yolda etkinliği ile oluşur. Bu etki erişkinlerde ve KYD' nin bol olduğu yeni doğanlarda titremesiz ısı oluşumu olarak bilinen termogenezin düzenlenmesinde oldukça önemlidir (92).

Tiroit hormonları bu etkilerin çoğunu başta BYD ve KYD olmak üzere karaciğer, kalp ve iskelet kası gibi metabolik olarak aktif dokulardaki doğrudan etkileri ile gerçekleştirilir (84, 85).

## 2.5. Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku

Yağ doku besin kaynağı ve vücut sıcaklığındaki değişikliğe cevap veren en önemli dokudur ve enerji homeostazisinin devamı için çok önemlidir (93). İnsanlarda BYD ve KYD olmak üzere iki tip yağ doku bulunur (94). Yüksek omurgalılarda BYD çok fazla miktarda besini tek-bölmeli beyaz adipositlerde lipid olarak depo etmek ve açlık durumlarında bunları yağ asidi olarak kana vermek ile sorumludur (93). KYD, BYD'nin aksine insanlarda, sıçanlarda ve bazı kış uykusuna yatan hayvanlarda bulunan adipoz dokunun özelleşmiş bir formudur (95). KYD, BYD'den lokalizasyonu, morfolojisi ve fonksiyonu bakımından farklıdır. KYD zengin vaskülarizasyon ve yoğun miktardaki mitokondri nedeniyle kahverengi bir renge sahiptir ve enerji harcanmasında, ısı üretmek için lipidlerin yıkılması olan titremesiz ısı oluşumunda önemli rol oynar (96). Klasik kahverengi adipositler; çok bölmeli lipid damlacık yapısı, çok fazla miktarda mitokondri ve mitokondrinin iç zarına yerleşmiş UCPI' in üretimi ile karakterizedirler (97). KYD yüksek derecede damarlıdır ve yoğun şekilde sempatik sinir sisteminin terminal fibrilleri ile inerve edilir (98). KYD titremesiz ısı oluşumu; soğuğa maruz kalma, tiroit hormonları ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile kuvvetli bir şekilde indüklenir (99). Titremesiz ısı oluşumu olarak bilinen süreç, KYD'yi yoğun bir şekilde inerve eden sempatik sinir sistemi tarafından salınan norepinefrin sayesinde düzenlenir (95). Sempatik sinir sistemi aktivasyonu sayesinde norepinefrin, B3 adrenerjik reseptörler ile etkileşime girerek lipaz aracılı triaçilgliserol hidrolizine yol açar. Norepinefrinin ayrıca kahverengi preadipositlerin proliferasyonunu stimüle ettiği, olgun kahverengi adipositlerin farklılaşmasını teşvik ettiği ve kahverengi adipositlerin apoptozunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (100-102).

İnsan fetüsünde gebelik süresince KYD gelişimi BYD gelişiminden önce başlar. KYD gebeliğin 5. ayından itibaren oluşmaya başlar ve doğumda pik yapar (103). Bebeklerde vücut ağırlığının yaklaşık % 5'ini oluşturan KYD, yeni doğanlarda 37 °C olan uterus sıcaklığından daha düşük bir sıcaklık olan dış ortam sıcaklığındaki ani değişimlere karşı koymada, vücut sıcaklığının korunmasında önemli bir rol oynar (104). İnsanlarda KYD, fetüs ve yeni doğanların koltuk altında, servikal, perirenal, periadrenal bölgelerinde bulunur ancak doğumdan sonra yavaş yavaş kaybolmaya başlar (105-107). KYD'nin geleneksel olarak sadece yeni doğanlarda bulunduğu ve ısı oluşumuna olan ihtiyacın azalması sebebiyle yaşla azaldığına inanılıyordu (108). Heaton ve ark. 1972 yılının başlarına kadar yaşamın ilk 10 yılında interskapular KYD'nin devamlı olarak var

olduğunu, ondan sonra 30 yaşına kadar keskin bir azalma ile dereceli olarak kaybolduğunu ileri sürmüşlerdir (109). Ancak 2000'li yılların başında nükleer tıp alanında <sup>18</sup>F-FDG PET/CT tarama yöntemi kullanılarak yetişkin insanlarda KYD varlığı açıklanmıştır. FDG-PET tekniğinin sonuçlarına göre yetişkin insan vücudunda KYD dağılımı; boyun, supraklavikular, paravertebral, interskapular, mediastinum ve para-aortik kısımlardadır (110).

Yetişkin insanlarda KYD'nin aktivitesinin soğuğa maruz kalma, insülin stimülasyonu ve dolaşımdaki artmış katekolamin seviyeleri gibi değerlerle arttığı saptanmıştır. Dışarıda (soğukta) çalışan insanların KYD kütesinin içeride çalışan insanlardan çok daha fazla olduğu belirtilmiştir. Virtanen ve ark. KYD ile kıyaslandığında soğuğa maruz kalmanın paraservikal ve supraklavikular KYD' de glikoz alımını 15 kat artırdığını göstermişlerdir (105). KYD, plazma glukoz seviyelerini ve trigliserit metabolizmasını kontrol eden güçlü bir metabolik dokudur ve aktif KYD kütesinin miktarı ile vücut kitle indeksi arasında ters ilişki bulunmaktadır (111). Son yıllarda insanlarda fonksiyonel KYD'nin keşfi, obezitenin tedavisi için titremesiz termojenik doku fikrini akıllara getirmiştir. Bir insanda yaklaşık 50 gr KYD'nin aktivasyonu günlük enerji tüketimini %20 kadar artırmak için yeterlidir. Bu değer günlük 2,500 kcal enerji tüketimine eşdeğerdir, diyet ve/veya egzersiz ile indüklenmiş kilo kaybından sonra kilo alımını engellemek için yeterlidir (112, 113). Alternatif KYD-aktive edici ilaçlar vücut ağırlığının daha düşük kilolarda kalması için geliştirilebilir. Kök hücre teknolojisindeki son gelişmeler, enerji harcanmasını artırmak için KYD transplantasyonunu potansiyel olarak cazip bir tedavi yapmaktadır. KYD-aktive edici ilaçların gelişimine ve KYD transplantasyonuna ek olarak KYD' de indüklenmiş KYD oluşumunu içeren bioterapötik bir yaklaşım da mümkündür (114).

Tiroit hormonları KYD' ye etki ettiği zaman enerji kullanımını artırmasının yanı sıra aynı titremesiz ısı oluşumu olarak adlandırılan termogenezis ile vücut sıcaklığının artmasına neden olur (115). Tiroit hormon reseptörleri olan TR $\alpha$ 1 ve TR $\beta$ 1' nin KYD' de aşırı miktarda ifade edilmesi, KYD' nin tiroit hormonlarının doğrudan hedef dokusu olduğunu göstermektedir (85, 116). Hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda T3 uygulamasının TR $\beta$ 1 aracılığıyla UCP1 düzeyini artırdığı gösterilmiştir (85, 117, 118). Başka bir çalışmada ise, tiroitektomi sonrası hastalara Levo-T4 tedavisi sonrası abdominal ve supraskapular KYD' de UCP1 mRNA ifadesinde artış gerçekleştiği bildirilmiştir (119).



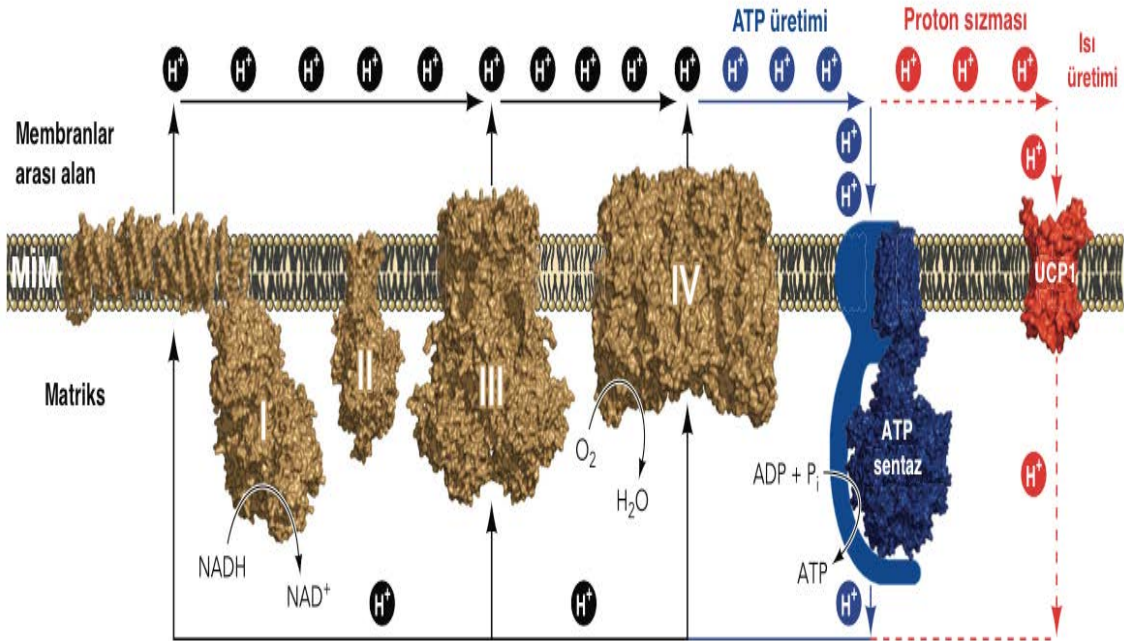
## 2.6. Eşleşme Bozucu (Uncoupling) Protein 1

Vücut hücrelerinde glukoz ve yağ asitleri gibi moleküllerin yıkılması ile serbest formda enerji üretilir ve bu enerji ATP olarak depo edilir. Bu süreç 'enerji metabolizması' olarak ifade edilir ve çeşitli metabolik enzimler tarafından kataliz edilen reaksiyonlar için gereklidir (120, 121). Enerji metabolizmasının son basamağı mitokondride gerçekleşir. Mitokondri tüm ökaryotik hücrelerde bulunan, hücrenin sağkalımı ve fonksiyon gösterebilmesi için gerekli olan enerji üretimi, kalsiyum homeostazisi ve birçok metabolik-biyosentetik yolların düzenlenmesini içeren kritik süreçlerde rol oynayan önemli organellerden bir tanesidir (122, 123). Mitokondriyal enzim reaksiyonlar zinciri tarafından aktarılan serbest enerji, mitokondriyal matrikstekki solunum substratlarında muhafaza edilir. Bu substratlar mitokondri iç membranında yerleşmiş olan solunum zinciri tarafından oksitlenir. Solunum substratlarının oksidasyonu ile birlikte solunum zinciri de protonları matriksten mitokondriyal membranlar arası alana pompalar. Sonuç olarak serbest enerji mitokondriyal iç membrana karşı bir proton gradientine dönüştürülür (124). Bunun sonunda protonlar ATP sentaz aracılığıyla mitokondriyal matrikse geçerler. İtici bir güç olarak bu proton gradientini kullanarak  $ADP+Pi \Rightarrow ATP$  (ADP'nin fosforilasyonu) reaksiyonu ile ATP sentezlenir. Bu nedenle ATP sentezlemek için solunum zincirinde ATP sentaz tarafından solunum substratları ADP ile eşleştirilir. Bu iki reaksiyonun genel adı 'oksidatif fosforilasyon'dur (125).

UCP'ler (UCP1-5) anyon-taşıyıcı protein ailesinin üyeleridir ve mitokondrinin iç membranına yerleşmişlerdir. Bu proteinler yapısal olarak benzerdirler ancak farklı dokularda farklı miktarlarda ifade edilirler (126). Orjinal UCP, UCP1'dir ve genel olarak KYD' de ifade edilir. UCP1 gen ifadesi soğuk, adrenerjik uyarım,  $\beta$ -3-agonistler, retinoid ve tiroit hormonları ve cAMP tarafından artırılır. Esterlenmemiş yağ asitleri tarafından ifadesi aktiflenirken pürin nükleotitleri (GDP, ATP ve ADP) tarafından inhibe edilir (127).

Mitokondriyal iç membrana doğru proton sızdırma; istirahat halindeki metabolizma hızının önemli bir parçasını oluşturur, enerji kaybı ve ısı üretimi için potansiyel bir mekanizma sergiler (128). Mitokondriyal seviyede bazal ve uyarılabilir olmak üzere iki tip proton sızdırma tanımlanmıştır. Bazal proton sızdırma, membranın lipid yapısıyla ilişkilidir ve tüm dokulardaki mitokondrilere gerçekleşir ancak düzenlenme mekanizması daha tam olarak açıklanamamıştır. Uyarılabilir proton

sızdırma ise spesifik UCP' lerle gerçekleşir (129). 6 ekzon ve 5 intron içeren UCP1 geni 4. kromozomun (4q28-q31) üzerinde 9 kb'lık bir alanı kaplar (127). UCP1 mitokondriyal iç membrana doğru proton sızdırarak oksidatif fosforilasyon ile ATP üretilmeksizin ısı üretir. Bu anyon taşıyıcı proteinler mitokondriyal matrikse proton ( $H^+$ ) taşırlar ve proton motif kuvvetini ATP üretimi yerine sıcaklık ve eşleşmemiş substrat oksidasyonu olarak harcarlar. Diğer bir deyişle KYD' de bu oksidatif fosforilasyon UCP1 vasıtasıyla eşleştirilmez (130). Mitokondriyal iç membranında yerleşmiş olan UCP1, ATP sentezinin itici gücü olan proton gradiyentini bozan bir proton taşıyıcı olarak rol oynar. Bu yüzden proton gradiyentinde muhafaza edilen serbest enerji sıcaklık olarak israf edilir. Bu mekanizma ile KYD' de sıcaklık üretilir ve kas dokularında oluşan 'titremeli' ısı oluşumunun aksine 'titremesiz' ısı oluşumu olarak adlandırılır (131). Bu titremesiz ısı oluşumu kas dokuları henüz yeterli olarak gelişmemiş olan yeni doğanlar ve küçük kemirgenlerde oldukça önemlidir. Tüm bunlara ek olarak kış uykusuna yatan canlılar kış uykusu süresince KYD' nin fonksiyonuna oldukça fazla ihtiyaç duyarlar (129, 132).



**Şekil 2.10.** Elektron taşıma zincirinde ATP üretimi ve UCP1' in proton sızdırması (111)  
(UCP1, alandaki protonları mitokondriyal matrikse taşır ve proton gradyanını azaltarak enerjinin ısıya dönüşümünü sağlar)

Uzun bir süre için sadece kemirgenlerde ve yeni doğanlarda (insan) ifade edildiği düşünölen UCP1' in son zamanlarda hem kendisinin hem de mRNA ifadesinin insanların BYD' de, iskelet kasında, longitudinal düz kas tabakalarında, retinal hücrelerinde ve adacık hücrelerinde de ifade edildiği gösterilmiştir fakat bu dokularda ve organlarda UCP1' in fizyolojik fonksiyonlarının neler olduğu KYD' de gibi net olarak ortaya konulamamıştır (133, 134). UCP1' in BYD ve KYD' deki termogeneziste önemli rol oynadığı bilinmektedir. KYD' nin, UCP1' in gen ifadesi ve termojenik enerji harcanması için özel bir önemi vardır. Kimyasal enerjiyi yayması bakımından özel işlevi göz önüne alındığında KYD' nin soğuk ve obeziteye karşı doğal bir savunma sağladığı söylenebilir (135).

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışmadaki uygulamaların tamamı İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafınca onaylanan (Protokol no: 2014/A-12) etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı. Çalışma süresince deney hayvanlarının beslenme ve bakımı İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde (İNÜ-DEHÜM); ELISA analizleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı' nda; Gerçek Zamanlı PZR analizleri ise İnönü Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Birimi araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada *Wistar Albino* cinsi, ortalama ağırlıkları 220-280 gr, 4-6 aylık toplam 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar tartılarak vücut ağırlık ortalamaları birbirlerine en yakın olacak şekilde kontrol, sham kontrol ve FGF21 (0,72 µg/gün) uygulanan olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı (n=10). Çalışma süresince tüm sıçanlar 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngüsünün uygulandığı, sıcaklığı 21±2 °C' de sabit tutulan ortamda barındırıldı. Hayvanlara normal musluk suyu içirildi ve *ad libitum* olarak pellet halindeki standart sıçan yemiyle beslendiler.

#### 3.2. Stereotaksik İşlem Öncesi Hazırlıklar

##### 3.2.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının Hazırlanması

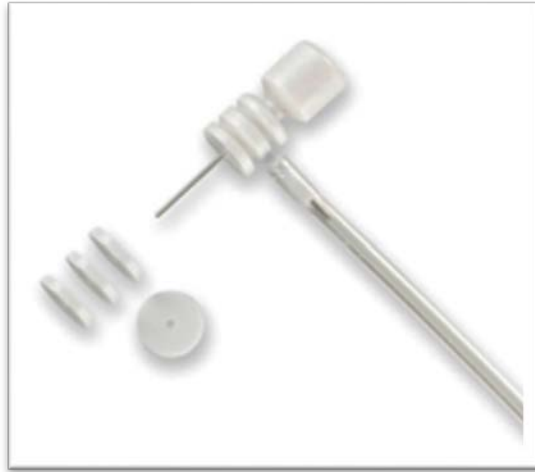
FGF21'in çözücüsü olarak kullanılacak yapay beyin omurilik sıvısını (yBOS) hazırlamak için Tablo 3.1'de belirtilen kimyasal bileşikler tartıldı ve 500 ml steril distile su içerisinde iki farklı çözelti şeklinde hazırlandı. 1. ve 2. çözelti 1:1 hacminde karıştırılarak yBOS elde edildi (136).

**Tablo 3.1.** Yapay beyin omurilik sıvısının içerdiği bileşikler ve miktarları

1. çözelti		2 çözelti	
Bileşik	Miktar (g)	Bileşik	Miktar (g)
NaCl	8.66	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.214
KCl	0.224	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	0.027
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.206		
MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.163		

### 3.2.2. Beyin İnfüzyon Kitlerinin Hazırlanması

Sıçanların lateral ventrikülüne infüzyon yapabilmek için beyin infüzyon kitleri (Alzet Brain Infusion Kit-1, ABD) kullanıldı (Şekil 3.1). Beyin infüzyon kitine bağlanan kanül hava kabarcığı kalmayacak biçimde kontrol edilerek yBOS ile dolduruldu. Kit ve kanülün içerisi yBOS ile doldurulduktan sonra kanül serbest ucundan yakılarak kapatıldı.

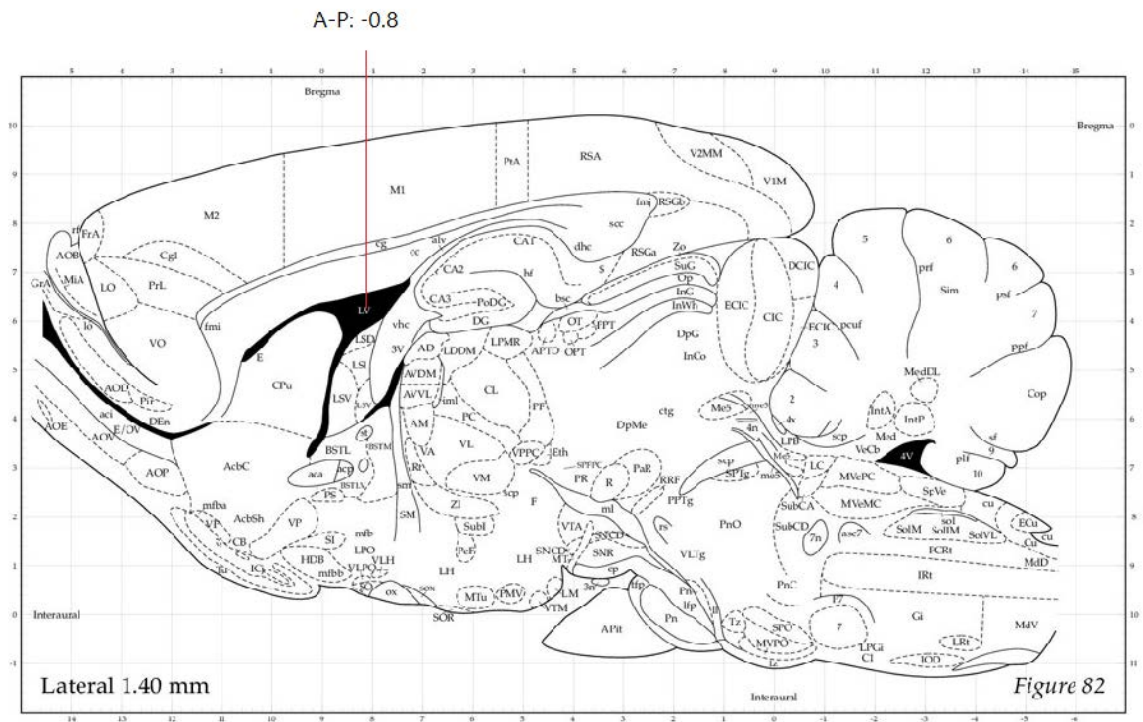


**Şekil 3.1.** Beyin infüzyon kiti ve kanülü

### 3.3. Stereotaksi İşlemleri

#### 3.3.1. Lateral Ventrikülün Koordinatlarının Tespit Edilmesi

Beyin infüzyon kitinin yerleştirileceği lateral ventrikülün stereotaksik koordinatları Paxinos & Watson sıçan beyin atlasına göre belirlendi (137). Lateral ventriküle giriş noktası, referans nokta olarak belirlenen bregmadan laterale 1.40 mm ve posteriyore 0.8 mm gidilerek tespit edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Paxinos & Watson sıçan beyin atlasına göre lateral ventrikülün yerinin belirlenmesi (137)

#### 3.3.2. Hayvanların Anesteziye Alınması ve Cerrahi Operasyona

##### Hazırlanması

Sıçanlar spontan solunumları ve göz kırpma refleksi korunacak şekilde intramüsküler olarak 70 mg/kg ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya), 8 mg/kg ksilazin (Bioveta PLC, Çek Cumhuriyeti) ile anestezi altına alındı (138). Spontan hareketleri kaybolan sıçanların anesteziye girip girmediği parmak kıstırma yanıtları ve fizyolojik yanıtın izlenmesi sonunda saptandı. Anesteziye giren hayvanların kafa

derilerinin iki kulak arasından nazale doğru uzanan 4 x 2 cm'lik bölgesi tıraş edildi ve povidon iyot ile silindi.

### 3.3.3. Hayvanların Stereotaksik Cihazda Sabitlenmesi ve Beyin İnfüzyon Kitlerinin Yerleştirilmesi

Hayvanlar, stereotaksik cihaza kulak barları kullanılarak sabitlendi (Small Animal Stereotaxic System, ASI Instruments, ABD). Povidon iyodin sürülerek temizlenen kafa derisi bistüri ile kesildi ve künt diseksiyon ile kemik yapıya ulaşıldı. Kemik yüzeyi yine bir bistüri yardımıyla temizlenerek referans noktası bregmanın kolay bir şekilde görülmesi sağlandı (Şekil 3.3).

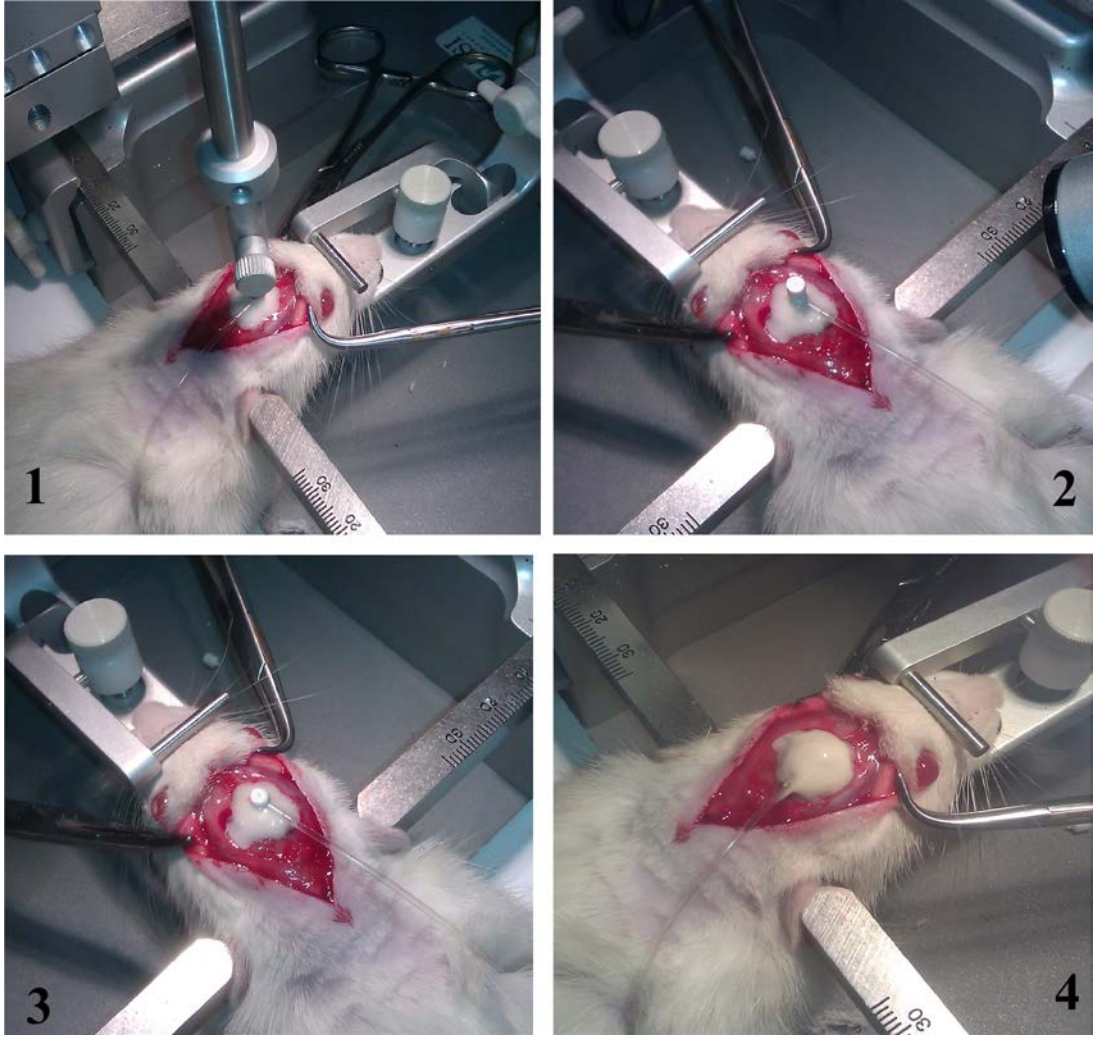


Şekil 3.3. Bregma noktasının gösterimi

Stereotaksik koordinatlar, referans noktası olarak kabul edilen bregmadan itibaren sıçan beyin atlasında önceden belirlenen koordinatlara göre lateral 1.40, posteriyor 0.8 mm giriş koordinatı olarak işaretlendi.

İşaretlenen noktaya 2 mm çaplı matkap ucu ile duraya zarar vermeden bir delik

açıldı. Beyin infüzyon kiti stereotaksik cihaza monte edilmiş olan özel tutucunun yardımıyla açılan delikten lateral ventriküle indirildi. Beyin infüzyon kiti dış yapıştırıcısı kullanılarak hayvanın kafatasına sabitlendi. İnsizyon bölgesi 2/0 ipek ile dikildi ve insizyon alanı %10 povidon iyodin ile silindi. Tüm bu işlemlerde steril malzemeler kullanıldı. Operasyon sonrasında sıçanların iyileşmeleri için 1 hafta beklendi.



**Şekil 3.4.** Beyin infüzyon kitinin kafa tasına sabitlenmesinin basamakları

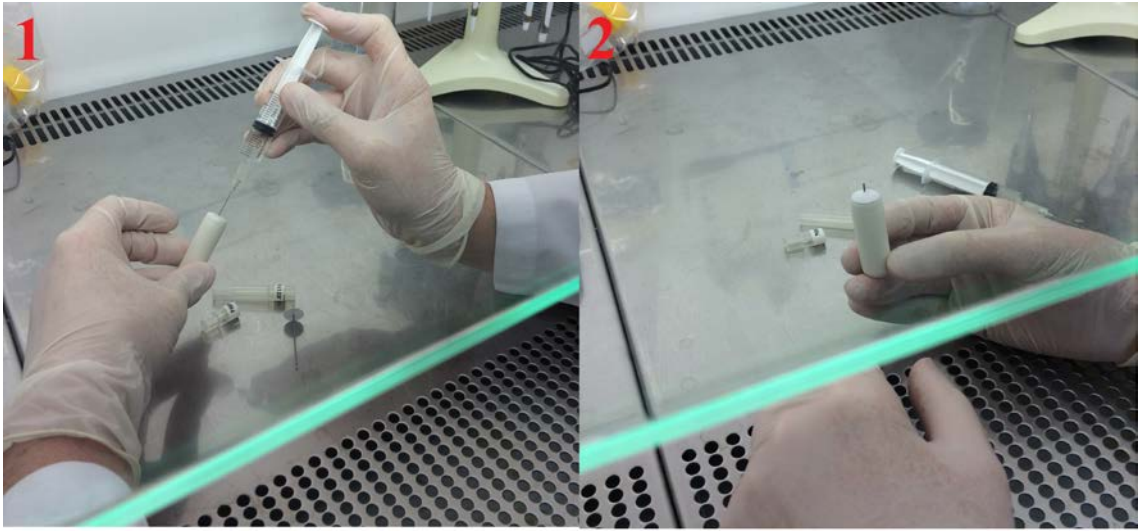


### 3.4. Ozmotik Mini Pompa İşlemleri

#### 3.4.1. Ozmotik Mini Pompaların Kullanıma Hazır Duruma Getirilmesi

Deneyde kullanılan FGF21, PROSPEC firmasından (ABD, Katalog No: cyt-130-b) satın alındı. FGF21, hazırlanan yBOS içerisinde çözüldü ve deneysel çalışmada kullanılacak olan konsantrasyon (6 µg/2000 µl) hazırlandı.

Çalışmada 10 µl/saat/hafta icv infüzyon yapma özelliğine sahip mini ozmotik pompalar (Alzet 2ML1, ABD) kullanıldı. Ozmotik mini pompalar, pompa setinin içerisinden çıkan iğne yardımıyla (sham kontrol grubu için yBOS, deney grubu için ise 6 µg/2000 µl FGF21) dolduruldu ve beyin infüzyon kitine bağlanacak olan metal kanüllü kapak parçası ile kapatıldı. Ozmotik mini pompalar steril kabin içerisinde dolduruldu (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** Ozmotik mini pompaların hazırlanması

(1.Ozmotik mini pompalara FGF21' in doldurulması, 2. Kapağın kapatılması)

#### 3.4.2. Ozmotik Mini Pompaların Yerleştirilmesi

Bir haftanın sonunda hayvanlar yukarıda anlatıldığı şekilde tekrar anestezi altına alındılar (138) ve ense derilerine bistüri yardımıyla yaklaşık 3-4 cm' lik bir insizyon yapıldı. Beyin infüzyon kitinin kanülünün yakılan ucu makasla kesilerek ozmotik mini pompalara takıldı. Beyin infüzyon kitine bağlanan ozmotik mini pompalar sıçanların açılan ense derisinin altına yerleştirildi. İşlem sonrası insizyon bölgesi 3.0 ipek ile dikildi ve %10 povidon iyodin sürüldü (Şekil 3.5).

### 3.5. Hayvanların Dekapite Edilmesi, Serum ve Dokuların Alınması

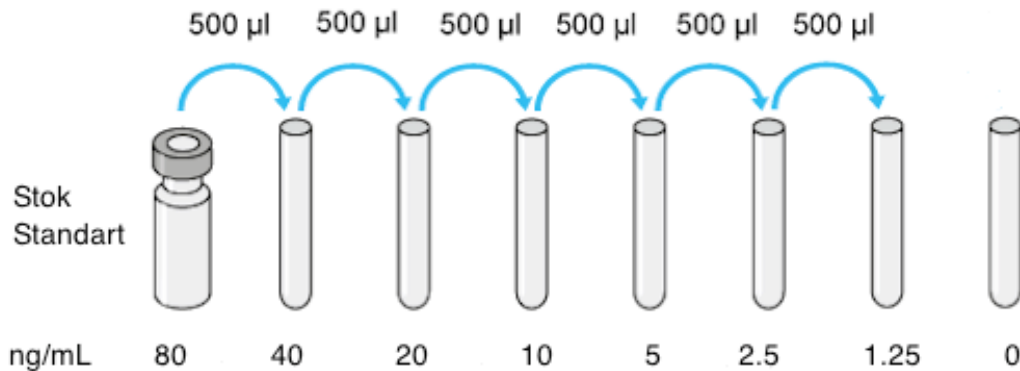
Ozmotik mini pompaların yerleştirilmesinden yedi gün sonra hayvanlar dekapite edildi. Serum örneklerinden TSH, T3 ve T4 analizi için kan, TRH mRNA ifadesi için hipotalamus, UCP1 mRNA ifadesi için interskapular BYD ve KYD' leri alındı. Kan örnekleri toplandıktan sonra +4 °C'de 1 saat bekletildikten sonra 4500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Alınan hipotalamus, BYD ve KYD örnekleri, içerisinde RNA-koruyucu solüsyon bulunan eppendorf tüplere konularak analizler yapılmaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Dekapitasyon işlemi sonrasında ozmotik mini pompalar hayvanlardan geri alındı ve pompa içerisinde kalan miktarlar enjektör iğine çekilerek ozmotik mini pompaların infüzyon yapıp yapmadığı kontrol edildi.

### 3.6. Analizlerin Yapılması

#### 3.6.1. Serum TSH Düzeyinin Belirlenmesi

Serum TSH seviyesini belirlemek amacıyla ticari olarak satılan rat için spesifik TSH ELISA kiti (Elabscience, Çin;, Çin; Katalog no: E-EL-R0976) satın alındı ve kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce kit içerisinde çıkan 80 ng/mL konsantrasyona sahip standart stok solüsyon Şekil 3.6'da belirtildiği gibi seyreltilerek hazırlandı. Referans standartın seyreltildiği distile su sıfır (pg/ml veya ng/ml) olarak kabul edildi.



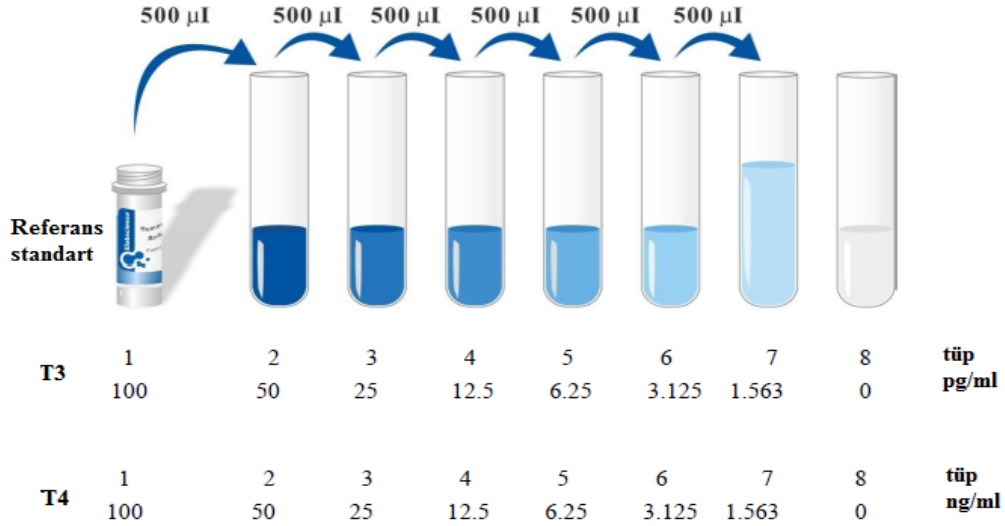
Şekil 3.6. TSH kitinin referans standartının seri dilüsyonu

Kit içerisinde çıkan solüsyonlar ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirilince serum örnekleri santrifüj edildi. Tüm reaktifler pipetlenmeden önce vortekslenerek karıştırıldı ve serum örneklerinden TSH düzeyini belirlemek için aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulandı.

- 100 µl standart, kör veya örnekler kuyucuklarına eklendi.
- Plakanın kapağı kit içerisinde çıkan etiket ile kapatılarak 37 °C'deki etüve kaldırılarak 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- 1 saatlik inkübasyonun sonunda tüm kuyucuklara 100 µl Biotinlenmiş konjugat eklendi ve plakanın kapağı yeni bir etiket ile kapatılarak 37 °C etüve kaldırılarak tekrar 1 saatlik inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuğa 350 µl yıkama solüsyonu pipetlendi ve plaka ters çevirilerek çok silkelemeden kuyucuklar boşaltıldı. Kuyucuklar boşaltıldıktan sonra plaka temiz bir kağıt havlu üzerine ters çevrilerek kurutuldu ve bu işlem 3 defa tekrarlandı.
- Sonrasında bütün kuyucuklara 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve plakanın kapağı kapatılarak 37 °C'deki yerleştirilerek etüve kaldırılarak 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun sonrasında 3. basamaktaki gibi her bir kuyucuk 5 defa yıkandı.
- Her kuyucuğa 90 µl substrat çözeltisi eklendi ve plaka kapağı kapatılarak karanlık bir ortamda inkübasyona bırakıldı (37 °C'de 15-30 dakika).
- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklendi ve plaka hafifçe çalkalandı.
- Son olarak plaka 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okundu. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edildi.

### **3.6.2. Serum T3 ve T4 Düzeylerinin Belirlenmesi**

Serum T3 ve T4 seviyelerini belirlemek amacıyla ticari olarak satılan rat için spesifik T3 ve T4 ELISA kiti (Elabscience, Çin; Katalog no: E-EL-R1097 ve E-EL-R0390) satın alındı ve kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce her iki kit içerisinde çıkan referans standart solüsyonlar Şekil 3.7'de gösterildiği gibi distile su ile seyreltilerek hazırlandı. Referans standartın seyreltildiği distile su sıfır (pg/ml veya ng/ml) olarak kabul edildi.



**Şekil 3.7.** T3 ve T4 kitlerinin referans standartlarının seri dilüsyonu

Kit içerisinde çıkan solüsyonlar ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirilince serum örnekleri santrifüj edildi. . Tüm reaktifler pipetlenmeden önce vorteksenerek karıştırıldı ve serum örneklerinden T3 ve T4 düzeyini belirlemek için aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulandı.

- 50 µl standart, kör ve örnekler kuyucuklarına eklendi. Kör kuyucuğuna standartın seyreltildiği distile su ilave edildi. Sonrasında bütün kuyucuklara 50 µl biyotininlenmiş algılama reaktif eklendi ve plakanın kapağı kit içerisinde çıkan etiket ile kapatılarak 37 °C'deki etüve kaldırılarak 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuğa 350 µl yıkama solüsyonu pipetlendi ve plaka ters çevirilerek çok silkelemeden kuyucuklar boşaltıldı. Kuyucuklar boşaltıldıktan sonra plaka temiz bir kağıt havlu üzerine ters çevirilerek kurutuldu ve bu işlem 3 defa tekrarlandı.
- Sonrasında bütün kuyucuklara 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve plakanın kapağı kapatılarak 37 °C'deki yerleştirilerek etüve kaldırılarak 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası 2. basamaktaki gibi her bir kuyucuk 5 defa yıkandı.
- Her kuyucuğa 90 µl substrat çözeltisi eklendi ve plaka kapağı kapatılarak 37 °C'de 15 dakika etüvede inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklendi ve plaka hafifçe çalkalandı.
- Son olarak plaka 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okundu. Sonuçlar T3 için ng/ml, T4 için pg/ml olarak ifade edildi.

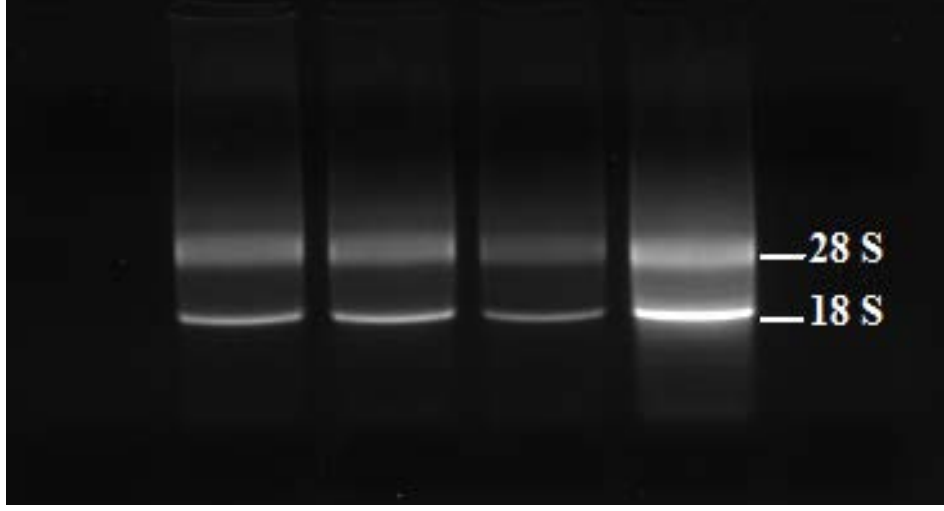
### **3.7. Gerçek Zamanlı-qPZR ile Hipotalamik TRH, Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA Düzeyinin Belirlenmesi**

#### **3.7.1. Beyin ve Yağ Dokusu Homejenizasyonu ve Total RNA Saflaştırılması**

Beyin dokusundan TRH, BYD ve KYD' lerinden UCP1 mRNA seviyelerini tespit etmek için kontrol grubu, sham grubu ve deney grubundan alınan doku örnekleri steril ortamda buz üzerinde küçük parçalara kesilerek RNA saklama çözeltisi içine konuldu ve bu dokulardan High Pure RNA Tissue kit (Roche, ABD; Lot no: 10156400) izolasyon kiti kullanılarak toplam RNA saflaştırıldı. İzolasyon kitinin içerisinde bulunan protokole göre ilk olarak 25 mg doku tartıldı, üzerine 350 µl lysis buffer eklenerek homojenizatörde buz üzerinde 13.500 rpm hızda yaklaşık 1 dakika homojenize edildi. Homojenatın üzerine hacminin yarısı kadar etanol eklendikten sonra vortekslendi ve 13.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında kolonun altındaki koleksiyon tüpünde toplanan sıvı döküldü ve kolon tekrar takılarak işlem tekrarlandı. Daha sonra kolona 100 µl DNase eklenerek 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 15 dakikalık inkübasyonun sonunda 500 µl Wash buffer I eklendi ve 8.000xg'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra kolonun altındaki toplama tüpündeki sıvı döküldü. Toplama tüpleri kolona tekrar takıldıktan sonra 500 µl Wash buffer II eklendi ve tekrardan 8.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonun altındaki toplama tüpü dökülerek kolona 300 µl Wash buffer II eklendi ve 13.000xg'de 2 dakika santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra toplama tüpü atılarak kolon steril bir ependorf tüpe alındı. Son olarak kolona 100 µl elüsyon buffer eklendi ve 8.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonrası tüpte toplanan sıvı toplam RNA olarak elde edildi.

High Pure RNA Tissue kit izolasyon kiti kullanılarak hipotalamus, BYD ve KYD' den saflaştırılan toplam RNA'larda herhangi bir yıkımın olup olmadığını tespit etmek için örnekler % 1' lik agaroz jelde ve 1 X TBE (tris-borik asit-EDTA) tamponu ile 100 mV'de elektroforez işlemine tabi tutuldu. RNA görüntülemesi UVP marka ChemiDoc-It2 sistemi ile ultraviyole ışık altında gerçekleştirildi. Saflaştırılan

RNA'larda 28S ve 18S ribozomal bantlarının varlığı ve herhangi bir yıkımın olmadığı görüldü (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** Hipotalamus, BYD ve KYD örneklerinden saflaştırılan RNA'ların agaroz jel (%1) elektroforez görüntüsü

Dokulardan saflaştırılan RNA örneklerinin spektrofotometrik analizleri yapılarak örneklerin saf RNA içerdiği tespit edildi. Örneklerin RNA'ları miktar ve saflık tayini için spektrofotometre cihazı (BioTek, ABD) ile Gen5 programları kullanılarak 260 ve 280 nm UV spektrumunda ölçüldü. RNA miktarı ng/ $\mu$ l cinsinden hesaplandı ve 260/280 oranları yaklaşık 2 olan saf RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanıldı.

### 3.7.2. cDNA Sentez Protokolü

cDNA sentezi, Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kiti (Roche, ABD; Lot no:14585924, Ref no: 04896866001) kullanılarak yapıldı. cDNA sentezi, kit içerisindeki protokole göre yapıldı. İlk olarak 100  $\mu$ l'lik PZR tüpüne 77 ng toplam RNA, 1  $\mu$ l OligodT18 (50 pmol/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l Random Hexamer Primer (600 pmol/ $\mu$ l) ve toplam hacim 13  $\mu$ l olacak şekilde bidistile su eklendi ve karıştırıldı. Sonra 65 °C'de 10 dakika PZR cihazında ısıtıldı. Bu karışımın üzerine 4  $\mu$ l Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer, 0,5  $\mu$ l Protector RNase Inhibitor, 2  $\mu$ l Deoxynucleotide Mix (her nükleotid için 10 mM konsantrasyonda), 0,5  $\mu$ l Transcriptor Reverse Transcriptase

enzimi eklendi ve böylece toplam hacim 20 µl oldu. Karıştırılan numuneler PZR cihazında 25 °C’de 10 dakika, 55 °C’de 60 dakika ve 85 °C’de 5 dakika ısıtıldı daha sonra analiz edilinceye kadar -20 °C’de saklandı.

### 3.7.3. RT-qPZR Protokolü

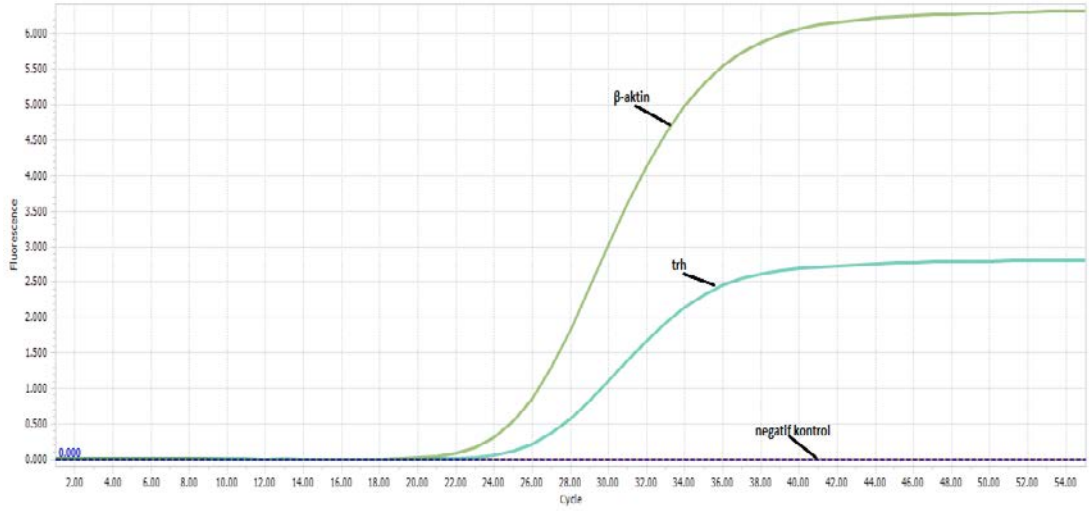
Örneklerin mRNA ifade ölçümleri Roche Light Cycler 96 RT-PZR cihazı, Fast Start Essential DNA Probes Master Kit (Roche, ABD; Lot no: 10048800) ve Real Time Ready Assay (β-Actin; Lot no: 90015222, TRH; Lot no: 90015384, UCP1; Lot no: 90015220) (8 pmol/µl) hidroliz problu primerler kullanılarak yapıldı. Reaksiyonlar 10 µl toplam hacimde hazırlandı. Bunun için 5 µl Master Mix, 0,5 µl Real Time Ready Mix, 2 µl PCR kalitesinde su ve 2,5 µl cDNA olacak şekilde hazırlandı. Çalışmada her örnek için 3 tekrar yapıldı. PZR şartları firmanın önerdiği şekilde yapıldı; ilk denaturasyon 95°C’de 10 dakika, ikinci denaturasyon 95°C’de 10 saniye, bağlanma 60°C’de 30 saniye ve polimerizasyon 72°C’de 1 saniye olarak oluşturuldu ve 55 döngü tekrarlandı. Tablo 3.2’de dizilimleri ve büyüklükleri verilen primerler TRH ve UCP1 gen ifadelerinin analizinde kullanıldı.

**Tablo 3.2.** β-Aktin, TRH ve UCP1 genine ait primer dizilimleri

Gen adı	Gen dizisi (Forward, reverse)	Sekans no*	Ürün büyüklüğü**
β-Aktin	F:CTGGCTCCTAGCACCATGA R:TAGAGCCACCAATCCACACA	NM_031144.3	76 bp
TRH	F: 5' AGCTCAGCATCTTGGAAAGC 3' R: 5' CCAGCAGCAACCAAGGTC 3'	NM_013046.3	76 bp
UCP1	F: 5' GCCTCTACGATACGGTCCAA 3' R: 5' TCTGACCTTCACCACCTCTGT 3'	NM_012682.2	140 bp

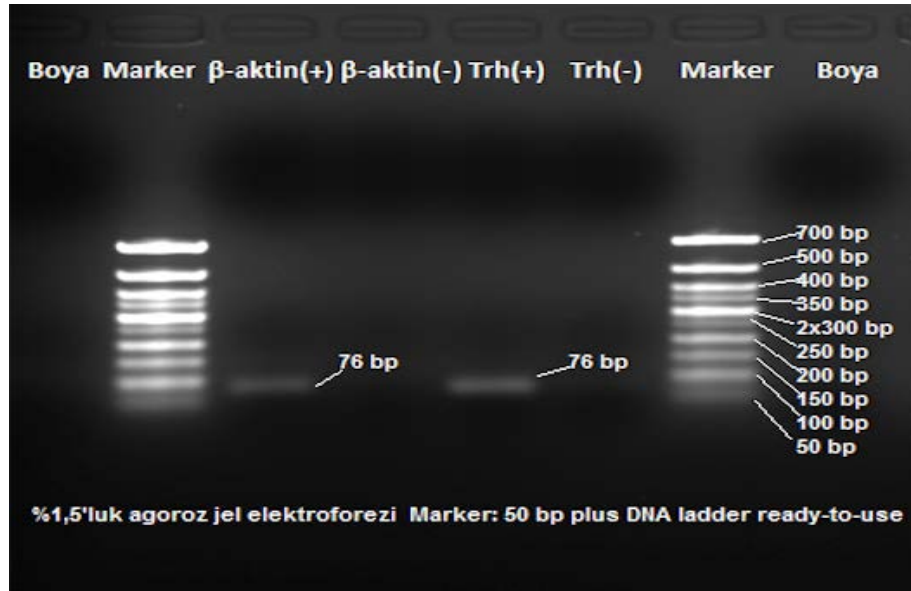
(\* NCBI Referans sekans numarası, \*\* Beklenen Primer PCR ürün (amplifikasyon ürünü) büyüklüğü)

Her bir örnekten saflaştırılan RNA’lardan elde edilen cDNA’lar, β-aktin, TRH ve genlerine özgü primerler kullanılarak gerçek zamanlı PZR ile çoğaltıldı (Şekil 3.9). TRH gen ifadesindeki değişimler β-aktin genine oranlanarak belirlendi.



**Şekil 3.9.**  $\beta$ -aktin ve TRH cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri

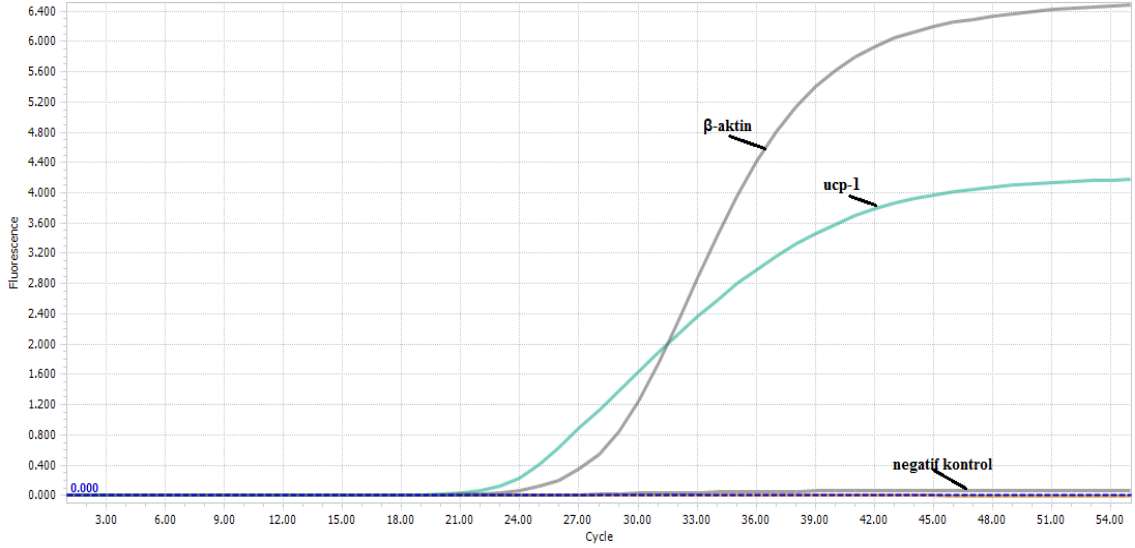
Primer bağlanmasının özgünlüğünü kontrol etmek için  $\beta$ -aktin ve TRH cDNA'ları kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PZR sonrası örnekler agaroz jelde yürütüldü ve görüntüledi. Görüntülemenin sonucunda her iki gen için de tek ve istenilen boyda bir DNA bandı oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10.**  $\beta$ -aktin ve TRH cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü (DNA standardı olarak 50 bp DNA Marker kullanıldı. Bioron, Almanya; Katalog no: 304007)

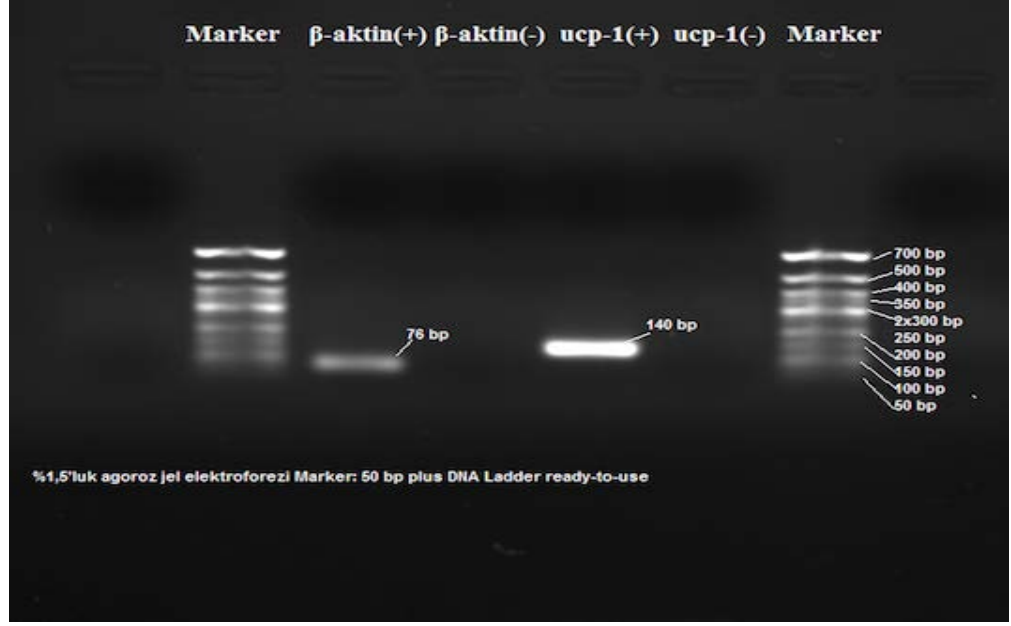


Her bir örnekten saflaştırılan RNA'lardan elde edilen cDNA'lar,  $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) genlerine özgü primerler kullanılarak gerçek zamanlı PZR ile çoğaltıldı (Şekil 3.11) ve UCP1 gen ifadesindeki değişimler  $\beta$ -aktin genine oranlanarak belirlendi.



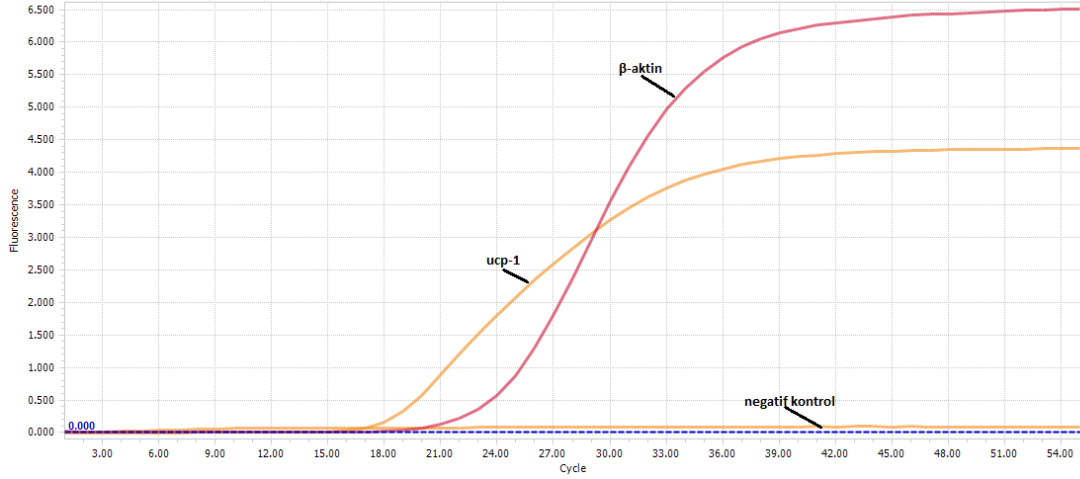
**Şekil 3.11.**  $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri

Primer bağlanmasının özgünlüğünü kontrol etmek için  $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) cDNA'ları kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PZR sonrası örnekler agaroz jelde yürütüldü ve görüntüledi. Görüntülemenin sonucunda her iki gen için de tek ve istenilen boyda bir DNA bandı oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.12).



**Şekil 3.12.**  $\beta$ -aktin ve UCP1 (BYD) cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü (DNA standartı olarak 50 bp DNA Marker kullanıldı. Bioron, Almanya; Katalog no: 304007)

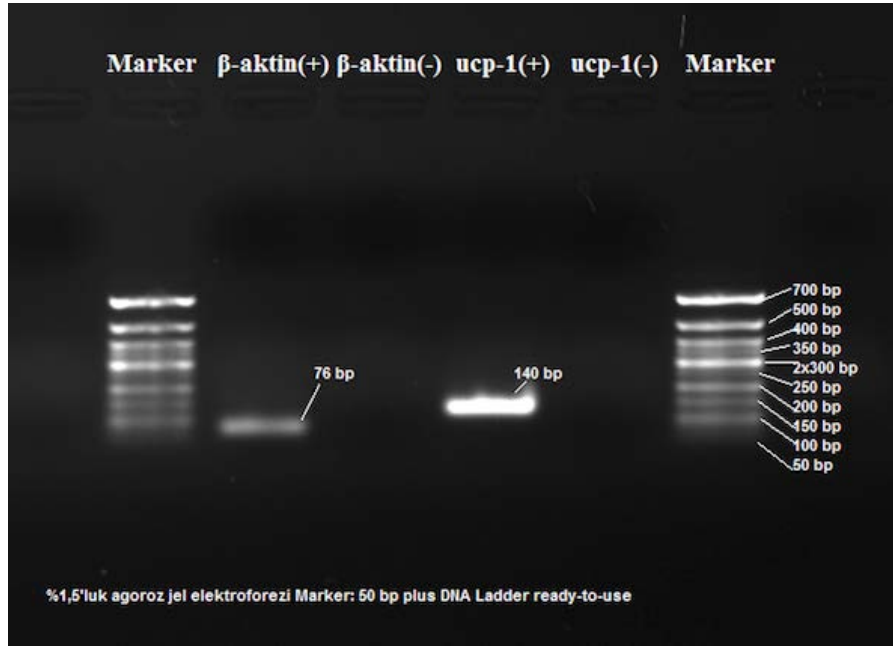
Her bir örnekten saflaştırılan RNA'lardan elde edilen cDNA'lar,  $\beta$ -aktin ve UCP1 (KYD) genlerine özgü primerler kullanılarak gerçek zamanlı PZR ile çoğaltıldı (Şekil 3.13) ve UCP1 gen ifadesindeki değişimler  $\beta$ -aktin genine oranlanarak belirlendi.



**Şekil 3.13.**  $\beta$ -aktin ve UCP1 (kahvrenge yağ doku) cDNA'larının gerçek zamanlı PZR sırasında oluşan çoğalım eğrileri

Primer bağlanmasının özgünlüğünü kontrol etmek için  $\beta$ -aktin ve UCP1 (KYD) cDNA'ları kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PZR sonrası örnekler agaroz jelde

yürütüldü ve görüntüledi. Görüntülemenin sonucunda her iki gen için de tek ve istenilen boyda bir DNA bandı oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.14).



**Şekil 3.14.**  $\beta$ -aktin ve UCP1 (KYD) cDNA'larının PZR'deki çoğalımının agaroz jel elektroforez görüntüsü (DNA standartı olarak 50 bp DNA Marker kullanıldı. Bioron, Almanya; Katalog no: 304007)

### 3.8. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS statistics version 22.0 for Windows paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Hipotalamik TRH ve yağ dokusu UCP1 mRNA değerleri normal dağılım göstermediğinden ( $p < 0.005$ ), gruplar Kruskal Wallis testi ile analiz edildi. Daha sonra çoklu karşılaştırmalarda Conover testi kullanıldı. Sonuçlar ortanca (en küçük-en büyük) olarak verildi ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Serum T3 ve T4 seviyelerinin belirlenmesinde One Way Anova testi ve Post hoc olarak da Tamhane testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verildi ve serum T3 seviyesi için  $p < 0.05$  değeri serum T4 seviyesi için  $p < 0.001$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.. Yem tüketimi ve vücut ağırlığının belirlenmesinde Wilcoxon, post hoc olarak da Bonferroni testi kullanıldı. İstatistiksel olarak 100 gr vücut ağırlığı başına yem tüketimi için  $p < 0.001$ , % vücut ağırlığı değişimi için  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. İcv FGF21 Uygulanmasının Hipotalamik TRH mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi

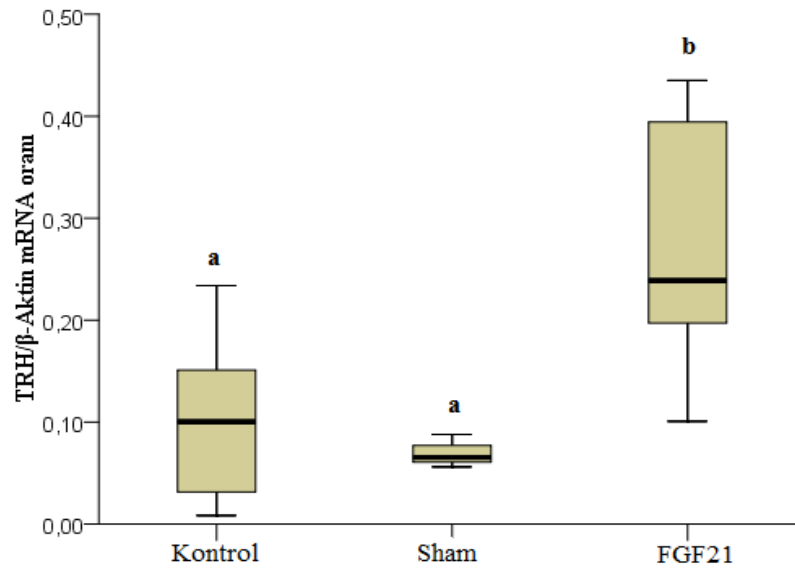
FGF21' in yedi günlük infüzyonu sonrasında hayvanların hipotalamus dokusundaki TRH mRNA ifade oranlarında meydana gelen değişimler Tablo 4.1'de; gruplar arasındaki farklılıklar Şekil 4.1' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Merkezi FGF21 infüzyonunun hipotalamik TRH mRNA ifade düzeyi üzerine etkisi (n=10)

	Kontrol	Sham Kontrol	FGF21
<b>TRH/ <math>\beta</math>-Aktin mRNA oranı</b>	0.100 (0.0085-0.234) <sup>a</sup>	0.0653 (0.056-0.088) <sup>a</sup>	0.2389 (0.1-0.435) <sup>b</sup>

(Sütunlarda farklı harfi taşıyan değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır p<0.05)

Kontrol ve sham grupların karşılaştırılmasında hipotalamik TRH mRNA ifadeleri bakımından iki grup arasında herhangi bir farklılığın olmadığı belirlendi. FGF21 uygulanan grup ile kontrol ve sham grupları TRH mRNA seviyeleri bakımından karşılaştırıldığında, FGF21 uygulanan grubun TRH mRNA düzeylerinin hem kontrol hem de sham gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi (p<0.05).



**Şekil 4.1.** FGF21 infüzyonunun grupların TRH mRNA ifadeleri üzerine etkileri

(Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır p<0.05)

#### 4.2. İcv FGF21 Uygulanmasının Serum T3 ve T4 Seviyeleri Üzerine Etkileri

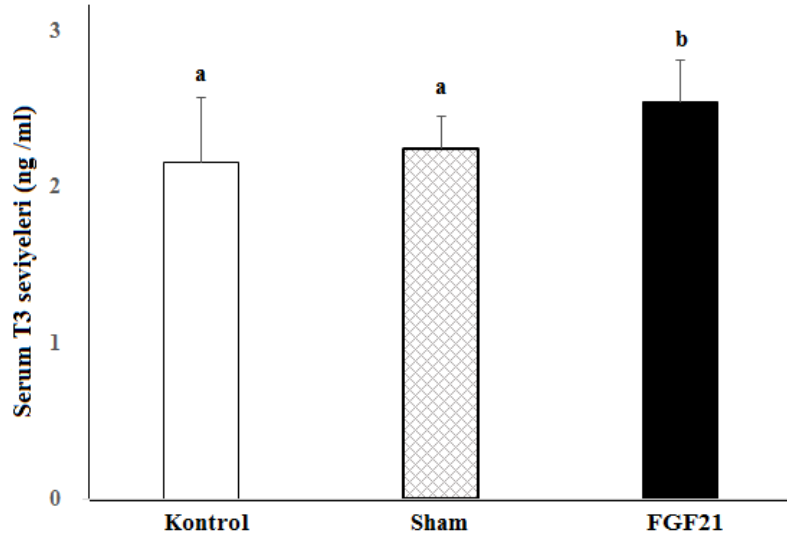
FGF21 infüzyonu sonrası grupların serum T3 ve T4 hormon düzeyleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Merkezi FGF21 infüzyonunun serum T3 ve T4 hormon düzeyleri üzerine etkisi (n=10)

	Kontrol	Sham Kontrol	FGF21
<b>T3 (ng/ml)</b>	2.15±0.42 <sup>a</sup>	2.25±0.20 <sup>a</sup>	2.54±0.35 <sup>b</sup>
<b>T4 (pg/ml)</b>	2.31±0.19 <sup>a</sup>	2.65±0.08 <sup>b</sup>	2.94±0.09 <sup>c</sup>

(Satırlarda farklı harfi taşıyan değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır. T3 için p<0.05, T4 için p<0.001)

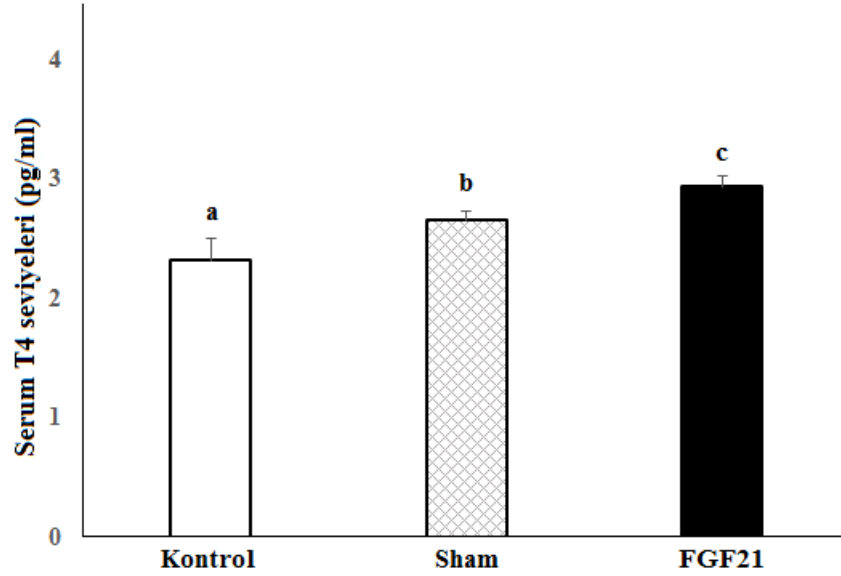
Merkezi FGF21 infüzyonu sonrasında grupların serum T3 düzeyleri arasındaki karşılaştırmalar Şekil 4.2’ de gösterilmiştir. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda sham ve kontrol grubu arasında herhangi bir anlamlı fark gözlenmezken FGF21 uygulanan grubun serum T3 seviyelerinin hem kontrol hem de sham grubundaki hayvanların serum T3 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu görüldü (p<0.05).



**Şekil 4.2.** FGF21 infüzyonunun grupların serum T3 hormon seviyesi üzerine etkisi

(Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır p<0.05)

Çalışmada kullanılan gruplar serum T4 hormon seviyeleri bakımından kıyaslandığında, sham grubun hormon seviyesinin kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlemlendi ( $p<0.001$ ). Yedi gün süreyle FGF21 infüzyonu yapılan gruptaki hayvanların serum T4 düzeyinin ise hem kontrol hem de sham grubunda bulunan sıçanlara göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ; Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** FGF21 infüzyonunun grupların serum T4 hormon seviyesi üzerine etkisi  
(Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır  $p<0.001$ )

#### 4.3. İcv FGF21 Uygulanmasının Beyaz Yağ Doku UCP1 mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi

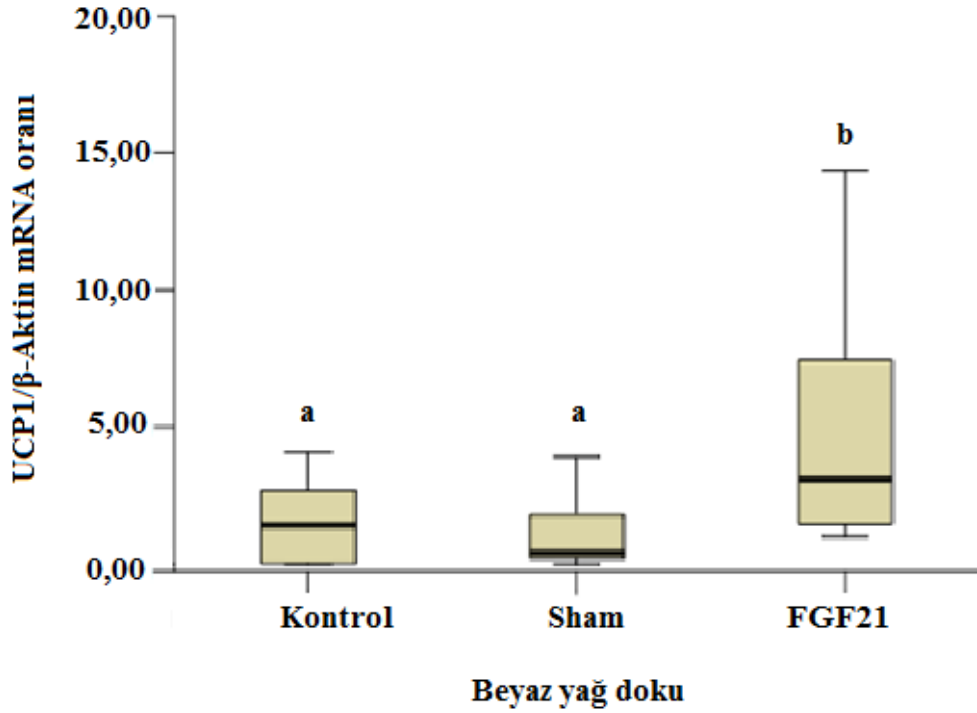
FGF21' in yedi günlük infüzyonu sonrasında hayvanların BYD' deki UCP1 mRNA ifade oranlarında meydana gelen değişimler Tablo 4.3'te; gruplar arasındaki farklılıklar Şekil 4.4' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** Merkezi FGF21 infüzyonunun beyaz yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi (n=10)

	Kontrol	Sham Kontrol	FGF21
<b>UCP1/ <math>\beta</math>-Aktin mRNA oranı</b>	1.417 (0.002-4.075) <sup>a</sup>	0.4 (0.0001-5.23) <sup>a</sup>	3.08 (1.01-20.81) <sup>b</sup>

(Sütunlarda farklı harfi taşıyan değerler birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır  $p<0.05$ )

Kontrol ve sham grupların karşılaştırılmasında beyaz yağ doku UCP1 mRNA ifadeleri bakımından iki grup arasında herhangi bir farklılığın olmadığı belirlendi. FGF21 uygulanan grup ile kontrol ve sham grupları beyaz yağ doku UCP1 mRNA seviyeleri bakımından karşılaştırıldığında, FGF21 uygulanan grubun UCP1 mRNA düzeylerinin hem kontrol hem de sham gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.4.** FGF21 infüzyonunun grupların beyaz yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi

(Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır  $p<0.05$ )

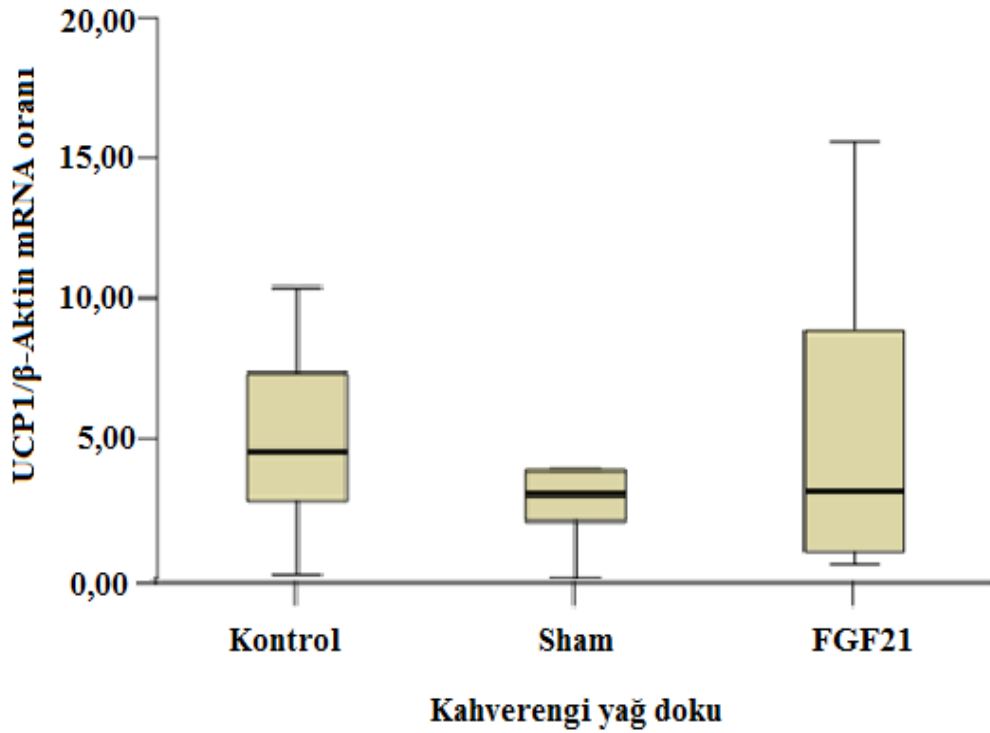
#### **4.4. İcv FGF21 Uygulamasının Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi**

FGF21' in yedi günlük infüzyonu sonrasında hayvanların KYD' deki UCP1 mRNA ifade oranlarında meydana gelen değişimler Tablo 4.4'te; gruplar arasındaki farklarda Şekil 4.5' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.4.** Merkezi FGF21 infüzyonunun kahverengi yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi

	<b>Kontrol</b>	<b>Sham Kontrol</b>	<b>FGF21</b>
<b>UCP1/ <math>\beta</math>-Aktin mRNA oranı</b>	9.04 (0.3-20.71)	6.029 (0.0021-22.46)	6.21 (1.0-31.15)

İcv FGF21 uygulaması sonrasında hayvanların KYD' deki UCP1 mRNA seviyesi üzerine etkileri Şekil 4.6' da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonrasında kontrol, sham ve FGF21 uygulanan grupta yer alan hayvanların kahverengi yağ doku UCP1 mRNA ifadeleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.

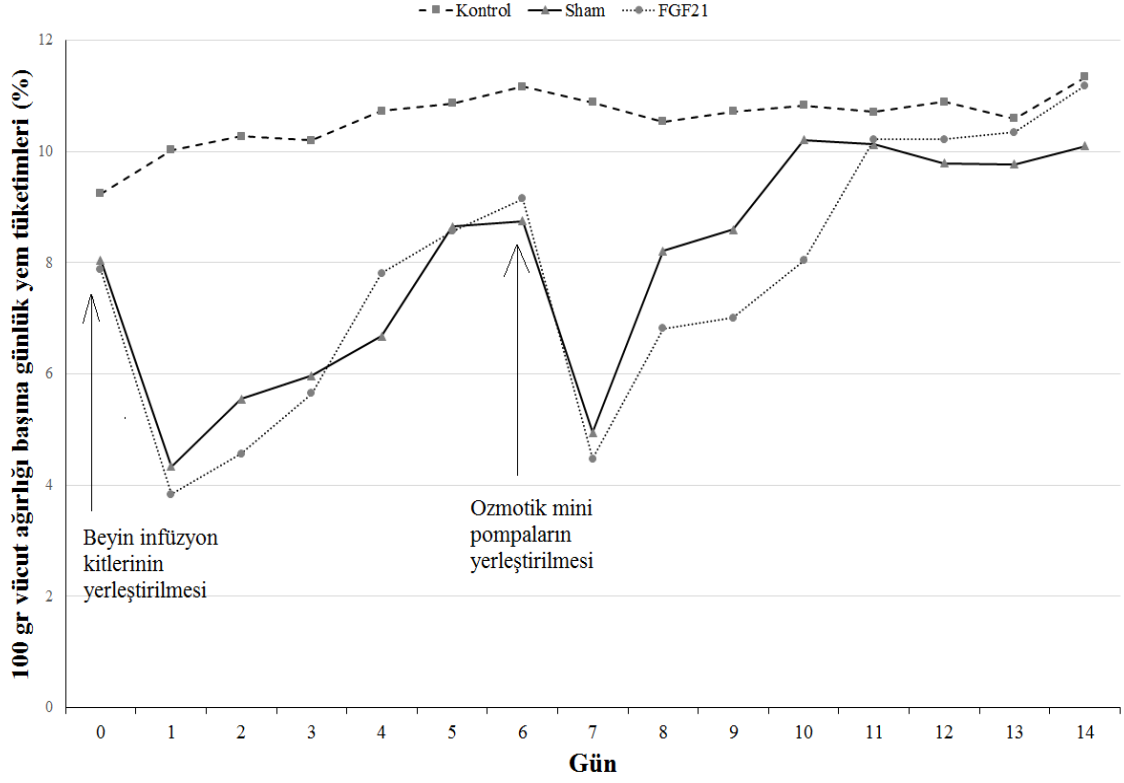


**Şekil 4.5.** FGF21 infüzyonunun grupların kahverengi yağ doku UCP1 mRNA ifadesi üzerine etkisi



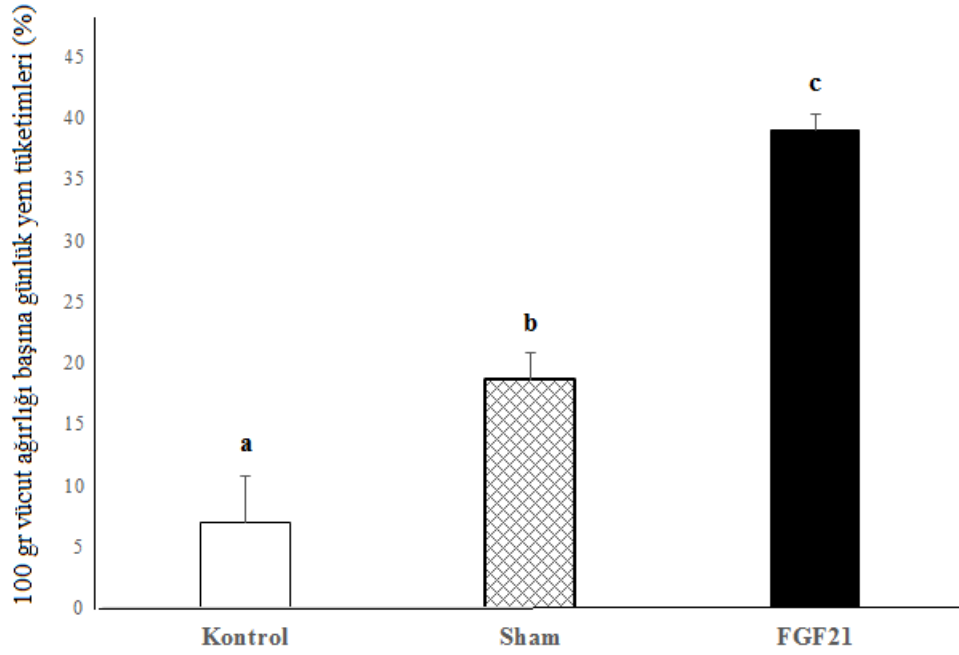
#### 4.5. İcv FGF21 Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkisi

Hayvanların 100 gram vücut ağırlığı başına günlük yem tüketimleri Şekil 4.6' da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. İcv FGF21 uygulamasının deney süresince kontrol, sham ve deney grubunun yem tüketimi üzerine etkisi

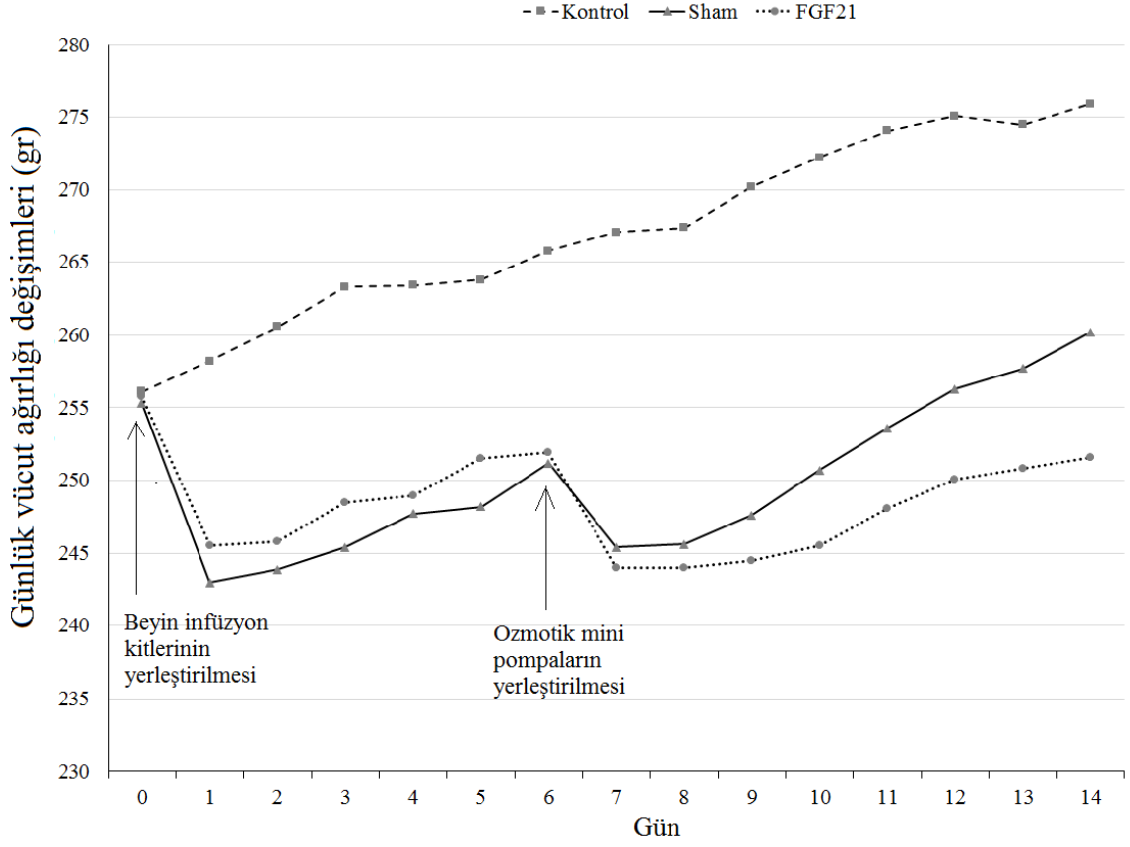
İcv FGF21 uygulamasını takiben hayvanların 100 gr vücut ağırlığı başına tükettikleri yem miktarındaki değişimler % olarak hesaplandı. Hesaplamalar sonucunda gruplar arasında yem tüketimi bakımından yapılan kıyaslamalarda, sham grubunun kontrole göre yüksek olduğu tespit edildi ( $p < 0.001$ ). FGF21 uygulanan grupta ise 100 gr canlı ağırlık başına yem tüketiminin hem sham hem de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu belirlendi ( $p < 0.001$ ).



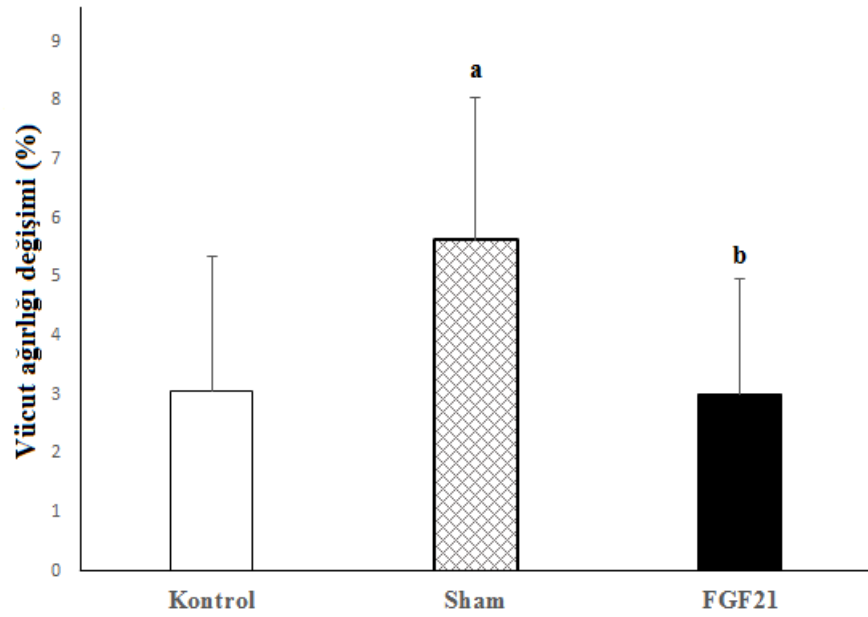
**Şekil 4.7.** İcv FGF21 uygulaması sonrasında grupların yem tüketimleri  
(Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır  $p<0.001$ )

#### 4.6. İcv FGF21 Uygulamasının Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi

Deney süresince (15 gün) hayvanların vücut ağırlığındaki değişimler Şekil 4.8’ de gösterilmiştir. FGF21 infüzyonunu takiben grupların vücut ağırlıklarındaki % değişim bakımından yapılan karşılaştırmalarda sham ve FGF21 grubunda kontrole göre anlamlı herhangi bir değişiklik gözlenmedi. FGF21 infüzyonu yapılan grup ile sham arasında yapılan kıyaslamada ise FGF21 uygulanan grubun vücut ağırlığındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 4.9;  $p<0.05$ ).



**Şekil 4.8.** İcv FGF21 uygulamasının deney süresince kontrol, sham ve deney grubunun vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisi



**Şekil 4.9.** İcv FGF21 uygulamasının grupların vücut ağırlığı üzerine etkisi (Grafiklerde farklı harfi taşıyan gruplar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır  $p < 0.05$ )

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Icv FGF21 Uygulamasının TRH Gen İfadesi, Serum T3 ve T4 Hormon Seviyeleri Üzerine Etkisi

Beslenme ve enerjinin korunması-kullanılması beyinde özelleşmiş bölgeler ve bu bölgelere gelen endokrin ve sinirsel sinyaller ile kontrol edilir (139). Enerji homeostazisi ve beslenme davranışının kontrolünün düzenlenmesinin beyin hipotalamus bölgesinde özellikle de paraventriküler ve suprakiazmatik nukleus gibi bölümlerinde gerçekleştiği bilinmektedir (140-143). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da FGF21' in reseptörünün ve ko-reseptörünün bu alanlarda bol miktarda bulunduğu gösterilmiş olması, FGF21' in besin alımı, enerji homeostazisi ve endokrin sinyallerin oluşmasında anahtar rol oynayabileceği görüşüne destek sağlamaktadır (3, 144). FGF21' in etkisini sergileyebilmesi için gerekli olan ko-reseptör  $\beta$ -klothonun da pankreas ve özellikle de BYD ve KYD' deki varlığının gösterilmesi, FGF21' in beslenme ve enerji homeostazisinin düzenlenmesinde görev aldığı fikrini oldukça güçlü bir hale getirmektedir (145, 146). Bugüne kadar FGF21' in besin alımı, enerji harcanması ve kilo kaybı gibi durumlar üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, FGF21' in besin alımını değiştirmeden vücut ağırlığını azalttığı birçok kez rapor edilmiştir (147, 148). Yapılan deneysel çalışmalarda, FGF21' in hayvanların yem tüketimi artırmasına karşın vücut ağırlığında azalmaya sebep olması, enerji harcanmasının artmasına sebep olduğunun bir işareti olarak kabul edilmiştir (149-151). Yapılan birçok çalışmada da, FGF21' in kan dolaşımındaki glikozun adipositlere alınımını artırdığı ve adipositlere alınan glikozun depolanması yerine mitokondride kullanımını teşvik ettiği rapor edilmiştir (152, 153).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte tiroit hormonlarının ve ekzojen olarak uygulanan FGF21' in ortak spesifik dokuları hedef alarak enerji harcanmasını artırdığı ve metabolizmayı hızlandırdığı bilinmektedir (154). Ancak enerji homeostazisinin kontrolü üzerinde FGF21 ve tiroit hormonları arasındaki ilişkinin/etkileşimin nasıl olduğu tam olarak ortaya konulamamıştır. FGF21 ve tiroit hormonları arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada diyetle indüklenmiş obez farelere iki hafta süresince subkutan (sc) olarak FGF21 uygulanması sonrası serum TSH, T3 ve T4 seviyeleri incelenmiş olup FGF21' in hayvanların serum TSH seviyelerini etkilemeksizin serum T3 ve T4 seviyelerini doz bağımlı olarak azalttığı bildirilmiştir (32). FGF21 knock-out

farelere tiroit hormonunun uygulandığı; hipotiroitli farelere de FGF21' in uygulandığı bir çalışmada, tiroit hormonu uygulamasının FGF21 knock-out farelerin karaciğerinde transkripsiyonel olarak FGF21 ifadesini artırdığı, FGF21 uygulamasının ise hipotiroitli farelerde serum tiroit hormonları seviyelerini azalttığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak hem FGF21' in hem de tiroit hormonlarının farelerde enerji harcanması ve lipid kullanımını artırdığı ancak aralarındaki ilişkinin ne olduğunun araştırılmasının gerektiği bildirilmiştir (155). Bir diğer çalışmada ise hipotiroitli kişilerde plazma FGF21 seviyesi incelenmiş olup, bu kişilerde FGF21 seviyesinin yüksek olduğu ayrıca plazma FGF21 seviyesi ile serum TSH seviyesi arasında pozitif, serum T4 seviyesi ile de negatif bir lineer ilişkinin olduğu rapor edilmiştir (156). Tiroit hormonunun karaciğerde FGF21 ifadesi üzerine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada da hem normal hem de PPAR $\alpha$  knock-out farelere ip olarak T3 uygulanmış ve normal farelerin karaciğerlerinde FGF21 ifadesinin doz bağımlı olarak arttığı; BYD' deki FGF21 ifadesinin ise baskılandığı belirlenmiştir. PPAR $\alpha$  knock-out farelerde ise hiçbir etki gözlenmemiştir (157). Hem *wild type* hem de FGF21 knock-out farelere T3 uygulanmasını takiben elde edilen sonuçlar tiroit hormonu uygulamasının ne farelerin lipid profilinde ne de FGF21' in karaciğerdeki ifadesinde değişikliğe neden olmadığını göstermiş olup, T3' ün FGF21' in karaciğerdeki ifadesi için elzem olmadığını ortaya koymuştur (158).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde FGF21' in hipotalamik düzeyde etkilerini araştıran çalışmaların literatürde mevcut bulunmadığı görülmektedir. Bu çalışmada FGF21' in icv uygulaması sonrasında hipotalamus-hipofiz-tiroit aksında meydana gelecek muhtemel etkilerin belirlenmesine çalışıldı. Çalışma sonuçlarına göre yedi günlük icv FGF21 uygulaması sonrası hayvanların TRH mRNA seviyesinin kontrol grubundaki hayvanlara oranla yaklaşık 2,5 kat, sham grubundaki hayvanlara kıyasla da yaklaşık 3 kat yüksek olduğu görüldü.

Yapılan çalışmalarda FGF21 ile tiroit hormon seviyeleri arasında karmaşık bir feed-back sisteminin olduğu, FGF21 ile tiroit hormonlarının doğrudan veya dolaylı yoldan birbirlerini etkilediği ifade edilmektedir (155). Bu çalışmalarda genel itibariyle sc veya ip yolla tiroit hormonları uygulanıp FGF21 seviyesi incelenmiş veya FGF21 uygulanıp tiroit hormonlarının seviyesi belirlenmiştir. Bu çalışma merkezi FGF21 uygulaması sonrasında TRH mRNA, serum T3 ve T4 hormon seviyelerinde meydana gelen değişimlerle ilgili ilk bulguları sağlaması bakımından önemlidir. Çalışmamızın sonucunda meydana gelen hem hipotalamik TRH mRNA seviyelerindeki artışlar hem de serum T3 ve T4 seviyelerindeki artışlar, FGF21 uygulamasının merkezi ve periferel

düzye de tiroit aksı üzerinde pozitif yönlü etkisinin olduğunu göstermektedir.

## **5.2. İcv FGF21 Uygulamasının Beyaz ve Kahverengi Yağ Doku UCP1 mRNA İfadesi Üzerine Etkisi**

FGF21 mitokondriyal biyogenezi oluşturan genleri transkripsiyon seviyesinde etkileyerek enerji harcanmasını indükler. BYD ve KYD' ler enerji depolanması ve harcanması bakımından oldukça aktif dokulardır. FGF21 ko-reseptörü olan  $\beta$ -Klotho' nun BYD ve KYD' de fazla miktarda bulunması bu dokuların FGF21 için hedef olduğuna işaret etmektedir (159). Kronik FGF21 uygulamasının kan glikozunun adipositlere alınımını artırdığı, BYD ve KYD' de mitokondriyal biyogenezi ve lipid oksidasyonunu indüklediği bilinmektedir (160, 161). Sistemik olarak FGF21 verilmesinin serum trigliserid, serbest yağ asitleri ve LDL kolesterol seviyesini azalttığı yağ dokuda lipogenezi baskıladığı ve enerji elde etmek için glikoz yerine yağ asidi kullanımını teşvik ettiği bildirilmiştir (162, 163). FGF21 uygulamasının enerji harcanmasının biyobelirteci olarak kabul edilen UCP1 geninin hem BYD hem de KYD' de ifadesini artırdığı rapor edilmiştir. FGF21' in UCP1 geninin transkripsiyon faktörü olan PGC1- $\alpha$ ' nın ifade seviyesini artırmak suretiyle mitokondride UCP1 mRNA ifadesini artırdığı ifade edilmiştir (42).

Tiroit hormonları enerji homeostazisi, glikoz ve lipit metabolizması üzerine birtakım etkilere sahiptir (164). Tiroit hormonları BYD ve KYD' lerdeki etkinliğini adrenerjik sinir sistemi aracılığıyla veya doğrudan bu dokulardaki ilgili genleri transkripsiyon seviyesinde etkileyerek gerçekleştirir (165). Yapılan çalışmalar, tiroit hormonu metabolizmasından özellikle T3 hormonunun enerji harcanmasında görevli mitokondriyal genleri transkripsiyonel seviyede uyardığı ve böylelikle ATP üretimini düzenlediğini göstermektedir (166, 167). Hem hücre kültürü hem de deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda ekzojen T3 uygulamasının UCP1 mRNA düzeyini doz bağımlı olarak artırdığı bildirmişlerdir (118, 168). Başka bir çalışmada ise 3T3-L1 adiposit hücre hattına uygulanan T3'ün TR $\beta$  reseptörünü hedef alarak UCP1 mRNA seviyesini artırdığı rapor edilmiştir (169). Tiroitektomi sonrası Levo-T4 tedavisi gören bireylerin abdominal ve supraskapular KYD' lerinde UCP1 mRNA seviyesinde artış meydana geldiği bildirilmiştir (119). Aynı şekilde tiroitektomi yapılan sıçanlara T3 uygulaması sonrası KYD' de UCP1 mRNA seviyesinin arttığı gösterilmiştir (170). Son

veriler de göz önünde bulundurulduğunda yağ dokudaki UCP1 ifadesinin tiroit hormonları aracılığıyla düzenlendiği anlaşılmaktadır.

FGF21' in UCP1 gen seviyesi üzerine olan etkilerin incelendiği ilk çalışma 2012 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada *wild type* ve FGF21 knock-out farelere ip olarak 8 günlük FGF21 uygulanmış, BYD ve KYD' lerdeki UCP1 mRNA ifadesi incelenmiş ve doz bağımlı olarak FGF21'in *wild type* farelerde UCP1 mRNA seviyesi artırırken knock-out farelerde istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığı bildirilmiştir (171). Yüksek yağlı diyetle indüklenmiş farelere iki hafta süresince FGF21 infüzyonu yapılmış ve infüzyon sonrasında BYD ve KYD' de UCP1 mRNA' sının arttığı gösterilmiştir (32). Fisher ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 3 günlük sc FGF21 infüzyonunun hem BYD hem de KYD' de UCP1 gen ifadesini artırdığını rapor etmişlerdir (6). Yüksek yağlı diyetle indüklenmiş obez farelere FGF21 geni transfer edilmiş ve FGF21'in KYD' de termogenezis ile ilişkili birçok genin özellikle de UCP1 mRNA ifadesini artırdığı bildirilmiştir (148). UCP1 knock-out farelere sc FGF21 uygulanan her iki çalışmada da glikoz, trigliserid, LDL kolesterol seviyelerinin azaldığı, yem tüketimini etkilemeden ve vücut ağırlığı azaltıp enerji harcanmasını artırdığı gösterilmiştir. Ancak çalışma süresince UCP1 geninin ifadesi değişmediğinden, FGF21' in bu metabolik etkileri gösterebilmesi için termogenezis ile ilişkili UCP1 geninin gerekli olmadığını ifade etmişlerdir (38, 172). Termonötrali'te *wild type* ve UCP1 knock-out olan fareler serum FGF21 seviyesi ve yağ doku FGF21 mRNA ifadesi bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı ancak soğuğa maruz kalmayla birlikte UCP1 knock-out farelerin serum FGF21 seviyesinin ve yağ dokuda FGF21 mRNA seviyesinin arttığı bildirilmiştir (149).

Çalışmamız için FGF21 uygulanması sonrası BYD ve KYD' deki UCP1 mRNA ifadesinin incelendiği ilk çalışmalardan bir tanesi olması bakımından önemlidir. Yedi günlük FGF21 infüzyon sonrasında uygulama grubundaki hayvanların BYD UCP1 mRNA seviyelerinin kontrol ve sham grubundaki hayvanlara oranla yaklaşık beş kat daha yüksek olduğu belirlendi. KYD UCP1 mRNA seviyesi bakımından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark gözlenmedi.

Bu çalışmanın sonucuna göre merkezi FGF21 uygulanmasının tiroit hormonları aracılığıyla BYD' de mitokondriyal oksidatif kapasitenin biyobelirteci olan UCP1 mRNA seviyesini artırarak BYD' de termogenezisi ve enerji harcanmasını artırdığını söyleyebiliriz. BYD' de UCP1 mRNA seviyesinin yüksek olması mitokondriyal aktivitenin arttığına, enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin kullanıldığını ve daha fazla

oksijen tüketildiğinin dolayısıyla da enerji harcanmasının arttığı bir göstergesi iken KYD' deki UCP1 mRNA seviyesinde meydana gelen değişiklikler, vücut sıcaklığının korunması (titremesiz termogenez) hakkında bilgi vermektedir (173, 174).

### **5.3. Icv FGF21 Uygulamasının Yem Tüketimi ve Vücut Ağırlığı Üzerine Olan Etkileri**

FGF21' in sempatik sinir sistemi aktivasyonu, fiziksel aktiviteyi veya UCP1 gen ifadesini artırarak enerji harcanmasını artırması aracılığıyla vücut ağırlığını azalttığı birçok kez gösterilmiştir (159, 175, 176). Samms ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada diyetle indüklenmiş obez ve UCP1 knock-out farelere sc yedi günlük FGF21 uygulamasının yem tüketimi üzerine anlamlı bir etki etmediğini ancak vücut ağırlığını azalttığını bildirmişlerdir (172). 2015 yılında yapılan bir başka çalışmada ise obez sıçanlarda FGF21 enjeksiyonunun yem tüketimini etkilemeden vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir (177). Sibiry hamsterlarına sc ozmotik mini pompalarla 14 günlük FGF21 uygulaması sonrasında yem tüketiminin ve vücut ağırlığının azaldığı rapor edilmiştir (40). Diyetle indüklenmiş obez sıçanlara icv FGF21 uygulamasının gıda alımını artırdığı ve vücut ağırlığında bir değişiklik göstermediği bildirilmiştir (14). Kharitonenkov ve arkadaşları diyabetik maymunlara sc FGF21 uygulamasının yem tüketimi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığını ancak vücut ağırlığını azalttığını göstermişlerdir (31). Xu ve arkadaşları diyetle indüklenmiş obez farelerde FGF21' in günlük gıda alımını azaltmamasına rağmen doz bağımlı olarak fiziksel aktivite ve enerji harcanmasını artırarak vücut ağırlığı azalttığını göstermişlerdir (34). Yapılan başka bir çalışmada ise sc ozmotik mini pompalarla FGF21'in infüzyonunun total kalori alımını azaltmadan veya fiziksel aktiviteyi etkilemeden doz bağımlı olarak diyetle indüklenmiş obez ve *ob/ob* farelerin vücut ağırlığını %20 oranında azalttığı belirtilmiştir (32).

Biz de çalışmamızda deney süresince hayvanların günlük yem tüketimini ve vücut ağırlığını takip edip kayıt altına aldık. Icv FGF21 infüzyonu yapılan hayvanların 100 gr vücut ağırlığı başına düşen yem tüketimlerinin sham ve kontrol grubuna göre arttığı, vücut ağırlığının yüzde değişiminin ise sadece sham grubuna göre anlamlı olarak azaldığı belirlendi. Literatürde merkezi FGF21 infüzyonu sonrası gıda alımı ve vücut ağırlığındaki değişimin araştırıldığı sadece bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada da



FGF21 infüzyonunun gıda alımını artırdığı ancak vücut ağırlığını değiştirmediği bildirilmiştir (14). Çalışmamız yem tüketimi bakımından bu çalışma ile paralellik göstermekle beraber vücut ağırlığı bakımından farklılık arz etmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak merkezi FGF21 uygulamasının hipotalamusta TRH, periferde ise T3 ve T4 hormon seviyelerinin artırarak, etkisini merkezi düzeyde başlatıp tiroit aksını kullanarak metabolizmayı hızlandırdığını söyleyebiliriz. Çalışmamızın sonucunda tiroit aksındaki artışa BYD' de UCP1 gen ifadesinin de eşlik etmesi, tiroit hormonlarının BYD' de mitokondriyi hedef alarak UCP1 gen ifadesini artırdığını ve enerji harcanmasına sebep olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızın sonucunda yem tüketiminin arttığını ancak vücut ağırlığının ise azaldığını tespit ettik. Bu durum, BYD' deki mitokondrilerde seviyesi artan UCP1' in lipid depolarının yıkılmasını teşvik ettiği ve enerji harcanmasını artırdığı; hayvanların yem tüketimini artırmasına rağmen vücut ağırlıklarının artmamasına neden olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile FGF21' in hipotalamus-hipofiz-tiroit aksı ve enerji kullanımı üzerine olan etkilerini kısmen de olsa açıklamaya çalıştık. Çalışma bulguları arasında yer alan serum TSH seviyelerinin belirlenmemiş olması hipotalamus-hipofiz-tiroit aksını hipofizer seviyede eksik bırakmaktadır. Serum TSH seviyesinin de belirlenmesiyle aks üzerine olan etki daha açık bir biçimde ortaya konulabilecektir. Ayrıca çok az bir kısmı bilinen FGF21-tiroit hormonları-enerji homeostazisi arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için kapsamlı ve mekanizmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Lin Y, Xiao YC, Zhu H, Xu QY, Qi L, Wang YB, et al. Serum fibroblast growth factor 21 levels are correlated with the severity of diabetic retinopathy. *Journal of diabetes research*. 2014;2014:929756.
2. Kurosu H, Kuro OM. Endocrine fibroblast growth factors as regulators of metabolic homeostasis. *BioFactors*. 2009;35(1):52-60.
3. Bookout AL, de Groot MH, Owen BM, Lee S, Gautron L, Lawrence HL, et al. FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nature medicine*. 2013;19(9):1147-52.
4. Bass J. Forever (FGF) 21. *Nature medicine*. 2013;19(9):1090-2.
5. Woo YC, Xu A, Wang Y, Lam KS. Fibroblast growth factor 21 as an emerging metabolic regulator: clinical perspectives. *Clinical endocrinology*. 2013;78(4):489-96.
6. Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, et al. FGF21 regulates PGC-1alpha and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes & development*. 2012;26(3):271-81.
7. Guerra C, Roncero C, Porrás A, Fernández M, Benito M. Triiodothyronine induces the transcription of the uncoupling protein gene and stabilizes its mRNA in fetal rat brown adipocyte primary cultures. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(4):2076-81.
8. Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends in genetics : TIG*. 2004;20(11):563-9.
9. Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome biology*. 2001;2(3):REVIEWS3005.
10. Itoh N, Ornitz DM. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *Journal of biochemistry*. 2011;149(2):121-30.
11. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et biophysica acta*. 2000;1492(1):203-6.
12. Xu J, Stanislaus S, Chinookoswong N, Lau YY, Hager T, Patel J, et al. Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant

- mouse models--association with liver and adipose tissue effects. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2009;297(5):E1105-14.
13. Wente W, Efanov AM, Brenner M, Kharitononkov A, Koster A, Sandusky GE, et al. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes*. 2006;55(9):2470-8.
  14. Sarruf DA, Thaler JP, Morton GJ, German J, Fischer JD, Ogimoto K, et al. Fibroblast growth factor 21 action in the brain increases energy expenditure and insulin sensitivity in obese rats. *Diabetes*. 2010;59(7):1817-24.
  15. Lundasen T, Hunt MC, Nilsson LM, Sanyal S, Angelin B, Alexson SE, et al. PPARalpha is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007;360(2):437-40.
  16. Hondares E, Rosell M, Gonzalez FJ, Giralt M, Iglesias R, Villarroya F. Hepatic FGF21 expression is induced at birth via PPARalpha in response to milk intake and contributes to thermogenic activation of neonatal brown fat. *Cell metabolism*. 2010;11(3):206-12.
  17. Galman C, Lundasen T, Kharitononkov A, Bina HA, Eriksson M, Hafstrom I, et al. The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPARalpha activation in man. *Cell metabolism*. 2008;8(2):169-74.
  18. Mai K, Andres J, Biedasek K, Weicht J, Bobbert T, Sabath M, et al. Free fatty acids link metabolism and regulation of the insulin-sensitizing fibroblast growth factor-21. *Diabetes*. 2009;58(7):1532-8.
  19. Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z, Michalsky D, Kasalicky M, Haluzikova D, et al. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clinical endocrinology*. 2009;71(3):369-75.
  20. Andersen B, Beck-Nielsen H, Hojlund K. Plasma FGF21 displays a circadian rhythm during a 72-h fast in healthy female volunteers. *Clinical endocrinology*. 2011;75(4):514-9.
  21. Yu H, Xia F, Lam KS, Wang Y, Bao Y, Zhang J, et al. Circadian rhythm of circulating fibroblast growth factor 21 is related to diurnal changes in fatty acids in humans. *Clinical chemistry*. 2011;57(5):691-700.
  22. Potthoff MJ, Inagaki T, Satapati S, Ding X, He T, Goetz R, et al. FGF21 induces PGC-1alpha and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the

- adaptive starvation response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(26):10853-8.
23. Zhang X, Ibrahimi OA, Olsen SK, Umemori H, Mohammadi M, Ornitz DM. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(23):15694-700.
  24. Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Goetz R, et al. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(18):7432-7.
  25. Suzuki M, Uehara Y, Motomura-Matsuzaka K, Oki J, Koyama Y, Kimura M, et al. betaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Molecular endocrinology*. 2008;22(4):1006-14.
  26. Ito S, Kinoshita S, Shiraishi N, Nakagawa S, Sekine S, Fujimori T, et al. Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of development*. 2000;98(1-2):115-9.
  27. Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell metabolism*. 2007;5(6):426-37.
  28. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell metabolism*. 2007;5(6):415-25.
  29. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *The New England journal of medicine*. 1999;341(4):248-57.
  30. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(6):1627-35.
  31. Kharitonov A, Wroblewski VJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, Tigno XT, et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology*. 2007;148(2):774-81.
  32. Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, et al. Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology*. 2008;149(12):6018-27.

33. Arner P, Pettersson A, Mitchell PJ, Dunbar JD, Kharitonov A, Ryden M. FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes - a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS letters*. 2008;582(12):1725-30.
34. Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, et al. Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*. 2009;58(1):250-9.
35. Schoenberg KM, Giesy SL, Harvatine KJ, Waldron MR, Cheng C, Kharitonov A, et al. Plasma FGF21 is elevated by the intense lipid mobilization of lactation. *Endocrinology*. 2011;152(12):4652-61.
36. Murata Y, Konishi M, Itoh N. FGF21 as an Endocrine Regulator in Lipid Metabolism: From Molecular Evolution to Physiology and Pathophysiology. *Journal of nutrition and metabolism*. 2011;2011:981315.
37. Keipert S, Ost M, Johann K, Imber F, Jastroch M, van Schothorst EM, et al. Skeletal muscle mitochondrial uncoupling drives endocrine cross-talk through the induction of FGF21 as a myokine. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2014;306(5):E469-82.
38. Veniant MM, Sivits G, Helmering J, Komorowski R, Lee J, Fan W, et al. Pharmacologic Effects of FGF21 Are Independent of the "Browning" of White Adipose Tissue. *Cell metabolism*. 2015;21(5):731-8.
39. Zhang Y, Lei T, Huang JF, Wang SB, Zhou LL, Yang ZQ, et al. The link between fibroblast growth factor 21 and sterol regulatory element binding protein 1c during lipogenesis in hepatocytes. *Molecular and cellular endocrinology*. 2011;342(1-2):41-7.
40. Murphy M, Samms R, Warner A, Bolborea M, Barrett P, Fowler MJ, et al. Increased responses to the actions of fibroblast growth factor 21 on energy balance and body weight in a seasonal model of adiposity. *Journal of neuroendocrinology*. 2013;25(2):180-9.
41. Chartoumpakis DV, Habeos IG, Ziros PG, Psyrogiannis AI, Kyriazopoulou VE, Papavassiliou AG. Brown adipose tissue responds to cold and adrenergic stimulation by induction of FGF21. *Molecular medicine*. 2011;17(7-8):736-40.
42. Chau MD, Gao J, Yang Q, Wu Z, Gromada J. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1alpha pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(28):12553-8.

43. Kubicky RA, Wu S, Kharitononkov A, De Luca F. Role of fibroblast growth factor 21 (FGF21) in undernutrition-related attenuation of growth in mice. *Endocrinology*. 2012;153(5):2287-95.
44. Wei W, Dutchak PA, Wang X, Ding X, Wang X, Bookout AL, et al. Fibroblast growth factor 21 promotes bone loss by potentiating the effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(8):3143-8.
45. Wu S, Levenson A, Kharitononkov A, De Luca F. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) inhibits chondrocyte function and growth hormone action directly at the growth plate. *The Journal of biological chemistry*. 2012;287(31):26060-7.
46. Chen W, Hoo RL, Konishi M, Itoh N, Lee PC, Ye HY, et al. Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 2011;286(40):34559-66.
47. Gaich G, Chien JY, Fu H, Glass LC, Deeg MA, Holland WL, et al. The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes. *Cell metabolism*. 2013;18(3):333-40.
48. Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(2):741-6.
49. Elmquist JK, Elias CF, Saper CB. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*. 1999;22(2):221-32.
50. Gilroy AM, MacPherson R, LM. R. *Anatomi Atlası* (C. Cem Denk, H. Hamdi Çelik, Çev). Ankara: Palme Yayıncılık. 2012:598.
51. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. USA: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2000.
52. Szarek E, Cheah PS, Schwartz J, Thomas P. Molecular genetics of the developing neuroendocrine hypothalamus. *Molecular and cellular endocrinology*. 2010;323(1):115-23.
53. <http://musom.marshall.edu/graphicdesign/ibooks/Nervous%20Normal.html>. 11 Temmuz 2015.
54. Caqueret A, Boucher F, Michaud JL. Laminar organization of the early developing anterior hypothalamus. *Developmental biology*. 2006;298(1):95-106.

55. Terry LC. Regulation of thyrotropin secretion by the central epinephrine system. Studies in the chronically cannulated rat. *Neuroendocrinology*. 1986;42(2):102-8.
56. Nillni EA, Sevarino KA. The biology of pro-thyrotropin-releasing hormone-derived peptides. *Endocrine reviews*. 1999;20(5):599-648.
57. Danforth E, Jr., Burger AG. The impact of nutrition on thyroid hormone physiology and action. *Annual review of nutrition*. 1989;9:201-27.
58. Crisanti P, Omri B, Hughes E, Meduri G, Hery C, Clauser E, et al. The expression of thyrotropin receptor in the brain. *Endocrinology*. 2001;142(2):812-22.
59. Yoshida Y, Kawasaki Y, Morikawa N, Tanabe M, Satoh K, Tsukamoto T, et al. [A kinetic study on serum prolactin concentration in the thyrotropin-releasing hormone test]. *Kaku igaku The Japanese journal of nuclear medicine*. 1991;28(6):585-90.
60. Pernicone PJ SB, Horvath E, Kovacs K. Pituitary and Sellar Region. Lippincott-Raven Press. 1997;Histology for Pathologists. 2nd ed.
61. Kayalı H SG, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi. Alfa basım –yayın. 1992(7. Basım).
62. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevler; 2013.
63. Perez-Castro C, Renner U, Haedo MR, Stalla GK, Arzt E. Cellular and molecular specificity of pituitary gland physiology. *Physiological reviews*. 2012;92(1):1-38.
64. Molina PE. Endocrine Physiology. USA: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2004.
65. Dracopoli NC, Rettig WJ, Whitfield GK, Darlington GJ, Spengler BA, Biedler JL, et al. Assignment of the gene for the beta subunit of thyroid-stimulating hormone to the short arm of human chromosome 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986;83(6):1822-6.
66. Rousseau-Merck MF, Misrahi M, Loosfelt H, Atger M, Milgrom E, Berger R. Assignment of the human thyroid stimulating hormone receptor (TSHR) gene to chromosome 14q31. *Genomics*. 1990;8(2):233-6.
67. ZV. K. Tiroit fizyolojisi ve fonksiyon testleri. Ankara: Güneş Kitabevi. 1996;Sayek İ (ed). Temel Cerrahi.(2.baskı.).
68. Bouknight AL. Thyroid physiology and thyroid function testing. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2003;36(1):9-15.
69. Zoeller RT, Tan SW, Tyl RW. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Critical reviews in toxicology*. 2007;37(1-2):11-53.



70. Netter F. İnsan Anatomi Atlası Netter (Meserret Cumhuriyet, Çev.). Ankara Nobel Tıp Kitabevleri. 2011;5. Baskı
71. <http://faculty.orangecoastcollege.edu/mperkins/zoo-review/rat-abdomen/rat-abdomen3.html>. 23 Ağustos 2015.
72. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine reviews*. 2002;23(1):38-89.
73. Kohrle J. Local activation and inactivation of thyroid hormones: the deiodinase family. *Molecular and cellular endocrinology*. 1999;151(1-2):103-19.
74. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Twenty-Sixth Edition. 2003;439-448.
75. Leonard JL, J. K. *Intracellular Pathways of Iodothyronine Metabolism*. Lippincott Williams & Wilkins. 2000;5(631-633).
76. Dunn JT, Dunn AD. Update on intrathyroidal iodine metabolism. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2001;11(5):407-14.
77. Field JB, Dekker A, Titus G, Kerins ME, Worden W, Frumess R. In vitro and in vivo refractoriness to thyrotropin stimulation of iodine organification and thyroid hormone secretion. *The Journal of clinical investigation*. 1979;64(1):265-71.
78. Braverman LE, RD. U. *The thyroid. A fundamental and clinical text*. Werner and Ingber's. 2005;9th ed.;22(22):453-6.
79. Ross DS. Serum thyroid-stimulating hormone measurement for assessment of thyroid function and disease. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2001;30(2):245-64, vii.
80. Glass CK, Holloway JM. Regulation of gene expression by the thyroid hormone receptor. *Biochimica et biophysica acta*. 1990;1032(2-3):157-76.
81. Silva JE, Larsen PR. Pituitary nuclear 3,5,3'-triiodothyronine and thyrotropin secretion: an explanation for the effect of thyroxine. *Science*. 1977;198(4317):617-20.
82. Duckworth WC. Insulin degradation: mechanisms, products, and significance. *Endocrine reviews*. 1988;9(3):319-45.
83. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR. Canine myocardial reperfusion injury. Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circulation research*. 1984;54(3):277-85.

84. Bianco AC, Maia AL, da Silva WS, Christoffolete MA. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. *Bioscience reports*. 2005;25(3-4):191-208.
85. Ribeiro MO, Bianco SD, Kaneshige M, Schultz JJ, Cheng SY, Bianco AC, et al. Expression of uncoupling protein 1 in mouse brown adipose tissue is thyroid hormone receptor-beta isoform specific and required for adaptive thermogenesis. *Endocrinology*. 2010;151(1):432-40.
86. Sainsbury A, Zhang L. Role of the hypothalamus in the neuroendocrine regulation of body weight and composition during energy deficit. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2012;13(3):234-57.
87. McAninch EA, Bianco AC. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2014;1311:77-87.
88. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical biology & medicine*. 1991;11(1):81-128.
89. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1985;53(6):599-623.
90. Janoff A, Carp H. Proteases, antiproteases, and oxidants: pathways of tissue injury during inflammation. *Monographs in pathology*. 1982(23):62-82.
91. Steinhoff KG, Hankir M, Krause K, Tonjes A, Fenske WK, Sabri O, et al. Interaction of thyroid hormone with brown adipose tissue. Lessons learned from PET-CT. *Nuklearmedizin Nuclear medicine*. 2015;54(3):82-7.
92. Obregon MJ. Adipose tissues and thyroid hormones. *Frontiers in physiology*. 2014;5:479.
93. Zechner R, Zimmermann R, Eichmann TO, Kohlwein SD, Haemmerle G, Lass A, et al. FAT SIGNALS--lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling. *Cell metabolism*. 2012;15(3):279-91.
94. Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2011;12(11):722-34.

95. Krauss S, Zhang CY, Lowell BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2005;6(3):248-61.
96. Brand MD. The efficiency and plasticity of mitochondrial energy transduction. *Biochemical Society transactions*. 2005;33(Pt 5):897-904.
97. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological reviews*. 2004;84(1):277-359.
98. Sell H, Deshaies Y, Richard D. The brown adipocyte: update on its metabolic role. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2004;36(11):2098-104.
99. Himms-Hagen J. Brown adipose tissue metabolism and thermogenesis. *Annual review of nutrition*. 1985;5:69-94.
100. Whittle AJ, Lopez M, Vidal-Puig A. Using brown adipose tissue to treat obesity - the central issue. *Trends in molecular medicine*. 2011;17(8):405-11.
101. Villarroya F, Vidal-Puig A. Beyond the sympathetic tone: the new brown fat activators. *Cell metabolism*. 2013;17(5):638-43.
102. Granneman JG. Norepinephrine infusions increase adenylate cyclase responsiveness in brown adipose tissue. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1988;245(3):1075-80.
103. Merklin RJ. Growth and distribution of human fetal brown fat. *The Anatomical record*. 1974;178(3):637-45.
104. Carter BW, Schucany WG. Brown adipose tissue in a newborn. *Proceedings*. 2008;21(3):328-30.
105. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1518-25.
106. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1509-17.
107. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhomerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1500-8.
108. Kozak LP. Brown fat and the myth of diet-induced thermogenesis. *Cell metabolism*. 2010;11(4):263-7.
109. Heaton JM. The distribution of brown adipose tissue in the human. *Journal of anatomy*. 1972;112(Pt 1):35-9.

110. Cohade C, Mourtzikos KA, Wahl RL. "USA-Fat": prevalence is related to ambient outdoor temperature-evaluation with 18F-FDG PET/CT. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2003;44(8):1267-70.
111. Feng B, Zhang T, Xu H. Human adipose dynamics and metabolic health. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1281:160-77.
112. Dulloo AG. The search for compounds that stimulate thermogenesis in obesity management: from pharmaceuticals to functional food ingredients. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2011;12(10):866-83.
113. Rothwell NJ, Stock MJ. Diet-induced thermogenesis. *Advances in nutritional research*. 1983;5:201-20.
114. Tran TT, Kahn CR. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nature reviews Endocrinology*. 2010;6(4):195-213.
115. Warner A, Rahman A, Solsjo P, Gottschling K, Davis B, Vennstrom B, et al. Inappropriate heat dissipation ignites brown fat thermogenesis in mice with a mutant thyroid hormone receptor alpha1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(40):16241-6.
116. Pelletier P, Gauthier K, Sideleva O, Samarut J, Silva JE. Mice lacking the thyroid hormone receptor-alpha gene spend more energy in thermogenesis, burn more fat, and are less sensitive to high-fat diet-induced obesity. *Endocrinology*. 2008;149(12):6471-86.
117. Martinez de Mena R, Scanlan TS, Obregon M-J. The T3 receptor  $\beta$ 1 isoform regulates UCP1 and D2 deiodinase in rat brown adipocytes. *Endocrinology*. 2010;151(10):5074-83.
118. Lee JY, Takahashi N, Yasubuchi M, Kim YI, Hashizaki H, Kim MJ, et al. Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes. *American journal of physiology Cell physiology*. 2012;302(2):C463-72.
119. Skarulis MC, Celi FS, Mueller E, Zemskova M, Malek R, Hugendubler L, et al. Thyroid hormone induced brown adipose tissue and amelioration of diabetes in a patient with extreme insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(1):256-62.
120. Nicholls DG. The physiological regulation of uncoupling proteins. *Biochimica et biophysica acta*. 2006;1757(5-6):459-66.

121. Rial E, Gonzalez-Barroso MM. Physiological regulation of the transport activity in the uncoupling proteins UCP1 and UCP2. *Biochimica et biophysica acta*. 2001;1504(1):70-81.
122. Mozo J, Emre Y, Bouillaud F, Ricquier D, Criscuolo F. Thermoregulation: what role for UCPs in mammals and birds? *Bioscience reports*. 2005;25(3-4):227-49.
123. Jarmuszkiewicz W, Woyda-Ploszczyca A. [Mitochondrial uncoupling proteins: regulation and physiological role]. *Postepy biochemii*. 2008;54(2):179-87.
124. Watanabe M, Yamamoto T, Mori C, Okada N, Yamazaki N, Kajimoto K, et al. Cold-induced changes in gene expression in brown adipose tissue: implications for the activation of thermogenesis. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2008;31(5):775-84.
125. Porter RK. Uncoupling protein 1: a short-circuit in the chemiosmotic process. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2008;40(5):457-61.
126. Azzu V, Jastroch M, Divakaruni AS, Brand MD. The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1797(6-7):785-91.
127. Brondani LA, Assmann TS, Duarte GC, Gross JL, Canani LH, Crispim D. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2012;56(4):215-25.
128. Busiello RA, Savarese S, Lombardi A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. *Frontiers in physiology*. 2015;6:36.
129. Divakaruni AS, Brand MD. The regulation and physiology of mitochondrial proton leak. *Physiology*. 2011;26(3):192-205.
130. Jastroch M, Divakaruni AS, Mookerjee S, Treberg JR, Brand MD. Mitochondrial proton and electron leaks. *Essays in biochemistry*. 2010;47:53-67.
131. Keipert S, Jastroch M. Brite/beige fat and UCP1 - is it thermogenesis? *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1837(7):1075-82.
132. Shore AM, Karamitri A, Kemp P, Speakman JR, Graham NS, Lomax MA. Cold-induced changes in gene expression in brown adipose tissue, white adipose tissue and liver. *PloS one*. 2013;8(7):e68933.
133. Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *The Journal of physiology*. 2000;529 Pt 1:3-10.

134. Cypess AM, White AP, Vernochet C, Schulz TJ, Xue R, Sass CA, et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nature medicine*. 2013;19(5):635-9.
135. Schulz TJ, Huang TL, Tran TT, Zhang H, Townsend KL, Shadrach JL, et al. Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(1):143-8.
136. [http://www.alzet.com/products/guide\\_to\\_use/cfs\\_preparation.html](http://www.alzet.com/products/guide_to_use/cfs_preparation.html). 23 Augustos 2015.
137. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 7th Edition. London, UK: Academic Press; 2013.
138. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, Sagir M, et al. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney & blood pressure research*. 2012;36(1):220-30.
139. Park AJ, Bloom SR. Neuroendocrine control of food intake. *Current opinion in gastroenterology*. 2005;21(2):228-33.
140. Joly-Amado A, Cansell C, Denis RG, Delbes AS, Castel J, Martinez S, et al. The hypothalamic arcuate nucleus and the control of peripheral substrates. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2014;28(5):725-37.
141. Malagon MM, Vaudry H. Hypothalamic control of energy homeostasis. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2013;45(13):917-8.
142. Jin JM, Yang WX. Molecular regulation of hypothalamus-pituitary-gonads axis in males. *Gene*. 2014;551(1):15-25.
143. Liang Q, Zhong L, Zhang J, Wang Y, Bornstein SR, Triggle CR, et al. FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes*. 2014;63(12):4064-75.
144. Owen BM, Bookout AL, Ding X, Lin VY, Atkin SD, Gautron L, et al. FGF21 contributes to neuroendocrine control of female reproduction. *Nature medicine*. 2013;19(9):1153-6.
145. Kharitonkov A, Larsen P. FGF21 reloaded: challenges of a rapidly growing field. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2011;22(3):81-6.
146. Potthoff MJ, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. Endocrine fibroblast growth factors 15/19 and 21: from feast to famine. *Genes & development*. 2012;26(4):312-24.

147. Cheung BM, Deng HB. Fibroblast growth factor 21: a promising therapeutic target in obesity-related diseases. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2014;12(6):659-66.
148. Gao M, Ma Y, Cui R, Liu D. Hydrodynamic delivery of FGF21 gene alleviates obesity and fatty liver in mice fed a high-fat diet. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2014;185:1-11.
149. Keipert S, Kutschke M, Lamp D, Brachthäuser L, Neff F, Meyer CW, et al. Genetic disruption of uncoupling protein 1 in mice renders brown adipose tissue a significant source of FGF21 secretion. *Molecular metabolism*. 2015;4(7):537-42.
150. Hanssen MJ, Broeders E, Samms RJ, Vosselman MJ, van der Lans AA, Cheng CC, et al. Serum FGF21 levels are associated with brown adipose tissue activity in humans. *Scientific reports*. 2015;5:10275.
151. Wall CE, Whyte J, Suh JM, Fan W, Collins B, Liddle C, et al. High-fat diet and FGF21 cooperatively promote aerobic thermogenesis in mtDNA mutator mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015.
152. Lee DV, Li D, Yan Q, Zhu Y, Goodwin B, Calle R, et al. Fibroblast growth factor 21 improves insulin sensitivity and synergizes with insulin in human adipose stem cell-derived (hASC) adipocytes. *PloS one*. 2014;9(11):e111767.
153. Yu D, Ye X, Ren G, Xu P, Li S, Niu Z, et al. [Improvement of yield and purity of human fibroblast growth factor-21]. *Sheng wu gong cheng xue bao = Chinese journal of biotechnology*. 2014;30(4):658-68.
154. Itoh N. FGF21 as a Hepatokine, Adipokine, and Myokine in Metabolism and Diseases. *Frontiers in endocrinology*. 2014;5:107.
155. Domouzoglou EM, Fisher FM, Astapova I, Fox EC, Kharitononkov A, Flier JS, et al. Fibroblast growth factor 21 and thyroid hormone show mutual regulatory dependency but have independent actions in vivo. *Endocrinology*. 2014;155(5):2031-40.
156. Lee Y, Park YJ, Ahn HY, Lim JA, Park KU, Choi SH, et al. Plasma FGF21 levels are increased in patients with hypothyroidism independently of lipid profile. *Endocrine journal*. 2013;60(8):977-83.
157. Adams AC, Astapova I, Fisher FM, Badman MK, Kurgansky KE, Flier JS, et al. Thyroid hormone regulates hepatic expression of fibroblast growth factor 21 in a

- PPARalpha-dependent manner. *The Journal of biological chemistry*. 2010;285(19):14078-82.
158. Zhang A, Sieglaff DH, York JP, Suh JH, Ayers SD, Winnier GE, et al. Thyroid hormone receptor regulates most genes independently of fibroblast growth factor 21 in liver. *The Journal of endocrinology*. 2015;224(3):289-301.
159. Owen BM, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2015;26(1):22-9.
160. Dostalova I, Haluzikova D, Haluzik M. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2009;58(1):1-7.
161. Li H, Zhang J, Jia W. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator from pharmacology to physiology. *Frontiers of medicine*. 2013;7(1):25-30.
162. Holland WL, Adams AC, Brozinick JT, Bui HH, Miyauchi Y, Kusminski CM, et al. An FGF21-adiponectin-ceramides axis controls energy expenditure and insulin action in mice. *Cell metabolism*. 2013;17(5):790-7.
163. Lee P, Brychta RJ, Linderman J, Smith S, Chen KY, Celi FS. Mild cold exposure modulates fibroblast growth factor 21 (FGF21) diurnal rhythm in humans: relationship between FGF21 levels, lipolysis, and cold-induced thermogenesis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2013;98(1):E98-102.
164. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(9):3035-43.
165. Lanni A, Moreno M, Lombardi A, Goglia F. Thyroid hormone and uncoupling proteins. *FEBS letters*. 2003;543(1-3):5-10.
166. Cioffi F, Senese R, Lanni A, Goglia F. Thyroid hormones and mitochondria: with a brief look at derivatives and analogues. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013;379(1-2):51-61.
167. Vidali S, Knuever J, Lerchner J, Giesen M, Biro T, Klinger M, et al. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis hormones stimulate mitochondrial function and biogenesis in human hair follicles. *The Journal of investigative dermatology*. 2014;134(1):33-42.
168. Mutvei A, Kuzela S, Nelson BD. Control of mitochondrial transcription by thyroid hormone. *European journal of biochemistry / FEBS*. 1989;180(1):235-40.



169. Wang CZ, Wei D, Guan MP, Xue YM. Triiodothyronine regulates distribution of thyroid hormone receptors by activating AMP-activated protein kinase in 3T3-L1 adipocytes and induces uncoupling protein-1 expression. *Mol Cell Biochem.* 2014;393(1-2):247-54.
170. Bianco AC, Silva JE. Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenic function of brown adipose tissue. *The Journal of clinical investigation.* 1987;79(1):295-300.
171. Adams AC, Yang C, Coskun T, Cheng CC, Gimeno RE, Luo Y, et al. The breadth of FGF21's metabolic actions are governed by FGFR1 in adipose tissue. *Molecular metabolism.* 2012;2(1):31-7.
172. Samms RJ, Smith DP, Cheng CC, Antonellis PP, Perfield JW, 2nd, Kharitononkov A, et al. Discrete Aspects of FGF21 In Vivo Pharmacology Do Not Require UCP1. *Cell reports.* 2015;11(7):991-9.
173. Boss O, Muzzin P, Giacobino JP. The uncoupling proteins, a review. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* 1998;139(1):1-9.
174. Kim-Han JS, Reichert SA, Quick KL, Dugan LL. BMCP1: a mitochondrial uncoupling protein in neurons which regulates mitochondrial function and oxidant production. *Journal of neurochemistry.* 2001;79(3):658-68.
175. Douris N, Stevanovic DM, Fisher FM, Cisu TI, Chee MJ, Nguyen NL, et al. Central Fibroblast Growth Factor 21 Browns White Fat via Sympathetic Action in Male Mice. *Endocrinology.* 2015;156(7):2470-81.
176. Owen BM, Ding X, Morgan DA, Coate KC, Bookout AL, Rahmouni K, et al. FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell metabolism.* 2014;20(4):670-7.
177. Wang WF, Li SM, Ren GP, Zheng W, Lu YJ, Yu YH, et al. Recombinant murine fibroblast growth factor 21 ameliorates obesity-related inflammation in monosodium glutamate-induced obesity rats. *Endocrine.* 2015;49(1):119-29.

# EK 1. ETİK KURUL ONAY BELGESİ



## İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

### DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 14-02-2014  
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2014/A-12  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : *Siçan*  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : *Wistar albino veya Sprague-Dawley*  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 30 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 4-6 aylık, 220-280 gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Süleyman SANDAL'ın yürütücüsü olduğu "Merkezi Olarak FGF21 Uygulamasının Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid Aksı ve UCP1 Gen İfadesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması" isimli 2014/A-12 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye
Katılmadı Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
Katılmadı Salih AVCI Sivil Üye	Katılmadı Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	

## **EK 2. ÖZGEÇMİŞ**

01.01.1986 tarihinde İstanbul’ da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul’da tamamladım. 2005-2009 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimimi tamamladım. 2010- 2012 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp anabilim dalında yüksek lisansımı tamamlayarak 2012 yılında aynı anabilim dalında halen devam etmekte olan doktora eğitimime başladım. 2013 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji anabilim dalında başladığım yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.