

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

**DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE
OBEZİTENİN MOTOR BECERİLERE ETKİSİ VE BEYİN
TİROZİN HİDROKSİLAZ DÜZEYİ, DOPAMİNERJİK
RESEPTÖRLER VE LEPTİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

DENİZ ÖNAL

**Fizyoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2023

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

**DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE
OBEZİTENİN MOTOR BECERİLERE ETKİSİ VE BEYİN
TİROZİN HİDROKSİLAZ DÜZEYİ, DOPAMİNERJİK
RESEPTÖRLER VE LEPTİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

DENİZ ÖNAL

**Fizyoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU**

**İKİNCİ DANIŞMAN
Doç.Dr. Gül YALÇIN ÇAKMAKLI**

ANKARA

2023

**DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE
OBEZİTENİN MOTOR BECERİLERE ETKİSİ VE BEYİN
TİROZİN HİDROKSİLİZ DÜZEYİ, DOPAMİNERJİK
RESEPTÖRLER VE LEPTİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Öğrenci: Deniz ÖNAL

Danışman: Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU

İkinci Danışman: Doç. Dr. Gül YALÇIN ÇAKMAKLI

Bu tez çalışması 03.02.2023 tarihinde jürimiz tarafından “Fizyoloji Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Süreyya BARUN* (imza)

(Gazi Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Şevin GÜNEY* (imza)

(Gazi Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Ayşen ERDEM* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Doç. Dr. Meltem TUNCER* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Dr. Öğr. Üyesi Hilal KORKMAZ* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

1YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

03/02/2023

Deniz Önal

¹ ¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ay aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Bilge Pehlivanoğlu danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

(İmza)

Arş. Gör. Uzm. Biyo. Deniz nal

TEŞEKKÜR

“Deneysel Parkinson Hastalığı Modelinde Obezitenin Motor Becerilere Etkisi Ve Beyin Tirozin Hidroksilaz Düzeyi, Dopaminerjik Reseptörler Ve Leptin Reseptörleri İle İlişkisinin İncelenmesi” isimli bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Ana Bilim Dalı’nda “Doktora Tezi” olarak hazırlanmıştır.

İlk olarak, yüksek lisans ve doktora çalışmalarım süresince sadece bir danışman olarak değil aynı zamanda yeri geldiğinde annem gibi davranan ve hayatım boyunca öğrencisi olacağım sevgili danışmanım Bilge Pehlivanoğlu’na, anlayışı ve güzel kalbi ile sadece beni değil Fizyoloji ailemizin her bir üyesini kendi evladımış gibi gözeten sevgili bölüm başkanımız Ayşen Erdem’e, önerileri ile ufkumu genişleten ikinci danışmanım sayın Gül Yalçın Çakmaklı’ya, fizyoloji bilimi ve hayata dair çok değerli bilgiler öğrendiğim Hacettepe Fizyoloji Anabilimdalının sevgili hocalarına, akademik hayatım süresince tanımaktan onur duyduğum anabilim dalımızda görev yapan sevgili arkadaşlarıma, bu konu özelinde bilimsel altyapısına, bilgisine, azmine hayran olduğum ve kariyeri süresince birçok önemli başarıya imza atacağından emin olduğum sevgili kardeşim Özbeyen Atalay’a, yine karakteri, güzel kalbi ve başarıları ile kariyeri sürecinde büyük başarılarla imza atacağını düşündüğüm dostum Kutlu Kaya’ya, kendisini tanıdığım andan itibaren adeta ikinci kız kardeşim gibi olan Simay “Simotion” Alcan ve müstakbel eşi sevgili dostum Salih Anıl Kırtaş’a, doktora tez çalışmalarımın son döneminde bir hızır gibi yetişip yardımlarını esirgemeyen Burcu Nur Akgüner’e, büyük bir aile olduğumuzu bana her seferinde kanıtlayan Hacettepe Fizyoloji Ailemizin değerli üyeleri Serpil Özyaşar, Hatice Mukuoğlu, Serkan Çalışkan ve Ercan Arslan’a, aynı kan ve candan olmanın anlamını bana karşı her davranışıyla gösteren canımın yarısı, sevgili kardeşim Pınar Önal Poyraz, eşi sevgili Can Poyraz ve dayısının bitanesi Derin Poyraz’a, doğaya ve insanlığa sevgisini örnek aldığım sevgili babam Ali Önal’a, hayatım boyunca örnek aldığım, yolundan yürümeye çalıştığım, evladı olmaktan dolayı şanslı hissettiğim, ruh ikizim ve sevgili annem Ayten Öztüfekçi’ye, şimdiye kadarki en zor zamanlarımda hayatıma girerek beni çok mutlu eden mennan ve annesine teşekkürü borç bilirim.

Morcheeba’nın dediği gibi “Just enjoy the ride...”

ÖZET

Önal, D. Deneysel Parkinson Hastalığı Modelinde Obezitenin Motor Becerilere Etkisi Ve Beyin Tirozin Hidroksilaz Düzeyi, Dopaminerjik Reseptörler Ve Leptin Reseptörleri İle İlişkinin İncelenmesi Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2023. Bir halk sağlığı sorunu haline gelen vücut ağırlığındaki aşırı artış çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Öte yandan yaşam süresinin uzaması nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını da artırmaktadır. Vücudun hareketle ilgili mekanizmalarını etkileyen ve ilerleyen yaşla beraber artan nörodejeneratif Parkinson hastalığının (PH) obezite ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanlarda gelişen vücut ağırlığı artışı ile PH'nın klinik semptomları arasındaki ilişkiyi motor fonksiyon testleri ile birlikte beyin kesitlerinde tirozin hidroksilaz, D1, D2 reseptörleri ve leptin reseptör düzeyleri açısından incelemeyi amaçladık. Erişkin erkek *Sprague Dawley* sıçanlar 8 hafta % 30 yağ içeren yüksek yağlı (YYD, n=15) veya standart yem (STD, n=15) ile beslendi. Hedef vücut ağırlığına ulaşıldıktan sonra stereotaksik olarak 6-hidroksidopamin ile PH modeli oluşturuldu. PH modeli oluşturulmadan ve stereotaksiden 21 gün sonra motor testler gerçekleştirildi. Ayrıca 21. günde dopaminerjik bir agonist olan apomorfın ile deney hayvanlarında PH modelinin gelişimi belirlendi. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan beyin dokularında immünfloresan (IF) boyama ile tirozin hidroksilaz, leptin reseptörü, D1 ve D2 dopamin reseptörleri değerlendirildi. YYD grubundaki hayvanlar stereotaksi uygulaması öncesinde STD grubuna göre daha düşük motor skorlara sahipti. YYD ile STD grupları arasında bu fark stereotaksi uygulaması sonrasında ortadan kalktı. IF boyama yöntemi ile belirlenen, tirozin hidroksilaz miktarı YYD grubunda STD grubuna göre sağlam ve denerve hemisferlerde daha düşük yoğunlukta idi. D1 reseptörü de YYD grubunda hem sağlam hem de denerve hemisferlerde daha düşük yoğunlukta idi. D2 reseptörünün STD grubunda denerve hemisferde sağlam hemisfere göre daha yüksek boyama yoğunluğunda olduğu belirlendi. Leptin reseptörü ise YYD grubunda STD grubuna göre her iki hemisferde de daha yüksek yoğunlukta tespit edildi. Sonuç olarak YYD ile beslenen hayvanlarda gelişen vücut ağırlığı artışı ile PH'nın klinik semptomları arasındaki ilişkinin, dopamin reseptörleri ile birlikte leptin reseptör düzeylerinden de etkilendiği gösterilmiştir. İlgili hücre içi sinyal yollarının ve diğer adipokinlerin etkileşimlerinin incelenmesi obezite ve PH arasındaki olası bağlantıların aydınlatılmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Nörodejeneratif hastalık, Obezite, D1, D2, Leptin

Destekleyen Kurumlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (THD-2020-18601)

ABSTRACT

Önal, D. Investigation of the Effect of Obesity on Motor Ability and the Relations Between Brain Tyrosine Hydroxylase, Dopaminergic Receptors and Leptin Receptors in Experimental Parkinson's Disease Model. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Physiology Program, Doctor Philosophy Dissertation, Ankara, 2023. Excessive increase in body weight, which has already become a public health problem, is also associated with many diseases. On the other hand, prolonged life expectancy also increases the incidence of neurodegenerative diseases. Relationship between obesity and Parkinson's disease (PD), which affects the movement-related mechanisms and increases in incidence with advancing age, is not fully known. In this study, we aimed to investigate the relationship between body weight gain and clinical symptoms of PD in animals fed with high-fat diet in terms of tyrosine hydroxylase, D1, D2 receptors and leptin receptor levels in brain sections together with motor function tests. Adult male *Sprague Dawley* rats were fed either with 30% fat containing high-fat (HFD, n=15) or standard chow (STD, n=15) for 8 weeks. After reaching the desired body weight, PD model was created with stereotaxic injection of 6-hydroxydopamine. Motor tests were performed before and 21 days after the creation of stereotaxic PD model. In addition, on the 21st day after stereotaxic injections, the success in development of PD model in animals was determined with apomorphine, a dopaminergic agonist. Tyrosine hydroxylase, leptin receptor, D1 and D2 dopamine receptors were evaluated by immunofluorescent (IF) staining of brain tissues of the animals. Animals in the HFD group had lower motor scores than the STD group before the stereotaxy application. Difference in motor scores between the HFD and STD groups disappeared after stereotaxy application. Tyrosine hydroxylase density was found to be lower in the intact and denervated hemispheres of the HFD group than in the STD group. The D1 receptor density was also found to be at lower density in both intact and denervated hemispheres of the HFD group. D2 receptor density was found to be higher in staining intensity for the denervated hemisphere than intact hemisphere for the STD group. The leptin receptor density was found to be at higher density in both hemispheres for the HFD group than for the STD group. As a result, the relationship between body weight gain and clinical symptoms of PD in animals fed with HFD is affected by dopamine and leptin receptor levels. Further examination of intracellular signalling cascades and interactions with other adipokines can help to elucidate the possible links between obesity and PD.

Key Words: Neurodegenerative Disease, Obesity, D1, D2, Leptin

Supported by Hacettepe University Research Foundation (THD-2020-18601)

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xvi
TABLolar	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Vücut Ağırlığı	4
2.1.1. Artmış Vücut Ağırlığı	4
2.1.2. Obezite Modelleri	8
2.2. Parkinson Hastalığı	12
2.2.1. Parkinson Hastalığının Patofizyolojisi ve Tedavi Seçenekleri	13
2.2.2. Parkinson Hastalığı Hayvan Modelleri	18
2.3. Obezite ve Parkinson Hastalığı	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Deney Grupları	24
3.2. Parkinson Hastalığı Modelinin Geliştiğinin Doğrulanması	29
3.3. Motor Testler	29

3.3.1. Rotarod Testi	30
3.3.2. Yatay Çubukta Zorlu Yürüme Testi	32
3.3.3. Spontan Aktivite Testi	34
3.4. Deney Protokolünün Sonlandırılması ve Beyin Dokusunun Fiksasyonu	35
3.5. Doku Kesitlerinin Alınması	36
3.6. İmmünfloresan Boyama	37
3.7. İstatiksel Değerlendirme	38
4. BULGULAR	39
4.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlık Değişimi	39
4.2. Sensimotor Davranış Testleri Değerlendirme Analizleri	41
4.2.1. Spontan Aktivite Testi	41
4.2.2. Rotarod Testi	50
4.2.3. Yatay Çubukta Zorlu Yürüme Testi	52
4.3. İmmünfloresan Boyama Değerlendirme Sonuçları	55
4.3.1. Tirozin Hidroksilaz Boyaması	55
4.3.2. Leptin Reseptörü Boyaması	61
4.3.3. Dopamin (D1 ve D2) Reseptörü Boyaması	63
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
7. KAYNAKLAR	78
8. EKLER	87
Ek-1: Etik Kurul İzni	
Ek-2: Dijital Makbuz	
Ek-3: Tez Çalışması Orijinallik Raporu	

9. ÖZGEÇMİŞ

91

SİMGELER VE KISALTMALAR

2-DG	2-deoksiglukoz
5HT	Noradrenalin/5-hidroksitriptamin
6-OHDA	6-hidroksidopamin
AAA	Arka Ayak Adım Sayısı
ACA	Ön singulat bölge
AH	Alzheimer Hastalığı
Akt	Protein Kinaz B
CCK	Kolesistokinin
CMA	Singulat Motor Alan
DA	Dopamin
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DBS	Derin beyin stimülasyonu
DIO	Diyete Bağlı Obezite
DL	Dorsolateral
DLPFC	Dorsolateral prefrontal korteks
DM	Dorsomedial
DS	Dikelme sayısı
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FEF	Frontal göz alanı
GABA	γ -aminobütirik asiderjik
GPe	Globus pallidus'un dış segmenti

GPI	Globus pallidus'un iç segmenti
IL-1β	İnterlökin 1 β
IL-6	İnterlökin 6
IR	İnsülin direnci
IRS-1	İnsülin Reseptör Sübstrat-1
L-DOPA	3,4-Dihidroksi L-Fenilalaninin
LID	L-DOPA'ya bağlı diskineziler
LOFC	Lateral orbitofrontal korteks
LR	Leptin Reseptörü
LRb	Mikrogial Hücre Leptin Reseptörü
M1	Primer Motor Alan
MAO	Monoamin Oksidaz
MC3R	Melanokortin 3 reseptörü silinmiş fare
MC4R	Melanokortin 4 reseptörü silinmiş fare
MCH	Melanin konsantre edici hormon
MD	Mediodorsal nucleus
MDpl	Talamusun mediodorsal çekirdeğinin parvosellüler alt çekirdeği
MFB	Medial ön beyin demeti
MOFC	Medial Orbitofrontal Korteks
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MSN	Orta boy dikensi çıkıntılı nöronlar
NAc	Nükleus Akumbens
NAT	Noradrenalin membran taşıyıcı

NF-κB	Nükleer faktör-kappa B
NGS	Normal Keçi Serumu
NIH	Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü
O.C.T.	Optimal Kesim Sıcaklığı
OLETF	Otsuka Long Evans Tokushima Sıçanı
ÖAA	Ön Ayak Adım Sayısı
PFA	Paraformaldehit
PH	Parkinson Hastalığı
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PMC	Premotor Korteks
POMC/AgRP	Pro-opiomelanokortin/agouti ilişkili peptit silinmiş fare
RNA	Ribonükleik Asit
SD	Sprague Dawley
SEF	Suplementer göz alanı
SF	% 0,9 izotonik NaCl
SMA	Tamamlayıcı motor alan
SN	Substantia Nigra
SNpc	Substantia Nigra Pars Compacta
SNr	Substantia nigra pars reticulata
STAT3	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyonel Aktivatör 3
STD	Standart diyet
STN	Subtalamik çekirdeği
TH	Tirozin hidroksilaz

TNF-α	Tümör nekroz faktörü- α
TS	Temizlenme Süresi
TSOD	Tsumura ve Suzuki obez ve diyabet
VAmc	Talamusun medial ventral ön çekirdeği
VApC	Ventral anterior talamik çekirdeğin parvosellüler kısmı
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VL	Ventrolateral
VL_a	Ventral Lateral Çekirdek Anterior
VL_{cr}	Ventral Lateral Çekirdek Kaudal
VL_m	Talamus pars medialis'inin ventrolateral çekirdeği
VM	Ventromedial
VS	Ventral striatum
VTA	Ventral Tegmental Alan
YYD	Yüksek Yağlı Diyet
α-sin	α -sinüklein

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Vücut ağırlığının korunmasında etkili faktörler	4
2.2. Vücut ağırlığının artmasına neden olan çeşitli faktörler	6
2.3. Obezite modelleri	10
2.4. Bazal gangliyonun motor ve motor olmayan döngüleri	15
2.5. Bazal gangliyonun direkt, indirekt ve hiperdirekt yolları	17
2.6. Parkinson hastalığının başlangıcı, ilerlemesi ve ilaç tedavisi	18
3.1. Stereotaksi çerçevesine yerleştirilmiş ve kafa derisi açılmış bir sıçan	27
3.2. Düzeltme faktörü ile elde edilen koordinatlara göre median ön beyin demeti bölgesine ulaşmak için kafatasında açılan delik	28
3.3. Rotarod testi	30
3.4. Yatay çubukta zorlu yürüme testi	32
3.5. Spontan aktivite testi düzeneği	35
4.1. YYD ve STD gruplarının stereotaksi uygulamasından önce ölçülen vücut ağırlıkları	40
4.2. YYD ve STD gruplarının stereotaksi uygulamasından 21 gün sonra vücut ağırlıkları	40
4.3. STD grubundaki hayvanların Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra ölçülen vücut ağırlıkları	41
4.4. YYD grubundaki hayvanların stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra ölçülen vücut ağırlıkları	41
4.5. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra standart yem (STD) grubunun dikelme sayısı	43
4.6. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra yüksek yağlı yem (YYD) grubunun dikelme sayısı	43
4.7. Stereotaksi uygulamasından önce grupların dikelme sayıları	44
4.8. Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların dikelme sayıları	44

4.9.	Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra standart yem (STD) grubunun temizlenme süresi	45
4.10.	Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra yüksek yağlı yem (YYD) grubunun temizlenme süresi	45
4.11.	Stereotaksi uygulamasından önce grupların temizlenme süreleri	46
4.12.	Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların temizlenme süreleri	46
4.13.	STD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki ön ayak adım sayısı	47
4.14.	YYD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki ön ayak adım sayısı	47
4.15.	Stereotaksi uygulamasından önce ön adım ayak sayısı	48
4.16.	Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların ön ayak adım sayısı	48
4.17.	STD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki arka ayak adım sayısı	49
4.18.	YYD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki arka ayak adım sayısı	49
4.19.	Stereotaksi uygulamasından önce grupların arka ayak adım sayısı	50
4.20.	Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların arka ayak adım sayısı	50
4.21.	STD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra rotarod üzerinde geçirdiği süre	51
4.22.	YYD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra rotarod üzerinde geçirdiği süre	51
4.23.	Stereotaksi uygulamasından önce grupların rotarod üzerinde geçirdikleri süre	52
4.24.	PH gelişimden sonra grupların rotarod üzerinde geçirdikleri süre	52
4.25.	STD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra yatay çubuktaki hata indeksi değerleri	53
4.26.	YYD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra yatay çubuktaki hata indeksi değerleri	53

4.27.	Stereotaksi uygulamasından önce grupların hata indeksi değerleri	54
4.28.	PH gelişimden sonra grupların hata indeksi değerleri	54
4.29.	Immünfloresan boyama yapılan beyin kesitlerinin görüntüleme alanları	55
4.30.	Immünfloresan boyama yapılan beyin kesitlerinin görüntüleme alanları	55
4.31.	Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir	56
4.32.	Kontrol, STD ve YYD gruplarının hasarlı (denerve) hemisferlerinin tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir	57
4.33.	STD ve YYD gruplarının sağlam (üst iki panel) ve hasarlı (denerve) (alt iki panel) hemisferlerinin tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler. Her grupta ve her hemisferde dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir	58
4.34.	Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler	59
4.35.	STD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler	60
4.36.	YYD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidrosilaz boyamasından örnekler	61
4.37.	Deney gruplarının sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra bölgesinde leptin reseptörü boyamasından örnekler	62
4.38.	Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin D1 reseptörü boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir	63

- Kontrol, STD ve YYD gruplarının hasarlı (denerve) hemisferlerinin D1 reseptörü boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. YYD grubunda denerve hemisfere ait ventromedial striatum görüntülemesi tekrarlanacaktır
- 4.39. 64
- STD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin D2 reseptörü boyamasından örnekler
- 4.40. 65

TABLolar

Tablolar		Sayfa
2.1.	Diyete bağlı Obezite modellerinin avantaj ve dezavantajları	12
3.1.	Deney grupları	25
4.1.	8 haftalık YYD uygulamasının ardından stereotaksi uygulamasından önce ve sonra STD ve YYD grubuna ait hayvanların ortalama vücut ağırlığı değerleri	39
4.2.a	STD grubuna ait hayvanların stereotaksi öncesi ve sonrası spontan aktivite testi parametreleri	42
4.2.b	YYD grubuna ait hayvanların stereotaksi öncesi ve sonrası spontan aktivite testi parametreleri	42

1. GİRİŞ

Teknolojik gelişmeler insanlığın yaşam süresi beklentisini geçmiş yüzyıllarla karşılaştırıldığında anlamlı bir biçimde artırırken, bu durum aynı zamanda dünya nüfusunda yaşlı popülasyonunun dolayısı ile nörodejeneratif hastalıkların oranını da benzer biçimde artırmaktadır. James Parkinson, 1817 tarihli klasik monografisi olan "Titreyen Felç Üzerine Bir Deneme"de, Alzheimer hastalığından (AH) sonra en sık görülen ikinci nörodejeneratif hastalık olan ve gelecekte kendi soyadı ile anılacak olan bir hastalığın temel klinik özelliklerini tanımlamıştır. Bu uzun geçmişine rağmen, Parkinson hastalığının (PH) temel patolojik mekanizması olarak kabul edilen *substantia nigra pars compacta*'daki (SNpc) nöron kaybının keşfi için bir asırdan fazla süre geçmiştir. 1958'de Arvid Carlsson'un memeli beyinde dopamini (DA) keşfetmesinin ardından bu nörodejeneratif hastalık ile ilgili çalışmalara hız verilmiştir. Bu kapsamda, ilk olarak SNpc nöronlarının nigrostriatal dopaminerjik yolu oluşturduğu ve bu nöronların kaybının PH'nın temel semptomlarından sorumlu olan striatal DA eksikliğine yol açtığı saptanmıştır. Tedavi odaklı çalışmalar sonucunda DA öncüsü 3,4-Dihidroksi L-Fenilalaninin (L-DOPA) oral uygulaması yoluyla striatal DA eksikliğinin yerine konması ile hastalığa ait semptomların çoğunda hafifleme sağlanabilmiştir (1). L-DOPA aracılı tedavinin keşfi başta heyecanla karşılansa da uzun süreli tedavinin hastaların çoğunda çeşitli motor komplikasyonlara sebep olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak L-DOPA'ya bağlı diskineziler (LİD, *Levodopa induced dyskinesia*) olarak adlandırılan bu komplikasyonlar tedavi etkinliğini sınırlayan istemsiz hareketleri içermektedir. PH'yi tedavi etmek amacıyla kullanılan bir ilacın başka komplikasyonlara yol açması, hastalığın gelişim sürecinde bazal ganglionların fonksiyon ve ilaca yanıtında bazı temel değişikliklere sebep olduğunu düşündürmektedir (2, 3).

Günümüzde modernleşme ve teknolojik gelişmelerin sonucunda üretim ve ulaştırma yöntemlerinin ilerlemesi ve hızlanması ile insanların besin maddelerine erişimi kolaylaşırken, enerji açısından yoğun, besin açısından fakir olan işlenmiş gıdaların yaygınlaşması, fiziksel aktivitenin azalması, kültürel, çevresel ve epigenetik değişiklikleri kaçınılmaz hale getirmiştir (4). Bu durum insanlığın hayatını bazı yönlerden kolaylaştırırken aynı zamanda çağımızın hastalığı olarak nitelendirilen obezite ve aşırı kilonun da giderek yaygınlaşmasına, sedanter yaşam biçiminin daha yaygın hale gelmesine ve obezitenin epidemi düzeyine ulaşmasına zemin hazırlamıştır.

Dünya çapında obezite prevalansı 1980 yılından günümüze neredeyse iki katına çıkarken dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri aşırı kilolu veya obez olarak sınıflandırılmaktadır (5). Vücudun hemen hemen tüm fizyolojik fonksiyonlarını olumsuz etkileyen obezite, eşlik eden hastalıkların ve mortalitenin artması nedeni ile dünya çapında önemli bir halk sağlığı tehdidi oluşturmaktadır. Obezite ile ilişkili diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, çeşitli kanser türleri, kas-iskelet sistemi bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklar bireylerin yaşam kalitesini olumsuz etkilemekte ve ülkelerin sağlık harcamalarını yükseltmektedir (6, 7).

Giderek yaşlanmakta olan dünya nüfusu geçmişte açlık, bulaşıcı hastalıklar ve barınma gibi problemlerle karşı karşıya kaldığından yaşam beklentisi de günümüzle kıyaslanmayacak oranda düşüktü. Teknolojik gelişmeler sonucu artan yaşam süresi pek çok yönden olumlu olarak değerlendirilirken yakın geçmişimizde var olmayan yeni birtakım sorunları da beraberinde getirmiştir. Örneğin, gelişimi yıllar alan nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını artırmıştır. Yaşlanma ile birlikte hücresel düzeyde başlayan bozulmalar zamanla organ ve sistem düzeyine ulaşarak yaşamı tehdit eden hastalıkların gelişmesi ile sonuçlanmaktadır. Nörodejeneratif hastalıkların kökeninde yer alan inflamatuvar süreçler yaşlanma ile birlikte daha baskın hale gelerek toplum sağlığını tehdit eden sonuçlar doğurmaktadır. Ek olarak, modern yaşamın sunduğu refah ve rahatlıklara bağlı olarak ortaya çıkan sedanter yaşam biçimi de aşırı kilo ve obezite gibi modern dünya hastalıklarının yaygınlaşmasına neden olmuştur. Son yıllarda obezite gelişiminin de kronik inflamatuvar bir süreç olabileceği kabul edilmektedir (8, 9). Obezogenik çevresel faktörler nörodejeneratif hastalıkların gelişimi ve ilerlemesini etkilemektedir, ancak özellikle son dekadda tanımlanan obezite ve nörodejeneratif hastalıklarla ilgili yeni genler, bu hastalıkların mekanizmalarının açıklamasında yeni yolakları göstermiş ve ortak biyolojik mekanizmalarının göz önünde tutulması gerektiğine dikkat çekmiştir (10).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın hipotezlerini aşağıdaki şekilde belirledik;

- H1(0):"Yüksek yağlı diyetle bağlı gelişen obezite Parkinson hastalığının klinik belirtilerini değiştirmez"
- H1:"Yüksek yağlı diyetle bağlı gelişen obezite Parkinson hastalığının klinik belirtilerini değiştirir".

- H2(0): "Parkinson hastalık modeli uygulanan obez sıçanlarda beyin dopamin ve dopamin reseptör düzeyleri normal vücut ağırlığına sahip sıçanlardan farklı değildir".
- H2: "Parkinson hastalık modeli uygulanan obez sıçanlarda beyin dopamin ve dopamin reseptör düzeyleri normal vücut ağırlığına sahip sıçanlardan farklıdır".
- H3(0): "Parkinson hastalık modeli uygulanan obez sıçanlarda beyin dopaminerjik nöron leptin reseptörü düzeyleri normal vücut ağırlığına sahip sıçanlardan farklı değildir".
- H3: "Parkinson hastalık modeli uygulanan obez sıçanlarda beyin dopaminerjik nöron leptin reseptörü düzeyleri normal vücut ağırlığına sahip sıçanlardan farklıdır".

Bu hipotezleri test edebilmek için bu tez çalışmasında; standart veya yüksek yağlı diyetle beslenen ve 6-hydroxydopamine (6-OHDA) uygulaması ile Parkinson hastalığı geliştirilen sıçanlarda

- Vücut ağırlığının motor ve sensorimotor beceriler ile ilişkisini,
- Parkinson hastalığı gelişen sıçanlarda vücut ağırlığı ile beyin dopamin ve dopamin reseptörü ile birlikte leptin reseptör düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

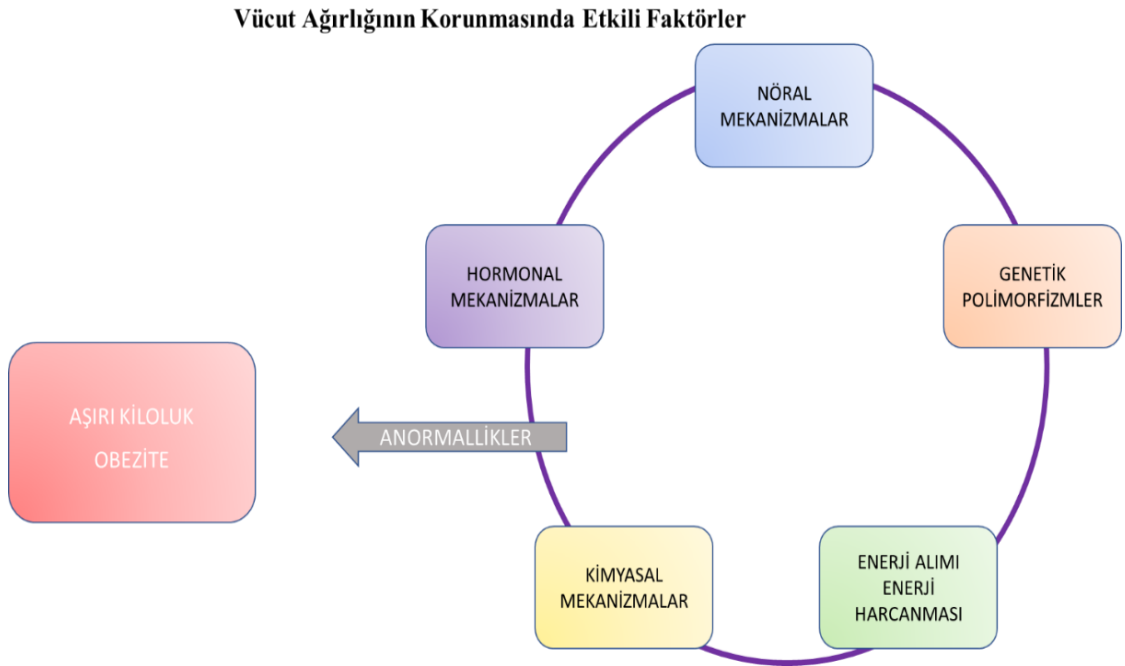
Bu tez çalışması sonunda gerçekleştirmeyi hedeflediğimiz amaçlar, istatistiksel güç analizleri ile belirlenmiş "n" sayısındaki hayvanlarda:

- 1) Yüksek yağlı diyet ile beslenmeye bağlı vücut ağırlığında artış sağlamak,
- 2) Stereotaksik cerrahi yöntemleri kullanarak 6-OHDA uygulaması ile Parkinson hastalığı modelini geliştirmek,
- 3) Vücut ağırlığına bağlı olarak motor beceri ve işlevlerde meydana gelen değişiklikleri test etmek,
- 4) Vücut ağırlığına bağlı olarak beyin leptin ve dopamin reseptör düzeylerinde meydana gelen değişiklikleri analiz etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vücut Ağırlığı

Vücut ağırlığı, toplam enerji harcamasının enerji alımına eşit olduğu zaman değişmeyen ve metabolik olarak enerji dengesi ile tanımlanan bir özelliktir. Vücut ağırlığı, fizyolojik koşullarda kısa ve uzun süreli enerji dengesini kontrol eden mekanizmalar aracılığı ile çok iyi düzenlenmektedir. Fakat bazı kişilerde görülen enerji alımındaki ve harcanmasındaki dengesizlikler kilo kazancına ve kaçınılmaz olarak da obeziteye neden olmaktadır. Vücut ağırlığı asıl olarak hipotalamusta eşik değer aracılığı ile düzenlense de genetik ve çevresel pek çok faktörden etkilenmektedir (Şekil 2.1)



Şekil. 2.1. Vücut ağırlığının korunmasında etkili faktörler

Bütün bu faktörlerin entegrasyonu ve gittikçe daha obezogenik hale gelen çevresel faktörler sonucunda artmış vücut ağırlığı ciddi bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir.

2.1.1. Artmış Vücut Ağırlığı

Gelişen dünya yaşamı kolaylaştıran pek çok gelişmeyi de insanlığa sunarken, daha önce sağlığı tehdit etmeyen durumlar hastalık ve ölüm riskini artıran yeni tehditler olarak

karşımıza çıkmıştır. Bunların arasında, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından bir halk sağlığı sorunu haline geldiği belirtilen ve gelişmiş ülkelerde nüfusun üçte birinden fazlasını etkileyen şişmanlık (artmış kilo ve/ya obezite) besin alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizliğin sonucunda ortaya çıkar. DSÖ'ye göre obezite, birçok bulaşıcı olmayan hastalık için temel risk faktörlerinden biridir. DSÖ 2022 Avrupa Bölgesel Obezite Raporuna göre aşırı kilo ve obezite, Avrupa Bölgesi'nde yetişkinlerin yaklaşık % 60'ını ve neredeyse üç çocuktan birini (erkeklerin % 29'u ve kızların % 27'si) etkilemektedir (11). Bu rapora göre, 53 Avrupa ülkesinde fazla kilo ve obezite prevalansında artış tespit edilmiştir. Son bulgular, aşırı kilo ve obezitenin her yıl Avrupa Bölgesi'nde 1,2 milyondan fazla ölüme neden olduğunu ve bu rakamın toplam ölümlerin % 13'ünden fazlasına karşılık geldiğini ve şaşırtıcı biçimde bu artışın COVID-19 pandemisi sırasında daha da kötüleştiğini göstermektedir. Raporda ayrıca

"Yetişkinlerde aşırı kilo ve obezite salgın boyutlarına ulaştı."

ibaresi de yer almaktadır. Öyle ki, elimizdeki veriler Avrupa'da obezitenin 2016'dan günümüze kadar % 21, 1975 yılından günümüze ise % 138 arttığını göstermektedir (11).

Tüm bu uyarılar ve çalışma sonuçlarına rağmen günümüzde ülkeler tarafından üretilen kamu politikaları ve müdahaleler de obezite hastalığının küresel yayılımını engellemekte başarısız olmuştur (12). Obezite gelişimine sebep olan pozitif enerji dengesi, özellikle yağ dokusunda lipidlerin birikmesini sağlayarak yaşamın belli dönemlerinde sayılarının (hiperplazi) ve asıl olarak boyutlarının (hipertrofi) artması ile sonuçlanır (13, 14). Hem genetik hem de çevresel faktörler, obezitenin gelişiminde çok önemli roller oynamaktadırlar (Şekil 2.2.). Beslenme, obezite gelişimine katkıda bulunan en önemli çevresel faktörlerden biridir. Günlük beslenme rutinindeki yağ içeriği, yağ dokusu artışından sorumlu ana faktör olarak kabul edilmektedir. Obezite konusunda yapılan birçok insan çalışması, yağdan alınan toplam günlük enerjinin % 30'dan fazlasını içeren yüksek yağlı diyetlerin (YYD) obeziteye neden olabileceğini göstermiştir (15-18). Ek olarak, birçok epidemiyolojik çalışma da vücutta ortalama yağ oranının obezite insidansı ile pozitif olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (19, 20).

YYD ile beslenme sadece insanlarda değil, diğer hayvan türlerinde de obeziteye neden olmaktadır (21). Örneğin, sıçanlarda (22) ve farelerde (23), diyetteki yağ seviyesi

doğrudan vücut ağırlığı ve vücut yağ oranındaki artışla ilişkilendirilmiştir (24, 25). Bu çalışmalarda, araştırmacılar hayvanlarda obeziteyi indüklemek için, toplam enerji alımının % 30 ila % 78'inin yağdan geldiği YYD kullanmışlardır (26).

VÜCUT AĞIRLIĞININ ARTMASINDA ETKİLİ OLAN FAKTÖRLER



Şekil 2.2. Vücut ağırlığının artmasına neden olan çeşitli faktörler

Çoğu kemirgen türü YYD etkisiyle obez olma eğiliminde olsa da vücut ağırlığı artışı, glukoz toleransı, insülin direnci (IR) ve kan lipit profili gibi parametreler hayvanlar arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Sıçan türleri düşünüldüğünde, *Sprague-Dawley* (SD) ve *Wistar* ırkları, YYD etkisiyle kolayca kilo alabildikleri için obezite çalışmalarında en sık kullanılan hayvan modelleri olmuşlardır. Fakat yine unutulmamalıdır ki, bazı çalışmalar bu ırkların kilo alma düzenlerinde değişkenlik olduğunu göstermiştir (27). Bu çalışmalarda bazı hayvanların YYD etkisiyle hızla kilo aldığı gözlenirken, diğerlerinin normal yağlı bir diyetle beslenen fareler kadar kilo aldığını gözlemlenmiştir (28). Obezite çalışmalarında kullanılan kemirgenlerde insanlara benzer biçimde aynı tür içerisindeki bireylerin vücut ağırlığı artışı yönünden çeşitlilik göstermesi bu hayvan türlerinin obezite çalışmalarında kullanımlarını da sıklaştırmıştır. Bununla birlikte, obezite hayvan modellerinin insanda obezite hastalığını doğru şekilde temsil etmesi hususunda önemli kısıtlılıkları vardır. Son yıllarda yayınlanan bir sistematik derlemede özetlenen (29) bu kısıtlılıklar arasında; hayvanlarda obezite gelişimi için

uygulanan beslenme protokolünün standardize edilmesinin zor olması, uygulanan beslenme sürelerinin uzun olması ve beslenme protokolü ve içeriğinin çalışmalar arasında farklılık gösterebilmesi yer almaktadır. Ek olarak, kemirgenlerle yapılan obezite çalışmalarında bireysel olarak her hayvanın beslenme içeriği ve tüketim miktarı hassas ve sıkı biçimde kontrol edilebilirken aynı sıkı protokollerin insan çalışmalarında kullanılması oldukça zordur (30). Bahsi geçen kısıtlılıklar ve parametreler dikkate alınarak dizayn edilen obezite modelinin uygulanan hayvanlarda istenen kilo artışına sebep olarak başarıya ulaşıp ulaşmadığının değerlendirilmesi de önemlidir. Bu kapsamda, deney hayvanlarında obezite gelişimi aynı insanlarda olduğu gibi temel olarak vücut ağırlığında ve vücut yağ kompozisyonunda meydana gelen artışlara göre değerlendirilmektedir (31). Buna rağmen, insanlarda obezite gelişimini tanımlamak için kullanılan vücut kitle indeksi (VKİ) gibi indekslerin kemirgenler için de geliştirilmemiş olması literatür kapsamında önemli bir eksiklik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sebeplerle, deney hayvanlarında diyetle indüklenen obezitenin gelişimi değerlendirilirken deney grubu ile normal diyet ile beslenen kontrol grubu arasındaki vücut ağırlığı farkı temel parametre olarak kullanılmaktadır (32, 33). Öte yandan, birçok çalışma aynı içeriğe sahip standart sıçan yemi ile beslenen kontrol gruplarının vücut ağırlıkları arasında % 10 ile % 25'e varan oranlarda farklılık görüldüğünü göstermiştir. Bu bulgular, kemirgenlerde de insanlara benzer biçimde vücut ağırlığı bakımından aynı türe ait bireyler arasında önemli varyasyonlar görülebileceğini göstermektedir (34). Literatür kapsamında yaygın olarak kullanılsa da kemirgenlerde obezite gelişimini değerlendirmek için kullanılan farklı parametreler de bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan “yağ indeksi” terimi; mezenterik, epididimal, retroperitoneal ve perirenal yağ depolarının ağırlıklarının toplamının (toplam vücut ağırlığı (gr) X 100)'e bölünmesiyle hesaplanır ve yağlanma yüzdesi olarak ifade edilir (35, 36). Kemirgenlerde obezite gelişimini değerlendirmek için kullanılan bir diğer parametre olan “*Lee indeksi*” ise insanlar için kullanılan VKİ'ye benzer bir yaklaşımla sıçanlardaki obeziteyi sınıflandırmak için önerilmiştir (37). *Lee indeksi*, vücut ağırlığının (gr) küp kökünün nazo-anal uzunluğa (mm) bölümü olarak tanımlanmaktadır. Bu indekse göre, sıçanlarda 310 değerinin üzerindeki değerler obezite göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bazı çalışmalar “*Lee indeksi*” ile vücut yağ kompozisyonu arasında bazı korelasyonlar bulsa da (38) bu indeks kemirgenlerde obezite gelişimini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmamaktadır.

2.1.2 Obezite Modelleri

Yaygınlığı, eşlik eden hastalık insidansı ve ilişkili ölüm oranının gittikçe yükselmesi nedeni ile obezite çalışmalarının önemi de gün geçtikçe artmaktadır. İnsanlarda obezite gelişiminde genetik faktörlerin rolü literatür kapsamında önemli ölçüde kabul görmüş olsa da çevresel faktörlerin de obezite gelişimi üzerindeki etkileri tartışılmaz bir gerçek olarak karşımızdadır. Çevresel faktörler göz önüne alındığında, obezite gelişiminin beyin ile bağırsak, karaciğer, pankreas, yağ dokusu ve diğer birçok periferik doku arasındaki etkileşimde gelişen bozukluklar sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu sebeplerle obezite gelişimini indükleyecek hayvan modelleri seçilirken bazı kriterlere göre seçimi yapmak modelin başarısı için önem arz etmektedir. Bu kriterleri özetlemek gerekirse:

- 1) Seçilecek model, obezite araştırmalarında sıklıkla kullanılır olmalıdır.
- 2) Seçilecek modelin beyinde yiyecek alımı ve vücut ağırlığının kontrolünde görev alan ana bölgeler ile ilişkili olduğunun literatür kapsamında gösterilmiş olması gereklidir.
- 3) Genetik obezite modelleri kullanılırken seçilecek modelin, leptin yolaklarının keşfine odaklanmış transgenik veya mutant hayvan modellerini kapsaması önemlidir. Genetik obezite hayvan modellerinde mutasyon açısından monogenik ve poligenik hayvan modelleri bulunmaktadır. Monogenik modeller açısından bakıldığında adipoz doku üzerindeki etkileri sebebiyle leptin ve kolesistokinin (CCK) yolaklarını araştıran modeller kullanılmalıdır (39).

Literatür kapsamında kullanılan obezite hayvan modelleri;

- Genetik obezite modelleri
- Diyete bağlı obezite (DIO) modelleri
- Cerrahi veya kimyasal olarak indüklenen obezite modelleri
- Mevsimsel obezite modelleri olarak gruplandırılabilir.

Bu modelleri kronolojik olarak incelemek gerekirse ilk sırada leptin yolaklarında monogenik (tek gen) mutasyona sahip hayvanlarla yapılan çalışmalar gelmektedir. Leptin yolağını araştıran çalışmalar zamanla bu yolağı hedefleyen transgenik hayvan modellerinin geliştirilmesine yardımcı olmuştur. Genetik obezite modellerinin

geliştirilmesinde kullanılan bir başka yolak ise CCK yolağıdır. *Otsuka Long Evans Tokushima Fatty* (OLETF) sıçanı mutasyon sonucu CCK reseptöründen yoksun olduğu için genetik obezite araştırmalarında sıkça kullanılmaktadır. *S5B/PI* ve *Low/C* sıçan türleri yüksek yağlı diyete bağlı obeziteye direnç gösteren türler iken *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Long Evans* ve *Osborne Mendel* sıçan türleri ise diyete bağlı obezite çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (40).

Sonuç olarak genetik obezite modelleri bir veya birkaç genin mutasyon veya manipölasyonuna dayanan yöntemlerdir. Fareler söz konusu olduğunda *C57Bl6/J* türü belirgin kilo artışının yanı sıra hiperinsülinemi ve hipergliseminin görüldüğü, obeziteye eğilimli bir tür olarak kabul edilir. Bu sebeple bu tür diyete bağlı obezite çalışmalarında en sık kullanılan fare türüdür. Öte yandan *A/J* türü fareler ise, obeziteye dirençli model olarak kabul edilmektedir (41).

Monogenik obezite modeli olarak da tanımlanan genetik obezite modellerinin başarı şansı yüksektir çünkü bu modeller kapsamında gelişen obezite ve adipozite oranı yüksektir ve bu modeller obezitenin belirli bir fenotipini yansıtır. Bir hastalık açısından belirli bir fenotipi incelemek ilaç geliştirme çalışmalarını söz konusu olduğunda kolaylık sağlasa da geliştirilen ilaç obezite hastalığına sahip bireylerin küçük bir kısmını kapsayacaktır. Bu durumda geliştirilen ilacın obezite hastalığının gelişiminde poligenik faktörlerin rol aldığı hastalarda tedavi edici etki göstermesi sadece olasıdır.

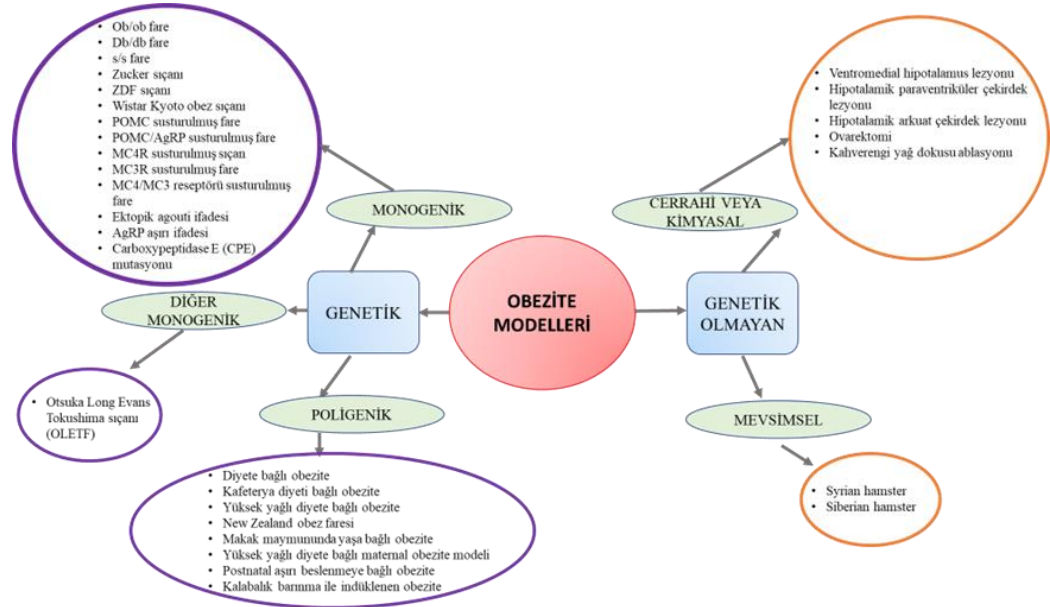
Monogenik obezite modellerine özellikle de leptin sistemindeki bozukluklara dayalı genetik modellere karşı sunulan önemli bir argüman, bu modellerin insanda obezite patogenezi temsil etmediğidir. Bu sebeplerle, poligenik DIO modelleri, obezitenin aşırı kalori alımı da dahil olmak üzere birçok yönünü insanda daha verimli şekilde temsil etmektedir. DIO modelleri obezite hastalığının poligenik nedenlerini incelemek için kullanılmaktadır. Kronolojik olarak genetik modellerden daha sonra kullanılmaya başlanılan DIO modelinin, insanlarda obezite hastalığını genetik modellere kıyasla daha iyi yansıttığı düşünülmektedir. Poligenik DIO modeli geliştirilen hayvanların insanlarda obezite tedavisi için kullanılan *sibutramine* ve *liraglutide* gibi ilaçlara olumlu cevap vermesi de poligenik modellerin obezite çalışmalarında sıklıkla kullanılmasını sağlamıştır (42).

Cerrahi olarak indüklenen obezite modelleri temel olarak beyin belirli bölümlerindeki nöronların daha spesifik ablasyonu sonucu geliştirilen modellerdir. Bu modelin popülaritesi genetik obezite hayvan modellerinin keşfi sonucunda popülarliğini kaybetmiştir.

Literatür kapsamında çalışılan obezite hayvan modellerinde tercih edilen hayvan türlerine bakıldığında çoğunluğu sıçan veya fareler oluşturmaktadır. Bu çalışmalarda en sık kullanılan türler:

- Leptin eksikliği olan *ob/ob* fare,
- Leptin reseptör eksikliği olan *db/db* fare ve *Zucker* türü sıçan
- MC4 reseptör eksikliği fare ve sıçan modeli
- Fare ve sıçan DIO modelleri.

Obezite hastalığı çalışmalarında kullanılacak olan hayvan modeli seçilirken amaç odaklı seçim yapmak doğru bir başlangıç olacaktır.



Şekil 2.3. Obezite modelleri. (29)'dan değiştirilmiştir.

MC3R: melanokortin 3 reseptörü silinmiş fare; MC4R: melanokortin 4 reseptörü silinmiş fare; MCH: melanin konsantre edici hormon; POMC/AgRP: Pro-opiomelanokortin/agouti ilişkili peptit silinmiş fare; s/s fare; TSOD:Tsumura ve Suzuki obez ve diyabet;

Örnek vermek gerekirse, DIO modellerinin obezite tedavisi için aday ilaçların test edilmesi ve obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinin incelenmesi için uygun olduğu belirtilirken, genetik modeller tedavi amaçlı kullanılan moleküllerin *in-vivo* etkinliği ile birlikte, bu maddelerin etkilediği yolların ortaya çıkarılmasında önemli rol oynamaktadır. Obezite modelleri Şekil 2.3’de özetlenmiştir.

Genetik modeller dışındaki yöntemler değerlendirildiğinde kemirgenlerde obeziteyi modellemek için asıl olarak DIO yaklaşımlarının kullanıldığı görülmektedir. *Sprague-Dawley* türü sıçanlar ile geliştirilen obezite modelleri, insanlarda görülen obezite hastalığı patogenezi ile yüksek oranda benzerlik gösterdiğinden bu sıçan türü obezite çalışmalarında en sık kullanılan türlerden biridir. Çalışmalar bu sıçan DIO daha yatkın olduğunu göstermiştir. (34, 43-45).

Diyete bağlı obezite hayvan modellerinden biri kafeterya diyetidir. Bu diyet türü YYD modeline göre daha az standardize bir modeldir. Şöyle ki YYD modelinde araştırmacılar deney hayvanlarının tüketeceği yem içerisindeki yağ oranını net olarak biliyor iken, kafeterya diyetinde kemirgenler için tüketebilecekleri sertlikte, lezzetli ve yüksek enerji içeren gıdaların hepsi kullanılabilir. Bu diyet modelinin bir avantajı hayvanların yedikleri besinlerin diğer modellere kıyasla daha lezzetli olması böylece hayvanlarda aşırı yeme davranışının gelişmesini sağlamasıdır. Batı tipi beslenme türünü temsil eden (46-48) kafeterya diyeti konusundaki en önemli eleştiri ise bu diyet türünde besin kompozisyonunun standardize edilememesi ve verilen besin türüne göre deney hayvanlarında protein ve vitamin eksikliklerinin görülebilme olasılığıdır (49).

Hayvanlarda diyet etkisiyle obezite modeli çalışmalarında en sık kullanılan yöntemlerden birisi de yüksek yağlı diyetle geliştirilen obezite modelidir. Bu diyet türüyle beslenen hayvanlarda insülin ve leptinin merkezi etkilerinin hızla azaldığı görülmüştür (50-53). Bu etkinin YYD’ye birkaç günlük maruziyet sonucu gelişmesi de şaşırtıcıdır. YYD’nin, hipotalamik nöronlarda hücre içi sinyal yollarını doğrudan etkilediğinin gösterilmesi (52), bu beslenme türünün beyindeki diğer nöropeptidlerin oranlarında da değişimlere sebep olabileceğini düşündürmektedir. *Sprague-Dawley* sıçanların YYD ile beslendiğinde obez fenotipe diğer türlere kıyasla çok daha hızlı ulaştıkları ve büyük çoğunluğunda obezite geliştiği bilinmektedir. YYD ile beslenmelerine rağmen bazı hayvanların standart yem ile beslenen hayvanlara benzer vücut ağırlığına sahip

olduklarının görülmesi bu hayvanların diyetle dirençli olarak tanımlanarak ilgili çalışmalarda kullanılmasını sağlamıştır (34, 43-45).

DIO çalışmalarında % 10, % 30, % 45 ve % 60 olmak üzere değişen yağ içeriğine yani, yağdan gelen kalori yüzdesine sahip diyetler kullanılmaktadır. Bu diyetlerin içeriği deney hayvanlarının yemdeki makro ve mikro besinlerin eksikliği durumu ile karşılaşmaması ve bu diyeti kullanan araştırmalar arasında standardizasyon sağlanması açısından dikkatle seçilmelidir. Yapılan çalışmalar kemirgenler için standart olarak kabul edilen bir diyetin yaklaşık % 10 yağ içermesi gerektiğini göstermiştir (26). YYD'nin kemirgenlerde deneysel kullanımı son zamanlarda tartışmaya açılmıştır, çünkü % 60 gibi yüksek yağ seviyeleri obezite hastalığına sahip bireyler tarafından tüketilen diyetlerde bulunan yağ yüzdelerinden çok daha yüksektir. DIO modellerinin kemirgenlerdeki avantaj ve dezavantajları Tablo 2.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Diyetle bağlı Obezite modellerinin avantaj ve dezavantajları (32)

MODEL	TÜR	AVANTAJ	DEZAVANTAJ
Diyete Bağlı Obezite	Fare ve Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> Genetik ve beslenmeye ait etkilerin kombinasyonu Obezite ve insülin direnci kısa sürede gelişir. İnsanda obezite hastalığı ile yüksek benzerlik Düşük maliyet İnsanda metabolik sendromun tüm yönlerinin en iyi şekilde yansıtılması 	<ul style="list-style-type: none"> Çalışmalar arasında standardizasyon sağlamadaki zorluklar Obezite gelişiminin uzun süre alması Bazı durumlarda gelişen obez fenotipin aşırıya kaçması

Modelin özellikleri incelendiğinde avantajları ve uygulama kolaylığı nedeni ile sunulan tez çalışmamızda % 30 yağ içeren YYD obezite modeli seçilmiştir.

2.2. Parkinson Hastalığı

Teknolojik gelişmelerle birlikte yaşam süresinin uzaması, nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını da artırmaktadır. İlerleyen yaşla beraber daha sık gözlenen PH günümüzde Alzheimer hastalığından sonra en yaygın rastlanan ikinci nörodejeneratif hastalıktır ve gelişmiş ülkelerde nüfusun % 0,3'ünü PH'ye sahip bireyler

oluşturmaktadır. 60'lı yaşların üzerindeki popülasyonda PH'ye yakalanma oranı % 1'e yükselmektedir.

2.2.1. Parkinson Hastalığının Patofizyolojisi ve Tedavi Seçenekleri

PH, beyinde azalmış tirozin hidroksilaz (TH) seviyeleri ile ilişkili motor bozukluklar, artmış inflamasyon, α -sinüklein (α -sin) agregasyonu ve dopaminerjik nöron kaybı ile karakterize kronik nörodejeneratif bir süreçtir (54). Bu hastalık, insan vücudunun hareketle ilgili mekanizmalarını etkileyerek hastalarda; bradikinezi, rijidite, titreme ve postüral dengesizlik gibi günlük hayatı aksatacak ciddi semptomlar oluşturmaktadır. Hastalarda meydana gelen hareket kontrol yeteneğinin kaybı, özellikle beynin SNpc adı verilen özel bir bölgesinde bulunan dopaminerjik nöronların zarar görebilmesine ve dolayısıyla bölgedeki dopamin miktarının azalmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Motor bozuklukların, dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ve L-DOPA oluşumu ve dopamin biyosentezi için hız sınırlayıcı bir enzim olan TH seviyelerinin azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (55). PH'nin, bahsi geçen motor semptomlarına ek olarak anksiyete, bilişsel bozukluk, gastrointestinal sistem ile ilgili problemler, koku duyusunda azalma ve depresyon gibi motor olmayan semptomları da vardır. Motor olmayan semptomlar hastalar arasında yaygın olarak görülür ve motor semptomlardan yıllar önce ortaya çıkmaktadır (56).

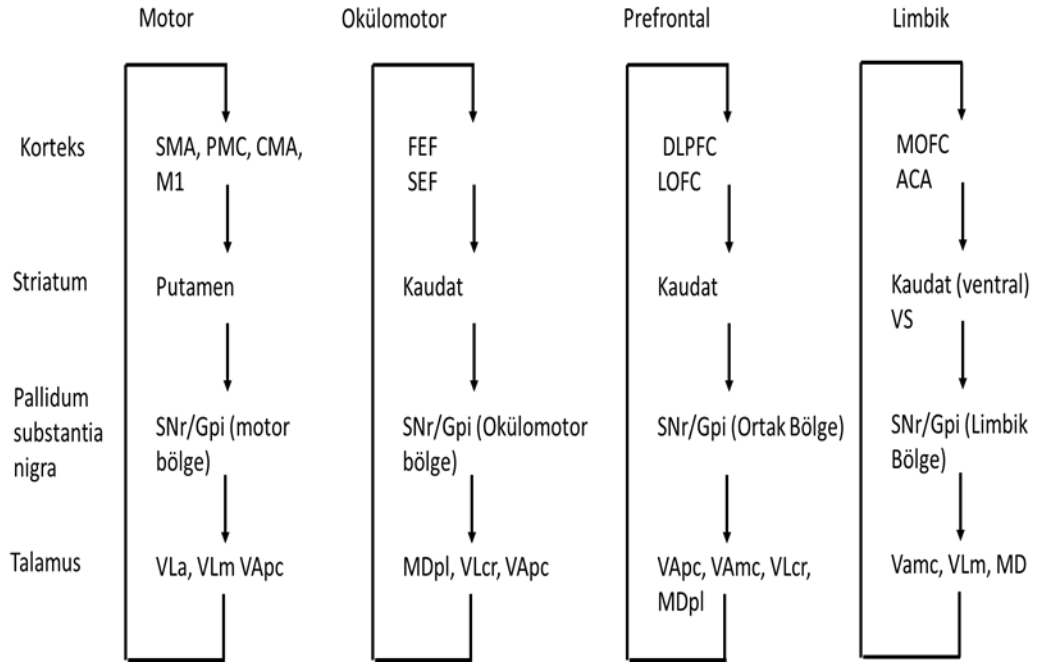
Parkinson hastalığının patofizyolojisi, hastalığın gelişim sürecinde rol alan kompleks ve birbirini direkt ve indirekt olarak etkileyen mekanizmaların hala tam olarak aydınlığa kavuşturulamaması sebebiyle, tam olarak anlaşılammış bir paradoks olarak kabul edilmektedir. Öyle ki PH hakkındaki araştırmalar 1900'lü yıllar boyunca hep iniş ve çıkışlara sahne olmuştur. Bahsi geçen asırlık dönemde bazıları uzun araştırmalar sonucunda bazıları ise şans eseri keşfedilen bulgular PH patofizyolojisini anlamada önemli kilometre taşları olarak karşımıza çıksa da hastalığın kompleks yapısı hala tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır. PH araştırmalarının kronolojisine baktığımızda ağırlıklı tedavi odaklı olduğunu görmekteyiz. İlk olarak 1950 ve 1960'lı yıllar PH, distoni ve tremor semptomlarının tedavisi için bazal gangliyonlar ve talamus bölgelerinin hedeflendiği ablatif stereotaksik cerrahinin sık kullanıldığını görmekteyiz. Cerrahi müdahalelerin yaygın olarak kullanıldığı bu dönem, 1960'ların ortalarında PH'nin tedavisi için levodopan kullanılmaya başlanması ile sonlanmıştır. Bununla birlikte, L-

DOPA bağımlı diskinezilerin ortaya çıkması 1990'lı yılların başında stereotaksik cerrahiye belirli oranda geri dönüşe neden olmuştur. Hareket bozukluklarının tedavisi için cerrahi müdahale yöntemine geri dönüşü sağlayan faktörlerden biri de bazal gangliyon devrelerinin işlevsel organizasyonu ve hareket bozuklukları (özellikle parkinsonizm) patofizyolojisi ile ilgili konularda artan bilgi birikimidir. Ek olarak, primatlarda 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) nörotoksini aracılı parkinsonizm modelinin geliştirilmesi de PH konusundaki çalışmalara hız vermiştir (57). Bulgular, PH tedavisinde cerrahi müdahalenin değerini ortaya koyarak subtalamik çekirdeği (STN) potansiyel terapötik bir hedef olarak öne çıkarsa da bu bölgeye tedavi amaçlı yapılan lezyonların birçok riski de beraberinde getirebileceği gerçeğini de tartışmaya açmıştır. Bu dönemde özellikle Laitinen ve ark. Parkinsonizm ve levadopa kaynaklı motor komplikasyonların tedavisi için globus pallidus interna (GPi) bölgesini özgün terapötik bir hedef olarak göstermesi palidotomik cerrahi girişimleri ön plana çıkarmaya başlamıştır (58). Ek olarak, Benabid ve ark. 1980'li yılların sonlarında talamusun yüksek frekanslı elektriksel stimülasyonunun (derin beyin stimülasyonu; DBS) tremor tedavisinde talamotomi yöntemi kadar etkin olduğunu bulması ile parkinsonizm tedavisinde STN hedefli DBS kullanımı ilgi çekmeye başlamıştır (59). Bu dönemde, primatlar ve insanlarda STN hedefli DBS kullanımının özellikle ileri evre Parkinson hastalarında levadopa bağımlı komplikasyonlar ve tedaviye dirençli tremor tedavisinde umut verici sonuçlar sağlaması bir tedavi seçeneği olarak kullanımını artırmıştır. Parkinsonizm tedavisinde cerrahi yaklaşımlar umut verici sonuçlar göstererek hastalığın semptomlarında kısmi hafiflemeler sağlasa da diğer başka komplikasyonlara yol açmaları ve bütüncül tedavi sağlayamamaları sebebiyle PH ilişkili araştırmaların hız kesmeden devam etmesini sağlamıştır. Bu araştırmalar günümüzde asıl olarak hastalığın önlenmesi ve/veya ilerlemesinin yavaşlamasına katkıda bulunabilecek yaklaşımlar üzerinde çalışmaktadır.

PH'da özellikle motor belirtilerin ortaya çıkmasından sorumlu olan bazal gangliyon sistemi, serebral korteksten başlayan daha sonrasında bazal gangliyon yolları ve talamusu geçerek tekrar kortekste ki kaynak aldığı ya da komşu bölgelere geri dönen paralel ve kapalı devrelerden oluşan bir sistemdir. Bu devrelerin genel yapısı Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Bu devreler, köken aldıkları kortikal alanların işlevlerini yansıtacak şekilde motor, okülomotor, prefrontal ve limbik olarak gruplandırılmıştır. Devreler arasındaki işlevlere göre ayrılmış bu organizasyonun kortikal girdilerin eş zamanlı

işlenmesini sağladığı düşünülmektedir. Bu ayrım ilgili devrelerle ilişkili patofizyolojilerin birbirinden ayrı biçimde hedeflenerek tedavi edilebileceği düşüncesini doğururken aynı zamanda PH patofizyolojinin son derece kompleks bileşenlerden oluştuğunu da gözler önüne sermektedir. Bahsi geçen devrelerden olan motor devre; motor korteks, premotor korteks, singulat korteks ve suplementer motor alanı da dahil olmak üzere kortikal motor alanlarında başlar ve son bulur. Motor devrenin kortikal başlangıç bölgeleri striatumun motor bölgelerini uyarır.

Motor devrenin ilk basamağı olan kortikostriatal projeksiyonlar, striatal orta boy dikensi çıkıntılı nöronların (*medium spinny neuron*, MSN) dendritlerinde son bulur.



Şekil 2.4. Bazal gangliyonun motor ve motor olmayan döngüleri. [60]'dan değiştirilmiştir.

SMA: Tamamlayıcı motor alan, PMC: Premotor Korteks, CMA: Singulat Motor Alan, M1: Primer Motor Alan, SNr: Substantia nigra pars reticulata, Gpi: Globus pallidus interna, VLa: Ventral Lateral Çekirdek Anterior, VLm: Talamus pars medialis'inin ventrolateral çekirdeği, VApc: ventral anterior talamik çekirdeğin parvosellüler kısmı, FEF: Frontal göz alanı, SEF: Suplementer göz alanı, MDpl: Talamusun mediodorsal çekirdeğinin parvosellüler alt çekirdeği, VLcr: Ventral Lateral Çekirdek Kaudal, VApc: ventral anterior talamik çekirdeğin parvosellüler kısmı, DLPFC: Dorsolateral prefrontal korteks, LOFC: lateral orbitofrontal korteks, VAmc: Talamusun medial ventral ön çekirdeği, MOFC: Medial Orbitofrontal Korteks, ACA: Ön singulat bölge, VS: Ventral striatum, MD: mediodorsal nucleus

Buradan çıkan farklı γ -aminobütirik asiderjik (GABA) nöronlar ise striatal motor alanları globus pallidus'un dış segmentine (GPe) ve globus pallidus'un iç segmenti (GPi) ile

substantia nigra pars reticulata (SNpr) bölgelerine bağlar. GPi ve SNpr, bazal ganglionların ana çıktı çekirdekleridir ve talamus ile beyin sapına kadar uzanır. GPi ve SNpr'ye yapılan striatal projeksiyonlar "direkt/doğrudan" ve "indirekt/dolaylı" yol olarak ikiye bölünmüştür (Şekil 2.5.).

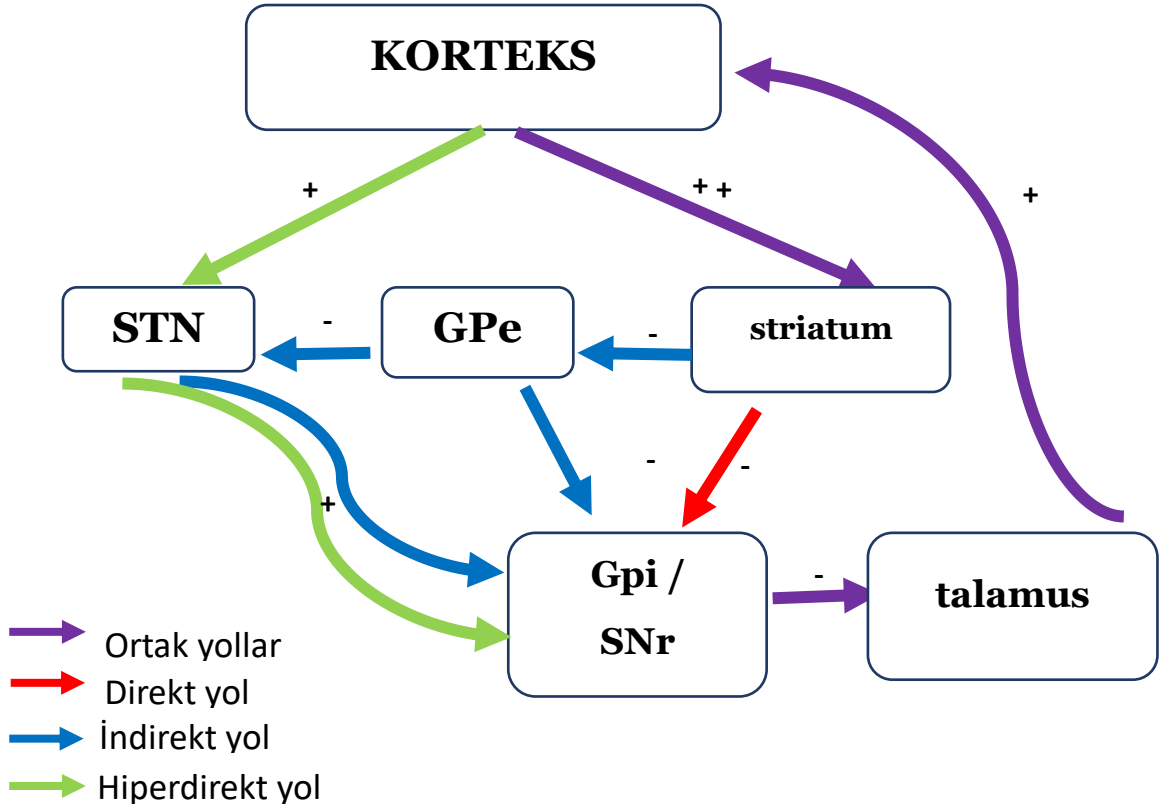
Direkt yol, GPi ve SNpr'ye monosinaptik olarak projekte olan MSN'lardan başlar. Bu nöronlar D1 dopamin reseptörleri ihtiva eder. İndirekt yol ise GPe'ye projekte olan ve D2 dopamin reseptörlerini ihtiva eden MSN'lardan başlamaktadır. İndirekt yol ayrıca hem doğrudan hem de STN aracılığıyla GPe'den GPi'ye uzanan projeksiyonları içermektedir.

Bazal gangliyonlara projekte olan bir diğer kortikal girdi olan hiperdirekt yolak, frontal kortikal alanları STN'ye bağlamaktadır. Uzunca bir süre STN'nin indirekt yola ait bir kavşak noktası olduğu düşünülse de son yıllardaki çalışmalar STN'nin de serebral korteksten direkt olarak girdi alabildiğini göstermektedir (60). (Şekil 2.5.)

Belirli bir motor hareket paterni kortikal motor alanlar tarafından işleme alındığında, istemli hareketi kolaylaştırmak ve istemsiz hareketi bastırmak amacıyla önce kortikostriatal yolaktaki glutamaterjik projeksiyonlar aracılığı bazal ganglionlara iletilir. "Direkt" yol, bilgiyi striatumdan GPi/SNPr'ya GABAerjik inhibitör projeksiyonlar yoluyla aktarır, böylece geçici olarak GPi/SNPr aktivitesi azalırken, talamokortikal nöronlardan ateşleme ise serbestlenir. Striatuma giden ilk uyarıyla birlikte serebral korteks, çevredeki diğer motor uyarımları baskılar. Bu baskılamaya "indirekt" ve "hiperdirekt" yolların aracılık ettiği bilinmektedir. Striatal D2 reseptörlerini taşıyan nöronlar serebral korteksin glutamaterjik girdileri tarafından uyarıldığında normalde STN üzerinde tonik GABAerjik inhibisyon uygulayan striatal matris hücrelerinin, GPe'ye inhibitör sinyaller göndermesine izin verir. Bu sayede, STN'nin glutamaterjik nöronları GPi/SNPr'yi uyararak serebral korteks üzerindeki talamik aktiviteyi baskılar ve üst motor nöronlar üzerindeki inhibitör etkileri de artırır (61).

Son olarak, glutamaterjik "hiperdirekt" yol indirekt yolu atlayarak motor, asosiyasyon ve limbik beyin alanlarından uyarıcı sinyalleri STN'ye ileterek GPi/SNPr aktivitesini tetiklemektedir. GPe'ye projeksiyon yapan kortikal nöronların STN'ye projeksiyon yapanlardan farklı olduğunun tespit edilmesi bu bilgiyi destekler niteliktedir

(62). Ek olarak, hiperdirekt yolağın etkisiyle gerçekleşen talamokortikal inhibisyon, bu yolağın hareketin inhibisyonunda önemli bir rol oynayabileceğini de göstermektedir (63).

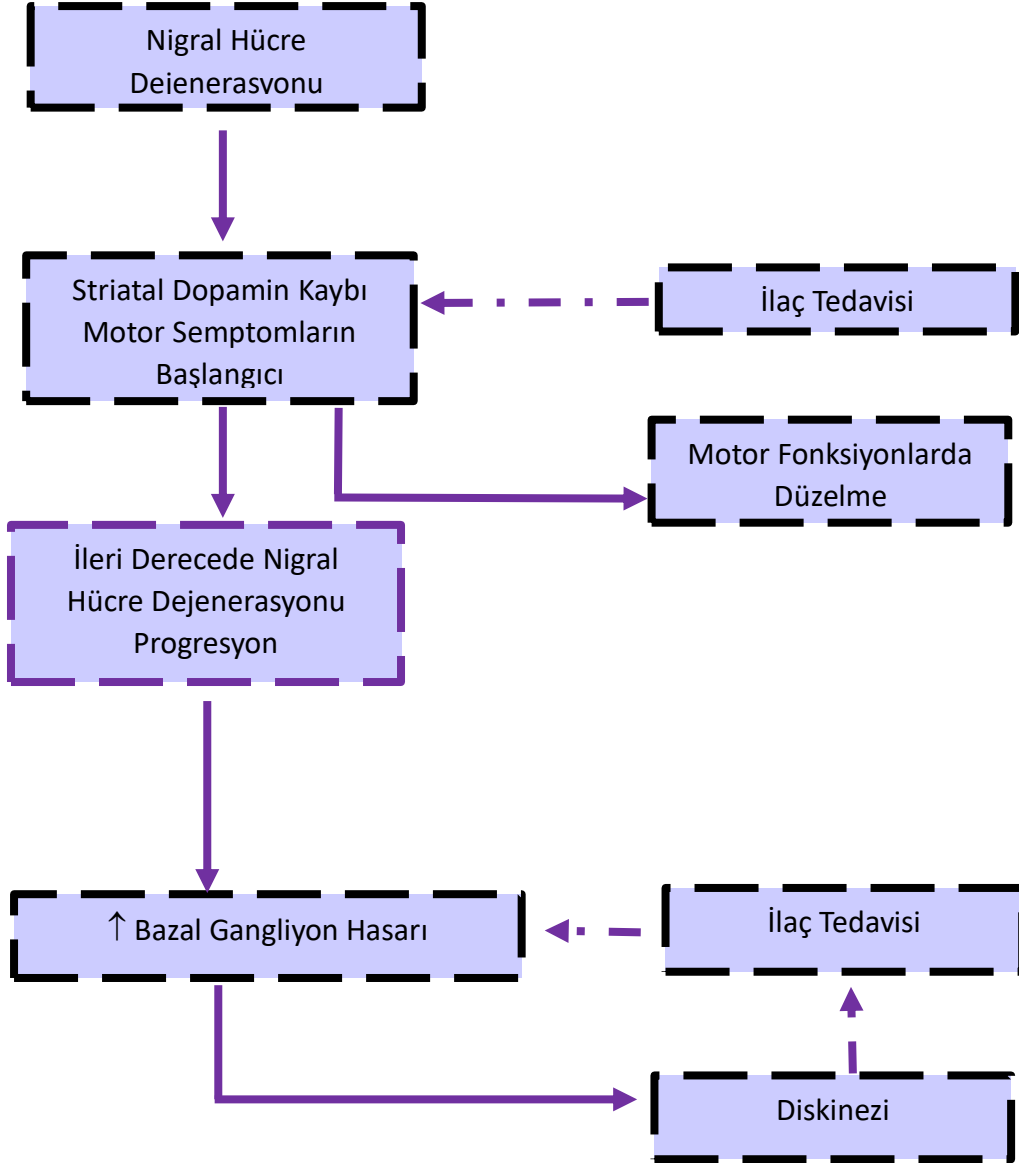


Şekil 2.5. Bazal gangliyonun direkt, indirekt ve hiperdirekt yolları

Bazal ganglionların çıktı çekirdekleri olan GPi ve SNPr, antiparkinson ilaç tedavisinin motor uyarıcı etkilerine aracılık eder. Bu iki yapıyı kontrol eden direkt yolun başladığı nöronlarda yüksek yoğunluklu D1 reseptörleri vardır ve hem GABA hem de dinorfin salınımını destekler. Yapısal ve işlevsel benzerliklere ek olarak GPi ve SNr, L-DOPA veya D1 reseptörü agonistleri ile tedaviden sonra 2-deoksiglukoz (2-DG) alım oranında benzer bir artış göstererek, akson terminallerinin artan metabolik aktivitesini yansıtır.

1980'lerin sonlarında, MPTP'nin SNPc bölgesinde dopaminerjik nöron kaybına neden olduğunun keşfedilmesiyle bazal gangliyonlar ile ilişkili dopamin eksikliğinin PH'de görülen motor bozukluklar ile ilişkilendirilmesi sağlanmıştır (64). PH

patofizyolojisi basitçe Şekil 2.6.'da özetlenmiştir. Buradan da anlaşılacağı gibi hastalığın ilerlemesi ve artan L-DOPA ihtiyacı L-DOPA kaynaklı diskinezilere neden olmakta ve tedaviyi sınırlandırmaktadır. Bu nedenle PH araştırmalarında ilerlemeyi durduracak ve/veya geciktirecek her türlü yaklaşım ve olası yollar incelenmektedir.



Şekil 2.6. Parkinson hastalığının başlangıcı, ilerlemesi ve ilaç tedavisi

2.2.2. Parkinson Hastalığı Hayvan Modelleri

PH çalışmalarında kullanılan deneysel hayvan modelleri iki ana kategoriye ayrılmaktadır: toksik ve genetik. Bazı modellerde her iki yaklaşım birlikte

kullanılmaktadır. Ancak, Őu anda bu hastalığı araŐtırmak için kullanılan mevcut modellerin hićbiri PH'yi tam olarak temsil etmemektedir. Bunun sebebi ise bu modellerin PH ile ortaya ćıkan bazı nöropatolojik ve/veya davranıŐsal özellikleri tam olarak yansıtamamasıdır. Sadece PH deęil birćok hastalık birbiri ile karmaŐık iliŐkiler aęına sahip sistemlerde ortaya ćıkan bozukluklar sebebi ile geliŐtięinden, PH ćalıŐmalarında kullanılacak olan model sećilirken en önemli etken kullanılacak modelin araŐtırma kapsamında cevabı aranan soruyu en doęru test edebilecek yöntem olmasıdır.

a. Toksik Modeller

Reserpin, haloperidol ve lipopolisakkarit gibi birćok inflamatuvar madde ve rotenon, parakuat gibi kimyasal toksinler PH hayvan modeli geliŐtirmede kullanılsa da bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan iki madde sıćanlar için 6-OHDA, fare ve maymunlar için ise MPTP'dir.

Nörotoksik ajanların kullanıldığı hayvan modelleri, nigrostriatal yol dejenerasyonunu test etmek için en uygun modeller gibi görünseler de, bunların sonucunda geliŐen PH'nin insanlarda görülen hastalıktan bazı önemli farkları vardır. Örneęin; nörotoksik modeller sonucu geliŐen PH'de dopaminerjik nöronların dejenerasyonu hastalığın normal seyriden hızlıdır, yani süreć yıllar değil günler sürmektedir. Ek olarak bu modellerde lezyonlar spesifik olarak dopaminerjik nöronlara hedefli değilse bile en ćok hasar bu nöronlara verilir. Ayrıca, toksik PH modeli geliŐen hayvanlarda *Lewy* cisimcikleri adı verilen ve PH'de tipik olarak görülen inklüzyonlar görülmez.

MPTP, PH'de dopaminerjik nöronların ölümüyle ilgili mekanizmaların araŐtırılması için sıklıkla tercih edilen bir toksindir. MPTP'nin bir ćok hayvan türünde nörotoksik etki gösterdięi bilinmektedir (65). MPTP ile geliŐtirilen PH modellerinde en sık tercih edilen türler primatlar ve farelerdir. Sıćan türleri söz konusu olduęunda bu toksinin tercih edilmeme sebebi ise sıćanların bu toksine karŐı direnćli olduęunun gösterilmiŐ olmasıdır (66). MPTP'nin primat ve farelerde özellikle striatum ve SNpc'de yüksek oranlı DA kaybı ile birlikte nigrostriatal dopaminerjik yolakta da hasara neden olduęu gösterilmiŐtir (67). Nigrostriatal sistem üzerindeki bu spesifik nörotoksik etki, MPTP modelinin önemli bir özellięidir. MPTP ćalıŐmalarından elde edilen nöropatolojik veriler, MPTP uygulamasının nigrostriatal dopaminerjik yolakta PH'dekine benzer

oranda hasara neden olduğunu göstermiştir. Ek olarak MPTP, yine PH'de olduğu gibi, SNc'de ventral tegmental alan (VTA) veya retrorubral alana kıyasla daha yüksek dopaminerjik nöron kaybına neden olmaktadır (68-70).

MPTP'ye benzer olarak, 6-OHDA da sıçanlarda nigrostriatal dopaminerjik nöron lezyonu oluşturmak için kullanılan seçici katekolaminerjik bir nörotoksindir (71). 6-OHDA kan-beyin bariyerini geçemediğinden, bu toksinin sistemik uygulaması parkinsonizm gelişiminde başarısızdır. Bu sebeple, 6-OHDA'nın PH modeli geliştirmesi için SNpc'ye, medial ön beyin demetine veya striatuma enjekte edilmelidir. Bu bölgelere yapılan enjeksiyonlar genellikle tek taraflı (unilateral) yapılmaktadır. Unilateral nörotoksin enjeksiyonu yapıldığı hemisferde nörodejenerasyona ve vücudun kontralateral tarafında PH semptomları geliştirirken aynı hayvanın enjeksiyon yapılmayan hemisferi etkilenmediği için kontralateral uzuvlar kontrol olarak kullanılabilir (72). 6-OHDA enjeksiyonu hemisferlere direkt olarak uygulanmakla birlikte intraventriküler olarak da uygulanabilmektedir (73). 6-OHDA nörotoksininin enjeksiyonuna bağlı hayvanlarda görülen etkiler akut MPTP modelinde görülen etkilere benzerdir ve bu toksin de kısa bir süre içinde (12 saat ila 2-3 gün) nöronal ölüme neden olmaktadır. 6-OHDA enjeksiyonu sonrası tam lezyon oluşan hayvanlardaki dopaminerjik nöron kaybı, PH'de görülen bozukluklara benzer şekilde enjeksiyonun ardından VTA'ya kıyasla SNpc'de daha fazla hücre kaybı ile kendini göstermektedir (74).

6-OHDA modelinde de MPTP'deki sonuca benzer biçimde nigrostriatal *Lewy* cisimcikleri benzeri inklüzyonlar oluşmamaktadır. Unilateral 6-OHDA modeli sonucu gelişen motor bozuklukların davranışsal değerlendirmesi ise ilaca bağlı rotasyon testleri (75) ve çeşitli sensorimotor test düzenekleri ile yapılmaktadır (76).

b. Genetik Modeller

Deney hayvanlarında parkinsonizm gelişimi için kullanılan bir diğer yöntem olan genetik modeller sonucu gelişen PH, patolojik ve davranışsal olarak incelendiğinde insanlardaki eşleniğinden farklı olsa da PH'nin genetik formlarının altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasında yararlıdır. Genetik PH modelleri ile yapılan çalışmalar spesifik genlerin mitokondri disfonksiyonu (77), bozulmuş mitofaji (78), ubikuitin-proteazom sisteminde işlev bozukluğu (79) ve artmış oksidatif stres (80) gibi birçok hücresel ve moleküler patolojiye sebep olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte,

genetik modellerde nigrostriatal DA değişimini değerlendiren çalışmalar, bu bölgede belirgin dopaminerjik nöron kaybı göstermemiştir. Bu sebeplerle, genetik modellerin PH'nin nöropatolojik bulgularını modelleme konusunda toksik modellere kıyasla daha zayıf olduğu düşünülmektedir (81, 82).

2.3. Obezite ve Parkinson Hastalığı

PH gelişen bireylerde hastalıktan sonra kilo kaybı olduğu pek çok çalışmada gösterilmiş olmasına karşın, artmış vücut ağırlığının hastalığın gelişimine etkisi yakın zaman kadar direkt olarak incelenmemiştir (83, 84). Günümüzde gittikçe artan insidansı ile dikkat çekmekte olan obezitenin metabolizma üzerindeki etkileri çoğunlukla aydınlatılmıştır ancak fazla kilolu ya da obez olma durumunun nörodejeneratif süreçlerdeki rolünü inceleyen son yıllarda yapılan çalışmalar, artan VKİ değerlerinin motor beceriler üzerinde çeşitli olumsuz sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymaktadır. rnek olarak, aşırı kilolu ve obez çocuklarda normal kilolu yaşitlarına kıyasla, daha zayıf motor yetenek performansı, daha düşük ince motor hareket hassasiyeti ve el becerisi tespit edilmiştir. Yetersiz fiziksel aktivite ve sedanter yaşamın vücut kitlesi ve motor becerilerin gelişimini olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir. Ceschia ve ark., obez çocuklarda normal kilolu yaşitlarına kıyasla dayanıklılık, hız, çeviklik, alt ekstremite gücü ve denge açısından eksiklikler olduğunu ortaya koymuştur (85). Ancak bunların obeziteye bağlı olarak hareketsizlikten mi kaynaklandığı, yoksa vücut ağırlığındaki artışın motor işlevlerin merkezi kontrolü üzerinden bir etki ile mi olduğu açıklanmamıştır. Çok yakın zamana kadar PH ve vücut ağırlığı ilişkisini inceleyen çalışmaların neredeyse tamamı hastalık geliştikten sonra görülen otonom disfonksiyon ve besin alımının azalması ile ilişkili bulguları rapor etmektedir (86-88). Ancak son birkaç yıldır yapılan araştırmalar obezitenin PH riskinde artış ile ilişkili olabileceğini işaret etmektedir (89, 90).

Obezojenik evresel faktörlerin sadece obezitenin değil nörodejeneratif hastalıkların gelişimi ve ilerlemesini de etkilediğinin saptanması bu iki hastalığın patogenizindeki ortak biyolojik mekanizmalar ile açıklanmaktadır (91, 92).

Enerji alımının artması ya da tüketiminin azalması sonucu adipoz dokunun genişlemesi olarak tanımlanan obezitede görülen metabolik değişiklikler nörokognitif bozulma ile ilişkilendirilen IR'ne neden olmaktadır (93, 94). Bunun nedeni obezitede gözlenen IR ve hipergliseminin oksidatif stres ve inflamasyona neden olarak nöronal

dejenerasyona yol açmasıdır (95). Aralarında leptinin de olduğu çok sayıda proinflamatuvar adipokinin nörodejeneratif süreci tetikleyen nöroinflamasyonda rol oynadığı ileri sürülmektedir (96).

Obezite ile artan yağ dokusu sistemik dolaşıma proinflamatuvar sitokinlerin, proteazların ve çeşitli büyüme faktörlerinin salımını da artırdığı için obezite gelişimi aynı zamanda kronik bir inflamatuvar süreç olarak kabul edilmektedir. Öyle ki, YYD ile obezite modeli oluşturulan deney hayvanlarının beyinlerinde daha yüksek düzeyde tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve interlökinler gibi proinflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve oksidatif stres tespit etmişlerdir (97, 98).

DSÖ tarafından obezite VKİ 30 kg/m²'nin üzerinde olması olarak tanımlanmaktadır ve bu durum kanser, kalp hastalıkları, PH, AH ve tip II diyabet de dahil olmak üzere birçok hastalık için önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir (99). VKİ'nin 25 kg/m²'den fazla olması ile bilişsel bozukluklar, demans, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarına yakalanma riski arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (100-102). Yüksek VKİ hastalık gelişme riskinin artması ile ilişkili iken, bir meta analiz çalışması DSÖ kriterlerine göre düşük kilolu (< 18.5 kg/m²) olarak sınıflandırılan bireylerin PH, demans veya demansla ilişkili ölüm oranlarının fazla kilolu (\leq 30 kg/m²) bireylere göre daha yüksek olduğunu tespit etmiştir.

PH'de görülen nörodejenerasyondan sorumlu mekanizmalar (103-105) aynı zamanda obeziteye bağlı olarak da görülmektedir. İnsanlardan elde edilen veriler çok sınırlı olmasına karşın, obezite ve PH ilişkisini inceleyen hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar da vücut ağırlığı ve PH arasında ilişki olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bittencourt ve ark (54) 25 hafta süre YYD ile besledikleri sıçanlarda önemli nigrostriatal değişiklikler tespit etmişler ve obezite gelişen hayvanlarda VTA'da TH düzeylerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Ek olarak, obez hayvanlarda IR, artmış TNF- α seviyeleri, oksidatif stres, astroglioz ve mikroglia aktivasyonu tespit edilmesine rağmen α -sinüklein düzeylerinde fark saptanmamıştır. Aynı çalışmadaki hayvanlara ait davranışsal testler ise, obezitenin lokomotor aktivite, spontan aktivite ve anksiyete ile ilgili parametrelerde bozulmaya neden olduğunu göstermiştir. Son olarak araştırmacılar obez hayvanlarda nigrostriatal aksda TH seviyelerinin azalmasının, α -sinükleinden bağımsız bir yoldan meydana geldiğini ve sebebinin de oksidatif stres ve obezitenin neden olduğu metabolik bozukluklara atfedilebileceğini belirtmişlerdir (54). Bu kapsamda

adipoz dokunun, inflamatuvar mediyatörleri üretebilmesi sebebiyle kronik inflamasyonun gelişiminde anahtar rol oynayabileceği düşünülmektedir. Gelişen kronik inflamasyonun dopaminerjik sistem üzerindeki zararlı etkileri birçok çalışma ile ortaya konmuş olsa da bu sürece dahil olan mekanizmaların belirsizliğini koruyor olması ilgi çekicidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında, Başkent Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Üretim ve Araştırma Merkezinden alınan *Sprague-Dawley* cinsi, 6-8 haftalık 36 adet erişkin (200-250 g) erkek sıçan kullanılmıştır. Tez çalışması planlanırken *G-power* programı kullanılarak iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi için tek yönlü varyans analizi kullanarak $\alpha = 0,05$ anlamlılık ve $\beta = 0,80$ güç değeri ile örneklem genişliği hesaplanmış ve istatistiksel değerlendirmelerin yapılabilmesi için gereken en az hayvan sayısı ($n = 15$) belirlenmiştir. Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneysel Etik Kurulu tarafından 29.05.2019 tarihli, 2019-05-02 karar nolu toplantı ile etik kurul izni alınarak çalışma başlamıştır. Etik kurul onayı Ek 1’de verilmiştir. Hayvan deneylerinde deney hayvanı kullanım sertifikasına sahip araştırmacılar görev almıştır. Deneysel protokolü ilgili yasal mevzuat ve ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından yayınlanan “Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Rehberi” (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, 8th Ed.) (106) belirtilen kurallara göre hazırlanmış ve çalışma boyunca bu kurallara uygun davranılmıştır.

3.1. Deneysel Grupları

Hayvanlar laboratuvara getirildikten sonra ortam, araştırmacı, kafes vd. açılardan uyumu için bir hafta beklendikten sonra, PH modeli uygulanacak olan hayvanlar kendi içerisinde basit randomizasyon ile rastgele olarak standart yem ile beslenen standart diyet (STD $n = 15$) ve % 30 yağ içeren yem ile beslenen yüksek yağlı diyet (YYD, $n = 15$) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılacak hayvanlara uygulanacak olan PH modelinin neden olabileceği morfolojik değişiklikleri normal sağlıklı hayvanlar ile karşılaştırabilmek için beslenme ve operasyon açısından müdahale edilmeyen *sham-opere* bir kontrol grubu ($n = 6$) eklenmiştir (Tablo-3.1.). Tüm protokol boyunca hayvanlar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD Deneysel Hayvanlar Ünitesinde nem, sıcaklık ve havalandırma koşulları kontrol edilen bakım odalarında; 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde en az 8 hafta süreyle *ad libitum* su ve kontrol grubuna standart sıçan yemi (% 15 protein, % 15 selüloz, % 13 su, % 2,5 yağ, % 14 kil); YYD grubuna yüksek yağlı, yüksek kalorili yem (75 gram standart yeme hayvansal bir yağ türü olan iç yağından 20 gram eklenip yağ içeriği % 30 olan yem) verilerek beslenmiştir. YYD

grubu hedeflenen vücut ağırlığına ulaştığında, STD grubu da eşdeğer beslenme süresini takiben 6-OHDA kullanılarak aşağıda ayrıntıları verilen protokol dahilinde PH modeli geliştirilmesi için stereotaksik cerrahiye alınmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlara yalancı ameliyat (*sham operation*) uygulanmıştır.

Tablo 3.1: Deney grupları

Grup	Hayvan Sayısı (n)
Kontrol (<i>Sham- opere</i>)	6
Parkinson Modeli + Standart Diyet (STD)	15
Parkinson Modeli + Yüksek Yağlı Diyet (YYD)	15

Deney protokolüne uygun şekilde erişkin *Sprague-Dawley* (n=30) erkek sıçanlarda stereotaksik cerrahi yöntemi kullanılarak fasciculus medialis telencephali, medial önbeyin demeti (*medial forebrain bundle*, MFB) bölgesine 6-OHDA enjeksiyonu ile ileri evre Parkinson Hastalığı oluşturulması hedeflenmiştir [101, 102]. Kontrol grubu (n = 6) hayvanları için ise diğer grupla aynı beyin bölgesine çözücü (% 0,9 NaCl) enjeksiyonu yapılmıştır.

En az 8 hafta belirlenen diyetle beslenen hayvanlardan YYD grubunun istenilen vücut ağırlığına ulaştığı belirlendikten sonra, tüm hayvanlar 6-OHDA kullanılarak aşağıda ayrıntıları açıklanan protokole göre stereotaksik cerrahiye alınmıştır. YYD grubuna uygulanacak beslenme süresi daha önceki çalışmalarımız ve literatür bilgisi ışığında sekiz hafta olarak öngörülmüştü. Haftalık vücut ağırlığı takibi sonucunda, iki beslenme grubu arasında % 30'luk vücut ağırlığı farkı oluşmaması durumunda YYD ile beslenme süreci uzatılarak hedef ağırlığa ulaşması beklenmiştir. Yüksek yağlı diyet grubundan dört (n = 4) hayvan istenilen vücut ağırlığı farkına ulaşmadığı için ek olarak 8-10 gün daha YYD ile beslenmeye devam etmiştir.

Deney hayvanlarında PH modeli oluşturmak için kullanılan 6-OHDA enjeksiyonu birçok beyin bölgesini hedefleyerek gerçekleştirilebilmektedir. Bu bölgeler arasında

MFB bölgesine yapılan enjeksiyonların ileri evre PH'ya sebep olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (107, 108). Literatür bilgileri 6-OHDA enjeksiyonunun yapıldığı bölgede nöroinflamatuvar süreçler aracılığıyla etkili biçimde dopaminerjik nöron kaybına neden olduğunu göstermektedir. Fakat, nöroinflamatuvar süreçler selektif olarak dopaminerjik nöronlara özgü olmayıp enjeksiyon yapılan bölgedeki diğer nöron tiplerine de hasar vermektedir. Bu yaygın etki doğru Parkinson modeli oluşturulmasını engelleyebileceği için, 6-OHDA uygulanmadan önce enjeksiyon yapılacak bölgedeki diğer nöronların korunmasını sağlayacak belli ajanların verilmesi önemli bir gerekliliktir. Desipramin ve pargylinin premedikasyonu, 6-OHDA'nın neden olduğu lezyonların seçiciliğini ve etkinliğini arttırmak için genellikle 6-OHDA enjeksiyonundan 30 dakika önce kemirgenlere uygulanmaktadır (109). Noradrenalin/5-hidroksitriptamin (5HT) gerilim inhibitörü olan desipramin, 6-OHDA kaynaklı noradrenalin ve 5HT yıkımını azaltırken, bir monoamin oksidaz inhibitörü olan pargyline ise, 6-hidroksidopaminin ekstrasinaptik parçalanmasını azaltarak dopaminerjik terminallerin 6-OHDA'ya hassasiyetini artırmaktadır. Bu sebeplerle, desipramine 25 mg/kg, pargilin ise 5 mg/kg olarak stereotaksik 6-OHDA enjekte edilmeden 30 dk önce sistemik (intraperitoneal) olarak uygulanmıştır (109).

İntraperitoneal desipramin ve pargilin enjeksiyonu yapıldıktan sonra, hayvanları stereotaksi cerrahisi süresince genel anestezi altında tutmak için ketamin-ksilazin kombinasyonu (Ketamidol,90 mg/kg; Ksilazin, 10 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Anestezi derinliği parmak sıkıştırma yöntemi ile kontrol edildikten sonra ilk olarak kafa derisi dikkatlice tıraşlanmıştır. Daha sonrasında hayvanlar stereotaksik çerçevesine (RWD Life Science, Guangdong, Çin Halk Cumhuriyeti) usulüne uygun biçimde yerleştirilmiş ve tıraşlanmış olan kafa derisi dezenfekte edilerek steril koşullarda orta hat boyunca 1 cm uzunluğunda bir kesi ile açılmıştır (Şekil-3.1). Açılan kafa derisi daha rahat çalışma ortamı oluşturulması amacıyla her iki yanından dikkatlice ayrılarak sabitlenmiştir. Takiben, kafatası yüzeyindeki bağ dokusu pamuk yardımı ile dikkatlice kazınarak cerrahi drill ile delme işlemine başlamaya hazır hale getirilmiştir. Stereotaksik cerrahi işlemi süresince tüm hayvanların vücut sıcaklığı termal pad ve rektal sıcaklık monitörizasyonu ile 37 ± 1 °C'de sabit tutulmuştur.



Şekil 3.1: Stereotaksi çerçevesine yerleştirilmiş ve kafa derisi açılmış bir sıçan.

Ön çalışmalar ve literatür bilgileri ışığında deney hayvanlarında tek taraflı parkinsonizm modeli oluşturulması amacıyla sağ MFB bölgesine 6-OHDA enjeksiyonu stereotaksik enjeksiyon yöntemi ile uygulanmıştır (110). Literatür kapsamında sıçanlarda 6-OHDA enjeksiyonu ile Wistar sıçanlarda parkinsonizm modeli geliştirmek için en sık kullanılan koordinatlar; burun çubuğu -2,3 mm'ye ayarlı iken bregmaya göre: Anterior = -4,4 mm, Lateral = -1,0 mm, Ventral = -7,8 mm (dura mater başlangıcından)'dir. Bu koordinatlar kullanılarak son yıllarda yapılan 6-OHDA ile parkinsonizm modeli çalışmalarında başarı oranının düşmesi sebebiyle yeni koordinat noktalarının hesaplanması gerekliliği doğmuştur. Bu sebeple, tez çalışmamız kapsamında 6-OHDA enjeksiyonunun yapılacağı bölge *Pellegrino* stereotaksi atlası ve literatür çalışmaları referans alınarak belirlenmiş ve bu koordinatlar *Sprague-Dawley* sıçanlar için literatüre uygun bir düzeltme faktörüyle yeniden hesaplanmıştır (111). Bu tez çalışmasında kullanılan koordinatlar bregma'ya göre: Anterior= -2,2 mm, Lateral= -1,5 mm, Ventral= -8,0 mm (dura mater başlangıcından)'dir. Median ön beyin demetinin lokasyonunu *Wistar* türü sıçanlar için belirleyen bu koordinatların tez çalışmamız kapsamında kullandığımız *Sprague Dawley* türü sıçanlar için tekrar hesaplanması önemli bir gerekliliktir. Sonuç olarak, her hayvan stereotaksik çerçeveye doğru biçimde yerleştirildikten sonra ilk olarak "incision bar" hayvanın kulakları arası çizginin 4,5 mm üstüne çıkarılmıştır. Daha sonra, her hayvan için bregma ve lambda bölgeleri belirlenmiş aradaki uzaklığın farkı alınarak bu değer 10/9 ile çarpılarak elde edilen düzeltme faktörü bregma'ya göre belirlenmiş olan ve yukarıda verilen koordinatlar ile çarpılıp

hesaplanarak enjeksiyonun yapılacağı bölge belirlenmiştir. Drill dezenfekte edildikten sonra belirlenen alan duramatere ulaşılan kadar dikkatli biçimde delinmiştir (110). Duramater dikkatli bir şekilde açıldıktan sonra içerisinde taze hazırlanmış 6-OHDA veya çözücü solüsyonu olan Hamilton şırıngası (26 gauge, 10 µl) beyin dokusunun başlangıcından itibaren 8 mm derinliğe (ventral) indirilmiştir (Şekil 3.2). Hamilton şırıngasının beyin dokusunda ilerlerken verebileceği hasarı minimuma indirmek amacıyla şırınga ucu dakikada 1 mm olacak şekilde ilerletilmiştir. Deneysel hayvanlarında tek taraflı PH modeli oluşturulması için belirlenen bölge olan medial ön beyin demetine ulaşılmasını takiben enjeksiyon günü taze olarak % 0,9 NaCl (SF) içinde çözülerek hazırlanan 4 µl (12,5 µg) 6-OHDA çözeltisi veya eşit hacimde çözücü (SF) uygulaması 30 saniyede 1 µl akış hızında olacak şekilde verilmiştir. Enjeksiyon işleminin tamamlanmasını takiben şırınga ucu 6-OHDA enjeksiyonunun hedeflenen bölgeye doğru difüzyonunun sağlanması amacıyla 2 dakika süresince hedef bölgede bekletilmiş, sonrasında şırınga ucunun beyin dokusunda ilerlemesinin verebileceği hasarı minimuma indirebilmek için her milimetrede 1-2 dakika beklemek suretiyle dikkatlice çıkarılmıştır (110). Operasyonun başlangıcında açılmış olan kafa derisi steril koşullar altında cerrahi iplikle sürekli dikiş tekniğiyle kapatılmıştır. Hayvanlar anesteziden uyanana kadar ısıtıcı lamba ile sıcaklığı kontrol edilen kafeste tek başına takip edilmiş, ardından kendi kafeslerine alınmıştır.



Şekil 3.2: Düzeltme faktörü ile elde edilen koordinatlara göre medial önbeyin demeti bölgesine ulaşmak için kafatasında açılan delik.

3.2. Parkinson Hastalığı Modelinin Geliştiğinin Doğrulanması

6-OHDA uygulaması yapılan deney hayvanlarında dopeminerjik denervasyonun verifikasyonu için operasyonu takip eden 21. günde apomorfin testi uygulanmıştır (112). Bu kapsamda test günü apomorfin hidroklorür (5 ml/ampül, Britannia Pharmaceuticals-Gen İlaç, Ankara, Türkiye), 0,5 mg/kg konsantrasyonunda taze olarak hazırlanarak deney hayvanlarına intraperitoneal yolla verilerek gelişen davranışsal yanıtlar değerlendirilmiştir. Apomorfin uygulaması ile, beyin lezyonlu tarafındaki aşırı duyarlı reseptörlerinin uyarılması ve buna bağlı olarak deney hayvanının lezyonun kontralateral tarafına doğru dönme davranışı göstermesi beklenmektedir.

Enjeksiyonu takiben hayvanlar 1 saat süre ile gözlenerek lezyon oluşturulan tarafın karşı tarafı yönünde tam tur (360°) dönme sayıları kaydedilmiştir. Buna göre 1 dakikalık süre içinde 6 ve üzeri sayıda tam tur dönen sıçanlarda % 90'ın üzerinde denervasyon geliştiği kabul edilmiştir (113). Ek olarak, belirlenmiş olan 1 saatlik gözlem süresince dakikada 1 ile 5 tam tur dönen veya sadece koklama veya temizlenme davranışı gösteren sıçanlar ise parsiyel denervasyon olduğu kabulü dahilinde çalışmanın sonraki basamaklarına dahil edilmiştir. Verilen süre zarfında hiç dönme hareketi göstermeyen hayvanlar ise tez kapsamında seçilmiş olan sensorimotor testler dahilinde değerlendirilerek PH gelişimi açısından değerlendirilmiştir.

3.3. Motor Testler

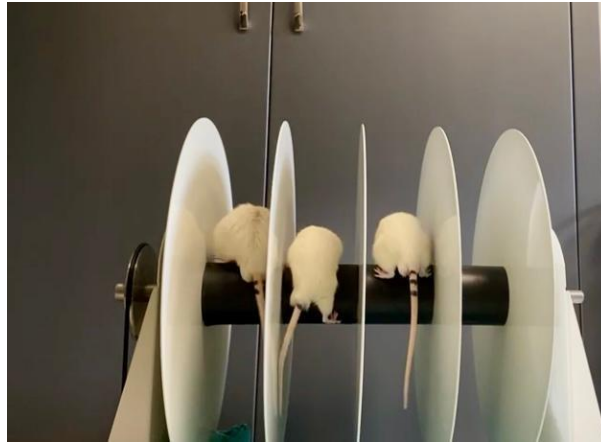
Parkinson hastalığının fizyopatolojisi göz önüne alındığında, değişen oranlarda nigrostriatal disfonksiyon sonucunda azalan dopamin miktarının neden olduğu motor işlev bozuklukları çeşitli sensorimotor testler ile değerlendirilmektedir. Bu testler seçilirken duyuşsal ve motor fonksiyonları çeşitli yönlerden değerlendirebilecek testlerin seçilmesi, nörodejeneratif hastalığın derecesi ve tedavi amaçlı kullanılacak terapötik ajanların etkinlik derecelerinin doğru belirlenmesinde önem taşımaktadır. PH modeli oluşturulan deney hayvanlarında gelişen işlevsel bozuklukları tespit edebilmek için postür/rotasyonel asimetri, motor disfonksiyon ve duyuşsal/bilişsel bozuklukları inceleyen testleri içeren bataryalar kullanılmaktadır. Çalışma kapsamında kullanılacak

sensorimotor testler olarak; rotarod testi, yatay çubukta zorlu yürütme testi ve silindir testi kullanılmıştır (76, 114-117).

PH modeli ile ilgili girişim uygulamasından bir gün önce yukarıda sıralanan yöntemler ile standart yem ve YYD ile beslenen normal ve yüksek vücut ağırlıklı hayvanların bazal skorlamaları yapılmış, enjeksiyonu takiben 21. günde de uygulanan PH modelinin başarılı olup olmadığını ve beslenme grupları arası motor fonksiyon farklılıklarının tespiti amacıyla tüm hayvanlar aynı testlere tabi tutularak tekrar skorlanmıştır.

3.3.1. Rotarod Testi

Bu test geleneksel olarak fare ve sıçanlarda motor koordinasyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Test kapsamında hayvan uzun eksenli etrafında dönen yatay bir mil üzerine yerleştirilmekte ve hayvan bu mil üzerinden düşmemek ve dik durmak için sürekli olarak ileriye doğru hareket etmek zorundadır. Rotarod testi uygulanan cihazların sabit hızlı ve hızlandırılmalı versiyonları mevcuttur. Bu tez çalışmasının yapıldığı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında yer alan rotarod cihazı ile gerçekleştirilen test protokolü alıştırmaya ve test fazı olmak üzere 2 bölüme ayrılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Rotarod test cihazı. (aynı anda 4 deney hayvanının teste alınabileceği 10 cm genişliğinde kaymaz malzemedan oluşan 4 parkuru içeren 8 cm çapındaki silindir çubuk)

Alıştırma Fazı:

- 1) Alıştırma fazı testin video kayıtlarının alındığı test fazı aşamasından 1 gün önce gerçekleştirildi.
- 2) Alıştırma fazının yapılacağı gün sıçanlar kafeslerinde iken testin yapılacağı odada en az 15 dakika süreyle bekletildiler.
- 3) Rotarod aleti “kapalı” durumda iken hayvanlar kendileri için belirlenen parkurlara yerleştirildi. Cihazın dört bölmesi olduğu için hayvanlar rastgele dörtlü gruplar halinde test ya da alıştırma fazına alındılar.
- 4) Hayvanların tamamının dengede oldukları gözlemlendikten sonra rotarod aleti “açık” konumuna getirildi.
- 5) Hayvanların parkurdaki dönüş hızına alışmalarını sağlamak amacıyla cihaz ilk etapta en düşük hızda (dakikada 4 tam tur, 4 rpm) çalıştırıldı.
- 6) Hayvanların 4 rpm hızında dönmekte olan çubuk üzerinde rahatça dengede durduğundan emin olunduktan sonra cihazın hızı her 6 saniyede bir 4rpm artırılarak maksimum dönüş hızına (16 rpm) ulaşması sağlandı.
- 7) Test sonunda rotaroddan alınan hayvanlar kafeslerine konuldu.15 dakika boyunca dinlenmeleri sağlandı.
- 8) 3-7. Maddeler arasında uygulanan protokol, her tekrar arasında 15'er dakika dinlenme süreleri olacak şekilde toplamda 3 tekrarda gerçekleştirildi.
- 9) Her deneme arasında parkurlar % 70 EtOH ile silinip kurulandı.

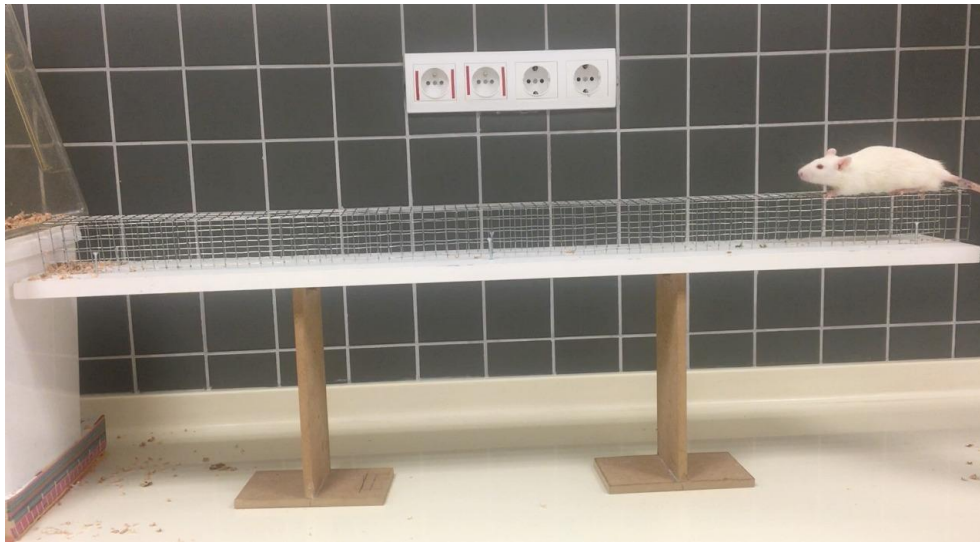
Test Fazı:

- 1) Test fazı aralarında 15'er dakika ara bulunan 3 tekrardan oluşmaktadır.
- 2) Rotarod aletinin tüm parkurlarını karşıdan görebilecek bir noktaya kayıt yapılacak kamera yerleştirildi.
- 3) Kayıt başladıktan sonra tüm hayvanlar kendileri için belirlenen parkurlara aynı anda konularak test kaydı başlatıldı.
- 4) Rotarod aleti maksimum hızı olan 16 rpm'de çalıştırıldı.

- 5) 1 dk boyunca kayıt alındı ve bu süre zarfında kendine ait parkurdan düşen hayvan olursa düşme zamanı kaydedildi.
- 6) 1 dakikalık birinci test fazından sonra hayvanlar kafeslerine geri konarak 15 dakika süresince dinlenmeleri sağlandı.
- 7) Protokolün 3-6. basamakları iki kez daha tekrarlandı.
- 8) Bu testte bazı hayvanlar parkurdan düşmek yerine üzerinde buldukları çubuklara sarılabilir. Bu durumda, denek çubuğa sarıldıktan sonra bir tam pasif dönüşü tamamladığı süre o denek için düşme süresi olarak kabul edildi ve pasif rotasyon ayrıca not edildi.
- 9) Her deneme arasında parkurlar % 70 EtOH ile silinip kurulandı.
- 10) Kayıtlar izlenerek her hayvanın çubuktan düşme süreleri için üç denemenin ortalama değerleri hesaplandı.

3.3.2. Yatay Çubukta Zorlu Yürüme Testi

Yatay çubukta zorlu yürüme testi aparatı, 70 cm yüksekliğindeki 2 kolon üzerine yerleştirilmiş 6,5 cm genişliğe ve 1 metre uzunluğa ve 5 cm yüksekliğe sahip 1 cm x 1 cm boyutlarında kare şeklinde boşlukların bulunduğu tel örgüden oluşmaktadır (Şekil-3.4.). Test yapılacağı gün hayvanlar deney aparatının bulunduğu odaya aklimatize olmaları amacıyla en az 15 dk süresince davranış deneyinin yapılacağı alanda bekletildiler.



Şekil 3.4. Yatay çubukta zorlu yürüme testi

Bu testte, hayvanların parkurun başlangıç noktasından itibaren ileri doğru hareketleri esnasında bir uzvun (ön ayak veya arka ayak) tel örgüden kayması veya tel örgünün altındaki boşluğa girmesi durumu hata olarak sayılmıştır. Hayvan ileri yönlü hareket etmiyorsa veya hayvanın kafası tel örgünün soluna veya sağına dönükse bu durumda yapılan hatalar sayılmamıştır. Bu durumda, çubukta zorlu yürüme testinde deneklerin parkuru kaç adımda tamamladığı ve bu süreçte yaptıkları hata sayısı kaydedilmiştir. Toplamda üç denemeye tabi tutulan denekler denemeler arasında 15 dakika süresince kendi kafeslerinde dinlendirilmiştir.

Video kayıtları ağır çekimde incelenerek;

- 1) Deneklerin parkuru kaç adımda tamamladıkları
- 2) Parkuru tamamlama süreleri ve
- 3) Parkur boyunca yaptıkları hata sayısı kaydedilmiştir.

Yatay çubukta zorlu yürüme testi iki fazdan oluşmaktadır:

Alıştırma Fazı

- 1) Yürüme çubuğu 70 cm yükseklikte bulunan 2 adet kolon üzerine yerleştirilerek dengede durması sağlandı.
- 2) Boş bir kafes parkurun bitiş noktası konumuna iç kısmı görünecek biçimde yerleştirilerek denek için varış noktası ayarlandı.
- 3) Deneye alınacak gruba ait kafesten bir miktar talaş bitiş noktasında yer alan kafesin içine konularak denekler için aşına oldukları bir ortam oluşturulması sağlandı.
- 4) Teste alınacak hayvan kafesinden alınarak parkurun başlangıç noktasına yerleştirildi ve araştırmacı deneğin görüş alanından uzaklaştı.
- 5) Alıştırma fazının amacı deneğin parkura aşına olmasını sağlamaktır. Bu kapsamda, eğer denek başlangıç noktasına doğru geriye dönmek isterse araştırmacı yumuşak biçimde varış noktasına doğru yönlendirildi. (Gerekli durumlarda varış noktasında bulunan kafes gösterilerek deneğin varış noktasına yönelmesi sağlanabilir).
- 6) Deneğin bir tam tur olarak başlangıç ile varış noktası arasında ilerlemesi sağlandı.
- 7) Antrenman fazında bir deneme deneğin ön ayaklarını varış noktasında bulunan kafese koymasıyla tamamlandı.
- 8) Deneğin 1 dakika süresince hareketsiz kalması durumunda denek parkurdan alınarak kafesine geri konuldu.

- 9) Her denek arasında tel örgü % 70 EtOH ile silinip kurulandı.
- 10) Alıştırma fazı aralarında 15'er dakika dinlenme süresini içeren 3 deneme şeklinde uygulandı.
- 11) Test gününde tüm düzen aynı kalmakla birlikte bu sefer çubuk üzerine tel örgülü parmaklık yerleştirildi.
- 12) Video kamera sistemi kullanılarak deneklerin başlangıç ile bitiş noktası arası hareketleri kaydedildi.

Test Fazı:

- 1) Test fazı ile alıştırma fazı arasında en az 24 saat süre bırakıldı.
- 2) Tüm test alanını görecektir şekilde yerleştirilen kamera kaydı başlatıldıktan sonra sıçan çubuğun başlangıç noktasına konuldu.
- 3) Test fazı uygulama yönergesi alıştırma fazındaki yönerge ile aynı olmakla birlikte eğer denek test fazı başlangıcından itibaren 1 dakika süresince hareketsiz kalır veya parkuru tamamlayamaz ise kafesine konuldu.

3.3.3. Spontan Aktivite Testi

Spontan aktivite testi tek taraflı PH modelinde motor bozukluklarının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testi uygulamak için gerekli aparat, şeffaf bir cam parçası üzerine yerleştirilen yine şeffaf ve 30 cm yüksekliğinde ve 20 cm genişliğinde kenarlara sahip yekpare ve dikdörtgen bir cam kutudan oluşmaktadır. Şeffaf cam kutunun üzerine yerleştirildiği şeffaf cam yüzey yerden 30 cm yükseklikte konumlandırılmıştır. Bu sayede, kamera sistemi deneklerin kutu içerisindeki hareketlerini aşağıdan görebilecek biçimde yerleştirilerek kayıt alınabilmektedir (Şekil 3.5). Spontan aktivite testi doğası gereği deneklerin spontan hareket başlatma ve sürdürme davranışlarını incelediği için bu testin uygulama yönergesinde alıştırma fazı bulunmamaktadır. Bu sebeple, spontan aktivite testi her denek için 5 dakika süreyle 1 defa stereotaksi uygulaması öncesinde bir defa da stereotaksi ile PH modeli oluşturulup ilgili denek iyileşme sürecini tamamladıktan sonra olmak üzere toplam iki kayıttan oluşmaktadır.

Diğer davranış testleri ile benzer biçimde spontan aktivite testine tabi tutulan hayvanlar da testin yapılacağı odaya en az 15 dakika öncesinden getirilerek ortama

uyumları sağlandı. Video kaydı başlatıldıktan sonra hayvan test düzeneğine yerleştirildi. Spontan aktivite testi sırasında hayvanın olfaktör, işitsel ve/veya görsel ipuçları vasıtası ile rahatsız olmasını engellemek ve spontan aktiviteyi etkilememek için test süresince araştırmacı testin gerçekleştirildiği odada bulunmadı. 5 dakikalık test süresince alınan kamera kayıtlarında:

- 1) Deneklerin test süresince attıkları arka ve ön ayak adım sayıları
- 2) Temizlenme (*grooming*) süresi
- 3) Dikelme/şahlanma (*rearing*) sayısı değerlendirildi.

Ön ve arka adım sayıları değerlendirilirken deneklerin sağ ve sol ayaklarının koordineli ve birbirini takip edecek şekilde yaptıkları hareketler adım sayısı olarak kaydedilmiştir. Dikelme, hayvanın ön ayakları havada veya duvara dayanmış pozisyonda arka ayakları üzerinde dengeli bir şekilde durması olarak kabul edildi.



Şekil 3.5. Spontan aktivite testi düzeneği

3.4. Deney Protokolünün Sonlandırılması ve Beyin Dokusunun Fiksasyonu

Deney hayvanları son davranış testlerinin tamamlanmasından 24 saat sonra ketamin-ksilazin kombinasyonu (Ketamidol (90 mg/kg), Ksilazin (10 mg/kg) i.p) ile derin anestezi altına alınmış, göğüs kafesi açıldıktan sonra, kalp apeksinden kanüle edilerek transkardial olarak ilk önce heparin içeren % 0,9 serum fizyolojik (~50 ml) ve

onu takiben 0,1 M fosfat tamponu içerisinde hazırlanan % 4'lük paraformaldehit (PFA) ile (~ 50 ml) perfüze edilmiştir. Perfüzyon 30 dakika sonunda sonlandırılarak, beyin dokusu dikkatli bir şekilde çıkarılıp fiksatif (% 4'lük PFA) içerisine alınarak immünfloresan boyama deneyleri gerçekleştirilene kadar +4°C'de saklanmıştır. Fiksasyon işleminin başarılı biçimde gerçekleştirilmesinin ardından beyin dokuları fiksatif içerisinden alınıp % 30 sükröz çözeltisine alınarak kesit almaya hazır hale getirilmiştir.

3.5. Doku Kesitlerinin Alınması

Kesit alma işleminin gerçekleştirileceği mikrotom cihazı (MC 5050 *semiautomatic rotary microtome cryostat*; Milan, İtalya) önceden soğutularak; kaset yuvası -30°C, mikrotom cihazı iç sıcaklığı ise -20°C olacak şekilde, kesit alma işlemine uygun hale getirilmiştir. Sonrasında kesit alınacak olan doku dikkatli bir biçimde alınarak kasete yerleştirilmeden önce beyin sapı ve serebellum kesilmiş ve dokunun kasete düz bir zemin üzerinde oturması sağlanmıştır. Daha sonra doku Tissue-Tek® *O.C.T.*TM (*Optimal Cutting Temperature*) *Compound* ile kaplanarak kaset üzerinde sabitleme işlemi tamamlanmıştır. Üzerinde kesit alınacak doku bulunan kaset mikrotom cihazı içerisindeki yuvasına yerleştirilerek glikol ve resin içeren Tissue-Tek® *O.C.T.*TM maddesinin dokuyu kesime uygun sertlik ve yapıya getirebilmesi için en az 15 dk beklenmiştir. Daha sonra üzerinde doku sabitlenmiş olan kaset yuvasından çıkarılarak mikrotom cihazında kesim yapılacak alana taşınarak sabitlenmiştir. Bu aşamadan sonra, ilk olarak mikrotom cihazının tıraşlama (*trimming*) fonksiyonu kullanılarak 40 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Tıraşlama aşamasının amacı ilk olarak dokunun kesit alma işlemi için uygun sıcaklık ve yapıya ulaştığını kontrol etmek, ikinci ve daha önemli olarak ise kesit olarak saklama işlemine geçilmeden önce beyin dokusuna ait sağ ve sol hemisferlerin eşit koordinatlarda bulunduğu tespitini içindir. Keza, sağ ve sol hemisferlerin aynı eksende olmadığı tespitini sonucunda doku kesit alma işleminin gerçekleştirildiği yuvada x, y ve z eksenlerinde hareket ettirilerek iki hemisferin aynı düzleme gelmesi sağlanmıştır. Kesit alınmakta olan dokunun sağ ve sol hemisferlerinin aynı düzlemde olduğundan emin olunduktan sonra mikrotom cihazı tıraşlama fonksiyonundan kesit alma fonksiyonuna çekilerek frozen koronal kesitler (30µm) alınarak koruyucu antifreeze solüsyonu içerisine konulmuştur.

3.6. İmmünfloresan Boyama

Alınan kesitler aşağıdaki açıklandığı şekilde boyandı.

1. Free float kesitler, ilk olarak 2 defa 5'er dakika süreyle % 0.1 Triton X-100 içeren fosfat tamponu ile yıkandı.
2. Daha sonra kesitler oda sıcaklığında % 0,1 Triton X-100 içeren fosfat tamponu ve % 10 NGS ile 1 saat boyunca bloklandı.
3. Bloklama sonrası kesitler % 0,1 Triton X-100 içeren fosfat tamponu ve % 10 NGS içerisinde aşağıda dilüsyon faktörleri belirtilen antikorlarla oda sıcaklığında 24 saat süreyle inkübe edildi:
 - Anti-Tyrosine Hydroxylase antibody (abcam, Cambridge, Birleşik Krallık- RRID: ab112) (rabbit-anti rat) 1:500
 - Dopamine D1R/DRD1 Reseptör (JM10-93) antikor (Novus, Colorado, Amerika Birleşik Devletleri- RRID: NBP2-66807) (rabbit-anti rat) 1:500
 - Anti-Dopamine D2 Reseptör antikor (Merck Millipore, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri- RRID: AB5084P) (rabbit-anti rat) 1:500.
 - Leptin Reseptör Antikoru (Novus, Colorado, Amerika Birleşik Devletleri- RRID: JA73-01) rabbit-anti rat 1:100
4. 24 saatlik primer antikor inkübasyonu sonrasında free float kesitler 3 defa % 0,1 Triton X-100 içeren fosfat tamponu ile 15'er dakika boyunca yıkandı.
5. Son yıkamadan sonra kesitler Alexa Fluor® 488-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch, Cambridgeshire, Birleşik Krallık - RRID: 111-545-144) (goat-anti rabbit) 1:500 sekonder ile 90 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Sonrasında kesitler 2 defa % 0,1 Triton X-100 içeren fosfat tamponu, son olarak 1 defa da sade fosfat tamponu ile yıkandı.
7. Kesitler dikkatlice pozitif şarjlı lamlara alınarak dikkatlice kurutuldu. Ardından, dokular 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) içeren mounting medium *ProLong™ Gold Antifade Mountant with DAPI* (Thermo Fisher Scientific,

Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri- RRID: P36935) ile kaplandıktan sonra lamel ile dikkatlice kapatıldı.

Uygun şekilde saklanan kesitlerde dopamin (D1, D2) ve leptin reseptör yoğunlukları ile birlikte Parkinson modelinin başarıya ulaşıp ulaşmadığının tespiti için gerçekleştirilen tirozin hidrosilaz tayini immünfloresan boyama yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Floresan boyama uygulanan tüm kesitler, konfokal lazer mikroskobu (Leica, SP5 DMI 6000) kullanılarak görüntülenmiştir.

3.7. İstatiksel Değerlendirme

Tez çalışmasının planlama aşamasında *G-power* programı kullanılarak ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık testi için tek yönlü varyans analizi kullanarak $\alpha = 0,05$ anlamlılık ve $\beta = 0,80$ güç değeri ile örneklem genişliği hesaplanmış ve istatistiksel değerlendirmelerin yapılabilmesi için gereken en az hayvan sayısı ($n = 15$) belirlenmiştir. Kantitatif verilerin istatistiksel analizi ve grafik çizimleri IBM SPSS Statistics 23 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Veri setlerinin normal dağılıp dağılmadığının belirlenmesi amacıyla *Kolmogorov-Smirnov* testi kullanıldı. Normal dağılım göstermediği belirlenen veriler gruplar arası karşılaştırmalar için *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerin (stereotaksi öncesi/sonrası) besin türü ile ilişkisinin incelenmesi amacıyla *Wilcoxon* testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler için median, çeyrekler arası genişlik verileri tablolarda gösterildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

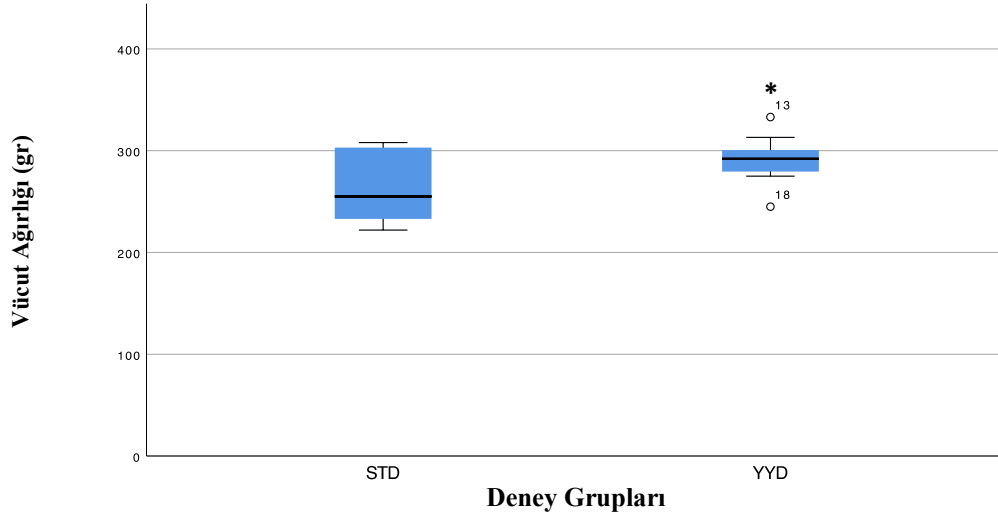
4.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlık Değişimi

Gereç ve yöntem bölümünde de belirtildiği gibi PH modeli uygulanacak olan hayvanlar kendi içerisinde basit randomizasyon ile rastgele olarak STD (n = 15) ve YYD (n = 15) olmak üzere iki gruba ayrılmış, PH modelinin karşılaştırabilmesi için beslenme ve operasyon açısından müdahale edilmeyen sham-opere bir kontrol grubuna (n = 6) ayrılmıştır. 8 haftalık YYD uygulamasının ardından stereotaksi uygulaması öncesi STD ve YYD grubuna ait hayvanların vücut ağırlıkları ölçülerek karşılaştırılmıştır. İki gruba ait ortalama vücut ağırlıkları Tablo 4.1.'de belirtilmiştir. Stereotaksi uygulaması öncesi ve 21 gün sonrasında iki besin grubuna ait ortalama vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2., Stereotaksi öncesi: $p < 0,05$, stereotaksi sonrası: $p < 0,05$). YYD uygulaması ilgili grupta vücut ağırlığının artmasına neden olmuştur; bu durum YYD grubunda obezite gelişiminin indüklendiğini kanıtlar niteliktedir. Ek olarak, yem grupları kendi içlerinde stereotaksi öncesi ve sonrası vücut ağırlığı değerleri açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. (Şekil 4.3. ve Şekil 4.4., $p < 0,05$).

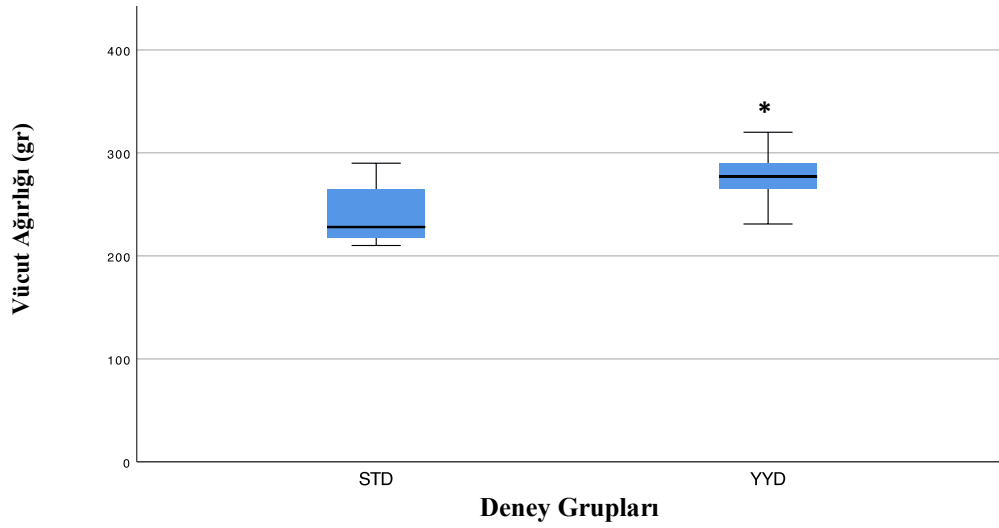
Tablo 4.1. 8 haftalık YYD uygulamasının ardından stereotaksi uygulamasından önce ve sonra STD ve YYD grubuna ait hayvanların ortalama vücut ağırlığı değerleri

Vücut ağırlığı (gr)	Deney Grupları	
	STD (n = 15)	YYD (n = 15)
Stereotaksi Öncesi (gr)	263 ± 10,9	290 ± 6,3
Stereotaksi Sonrası (gr)	243 ± 9,1	278 ± 6,7

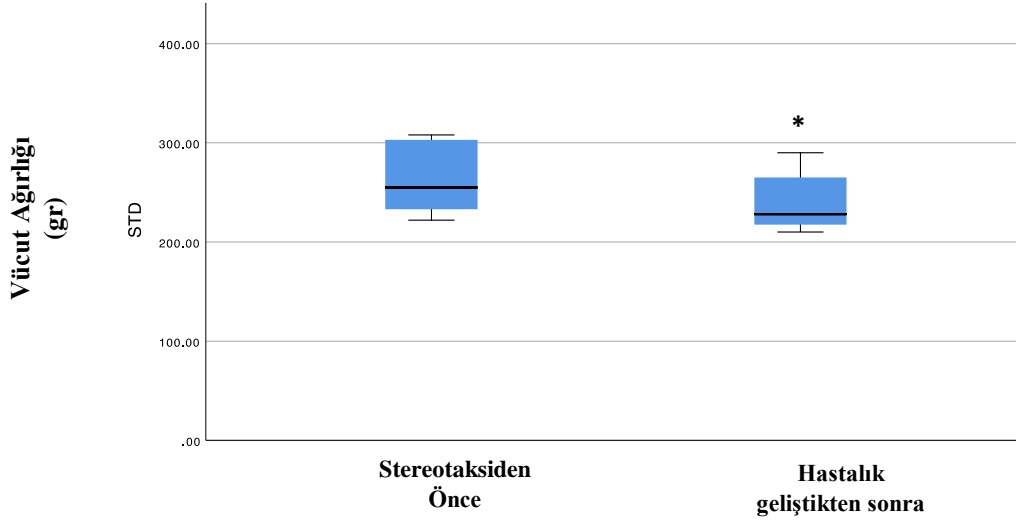
STD: Standart yem ile beslenen grup, YYD: Yüksek yağlı diyet ile beslenen grup.



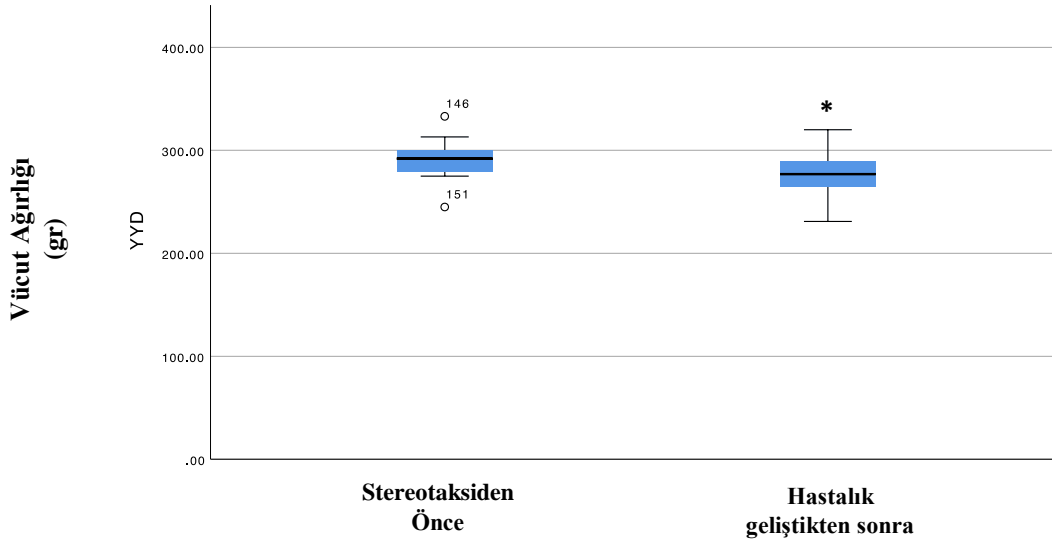
Şekil 4.1. STD ve YYD gruplarının stereotaksi uygulamasından önce ölçülen vücut ağırlıkları (* = $p < 0,05$)



Şekil 4.2. STD ve YYD gruplarının stereotaksi uygulamasından 21 gün sonra vücut ağırlıkları (* = $p < 0,05$)



Şekil 4.3. STD grubundaki hayvanların stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra ölçülen vücut ağırlıkları (* = $p < 0,05$)



Şekil 4.4. YYD grubundaki hayvanların stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra ölçülen vücut ağırlıkları (* = $p < 0,05$)

4.2. Sensorimotor Testleri

Tek taraflı 6-OHDA sıçan modelindeki motor bozuklukların davranışsal değerlendirmelerinde ilaçsız sensorimotor davranış testleri kullanılmaktadır (76).

4.2.1. Spontan Aktivite Testi

Tek taraflı parkinsonizm modelinde motor bozuklukların değerlendirilmesinde kullanılan testlerden birisi olan spontan aktivite testi değerlendirilirken kullanılan parametreler; diklenme ya da şatlanma sayısı, temizlenme süresi, ön ayak adım sayısı

ve arka ayak adım sayısıdır. Bu parametreler her grup için stereotaksi öncesi ve stereotaksi sonrası olarak ayrı ayrı analiz edilmiştir.

STD ve YYD gruplarına ait hayvanların stereotaksi öncesi ve sonrası spontan aktivite testi parametrelerinden dikelme sayısı, temizlenme sayısı, ön ayak adım sayısı ve arka ayak adım sayısı değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir

Tablo 4.2. a. STD ve b. YYD gruplarına ait hayvanların stereotaksi öncesi ve sonrası spontan aktivite testi tanımlayıcı istatistik değerleri.

a. Standart Diyet Grubu

		Standart Diyet Grubu (n = 15)															
		DS				TS				ÖAA				AAA			
Stereotaksiden Önce		Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark
			9	16	13	3	40	98	67	20	15	22	18	3	13	20	18
PH gelişikten sonra		1	7	4	2	20	80	35	20	4	10	6	3	3	10	7	4

DS: Dikelme Sayısı, TS: Temizlenme Süresi, ÖAA: Ön Ayak Adım Sayısı, AAA: Arka Ayak Adım Sayısı

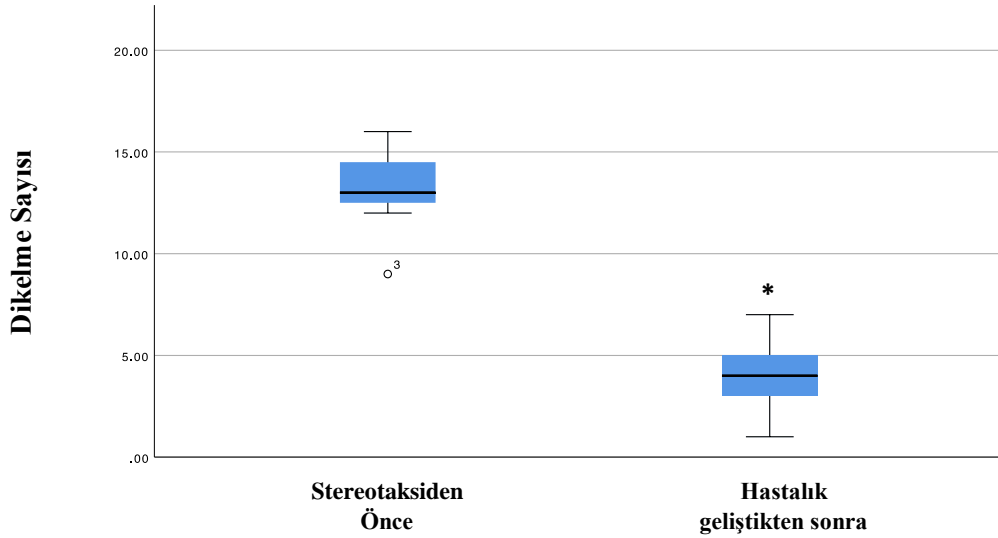
b. Yüksek Yağlı Diyet Grubu

		Yüksek Yağlı Diyet (n = 15)															
		DS				TS				ÖAA				AAA			
Stereotaksiden Önce		Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark	Min	Maks	Ortanca	Çeyrekler Arası Fark
			3	11	6.50	3.75	20	75	47.50	27.25	11	16	14	2	10	16	13.50
PH gelişikten sonra		2	5	3	1	22	45	28.50	9.5	4	8	7	2	4	9	5.50	3.25

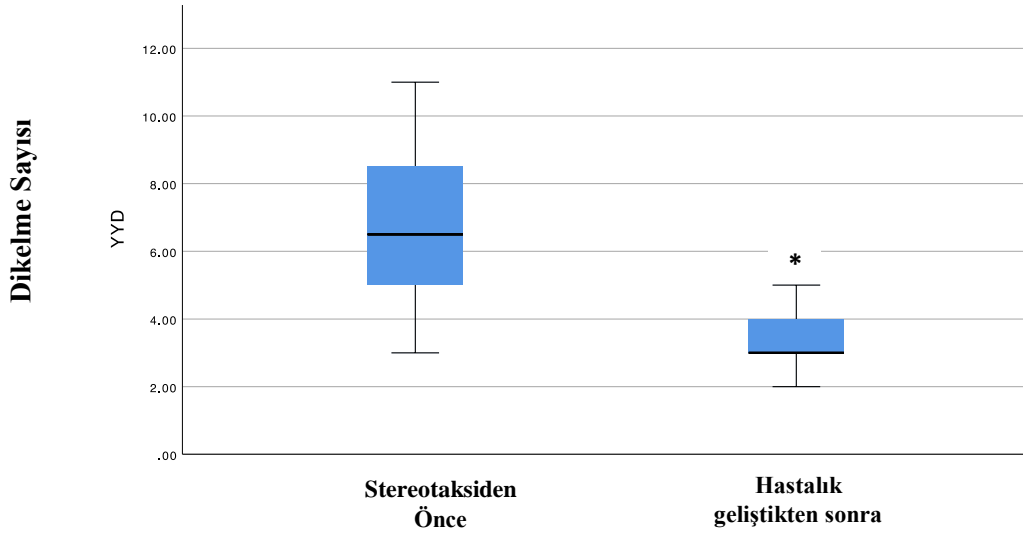
DS: Dikelme Sayısı, TS: Temizlenme Süresi, ÖAA: Ön Ayak Adım Sayısı, AAA: Arka Ayak Adım Sayısı

Dikelme sayısı standart yem ile beslenen grup açısından değerlendirildiğinde stereotaksi sonrası dikelme sayısı stereotaksi öncesi dikelme sayısına göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,005$) (Şekil 4.5.). Yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta ise

benzer şekilde stereotaksi sonrası dikelme sayısı stereotaksi öncesi dikelme sayısına göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,005$) (Şekil 4.6.).



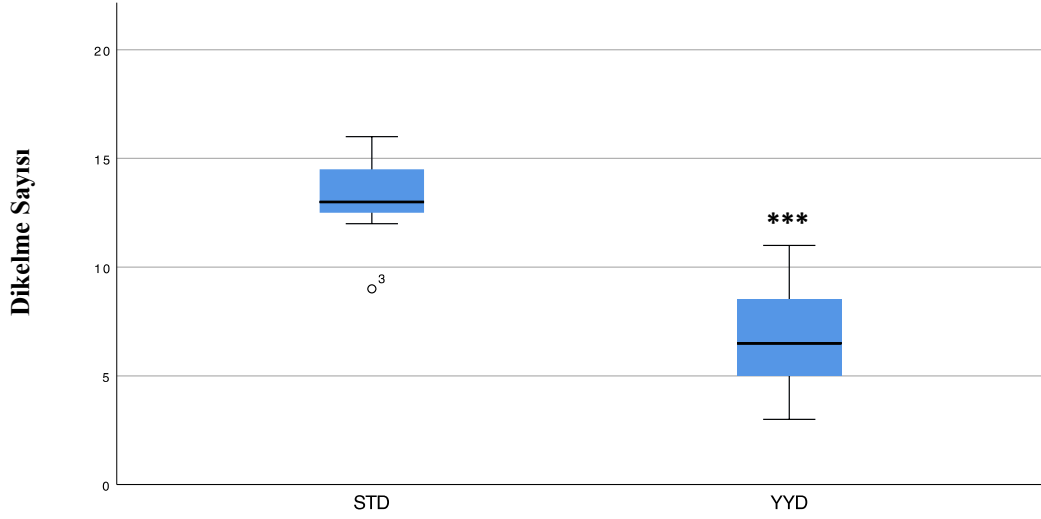
Şekil 4.5. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra standart yem (STD) grubunun dikelme sayısı (*= $p < 0,05$)



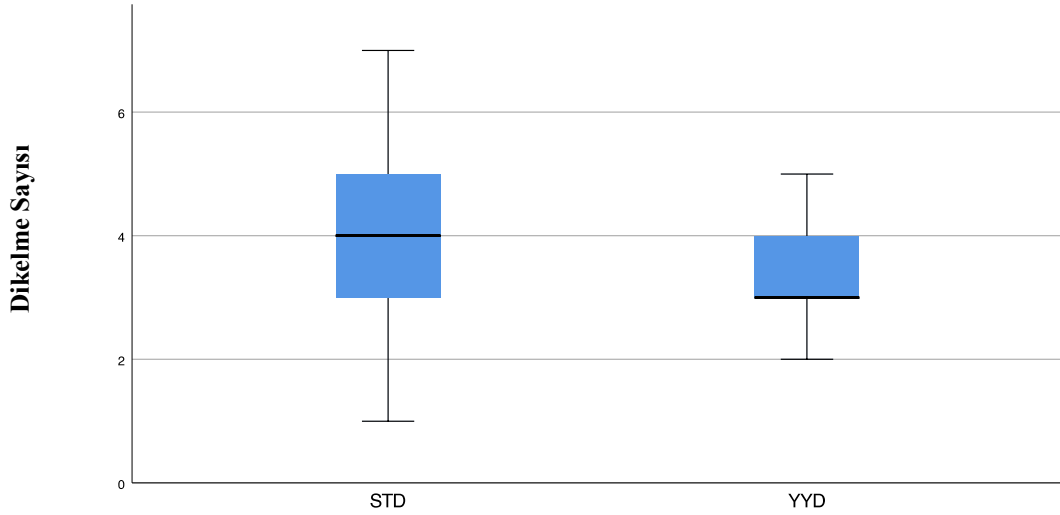
Şekil 4.6. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra yüksek yağlı yem (YYD) grubunun dikelme sayısı (*= $p < 0,05$)

Stereotaksi uygulamasından önce DS her iki grup arasında karşılaştırıldığında YYD grubunda STD grubuna göre azaldığı görülmektedir ($p < 0,001$) (Şekil 4.7.).

Stereotaksi uygulamasından sonra DS'nin her iki grup arasındaki karşılaştırılması ise iki grup arasında farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.8.).

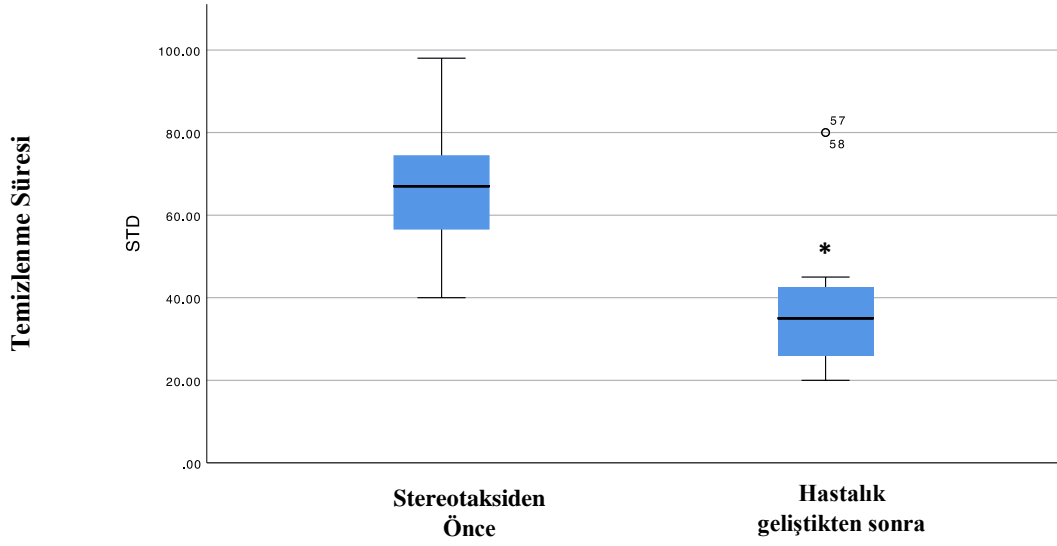


Şekil 4.7. Stereotaksi uygulamasından önce grupların dikelme sayıları (***= $p < 0,001$)

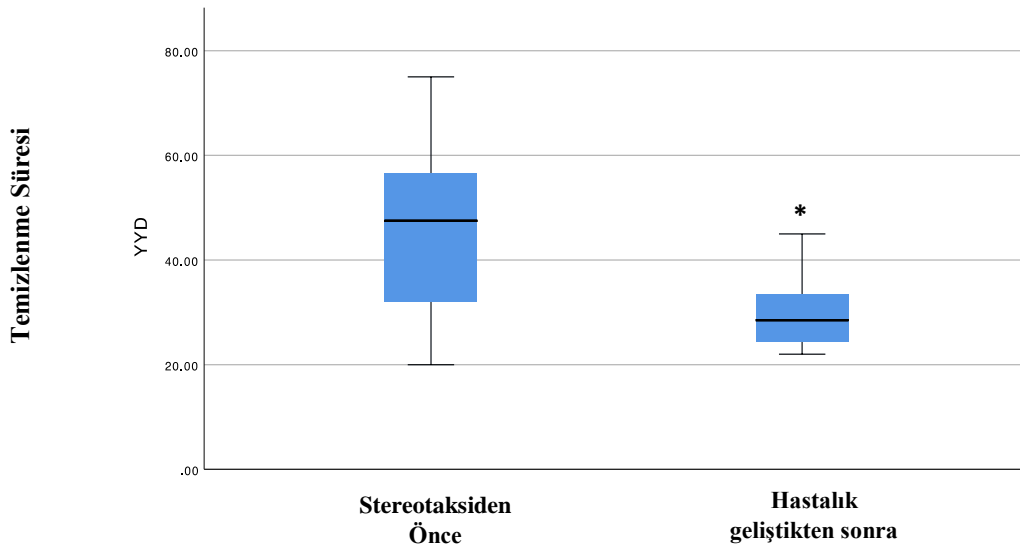


Şekil 4.8. Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların dikelme sayıları $p > 0,05$

Spontan aktivite değişkenlerinden temizlenme süresi STD ($p < 0,05$) ve YYD ($p < 0,05$) gruplarında PH modeli geliştikten sonra anlamlı bir şekilde azalmıştı (Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.).

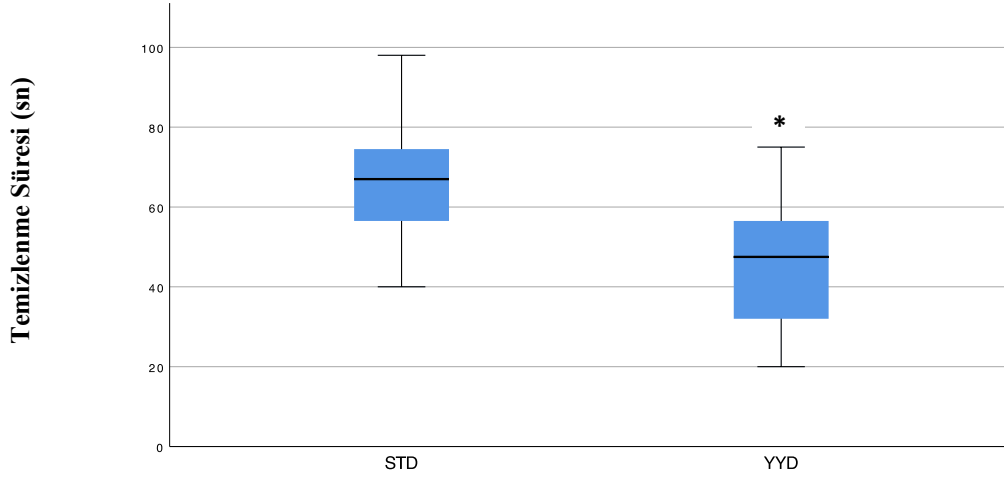


Şekil 4.9. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra standart yem (STD) grubunun temizlenme süresi (*= $p < 0,05$)

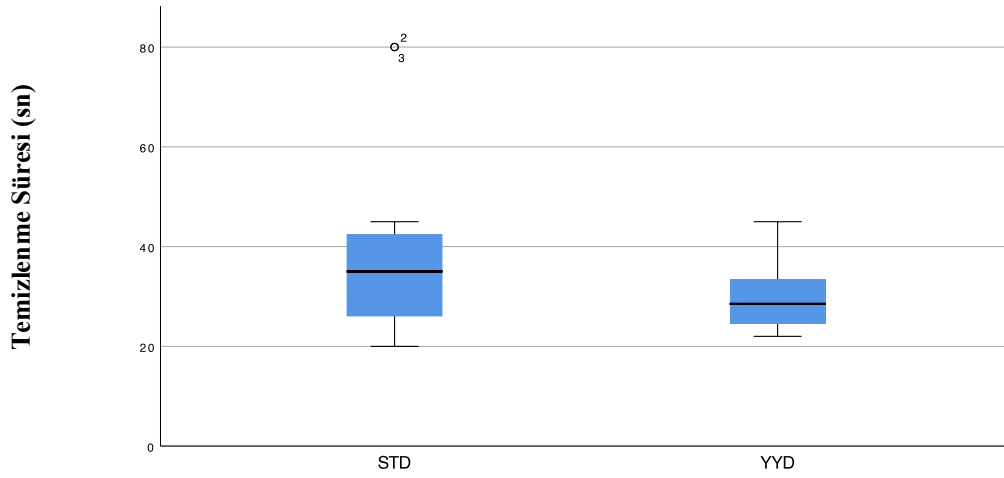


Şekil 4.10. Stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonra uygulaması öncesi ve sonrasında yüksek yağlı yem (YYD) grubunun temizlenme süresi (*= $p < 0,05$)

Besin grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, stereotaksiden önce temizlenme süresi YYD grubunda STD grubuna göre anlamlı biçimde kısalmıştı ($p < 0,05$) (Şekil 4.11.). Stereotaksiden sonra ise temizlenme süresi YYD grubunda STD grubuna göre daha kısa olmakla birlikte fark anlamlı değildi ($p > 0,05$) (Şekil 4.12.).

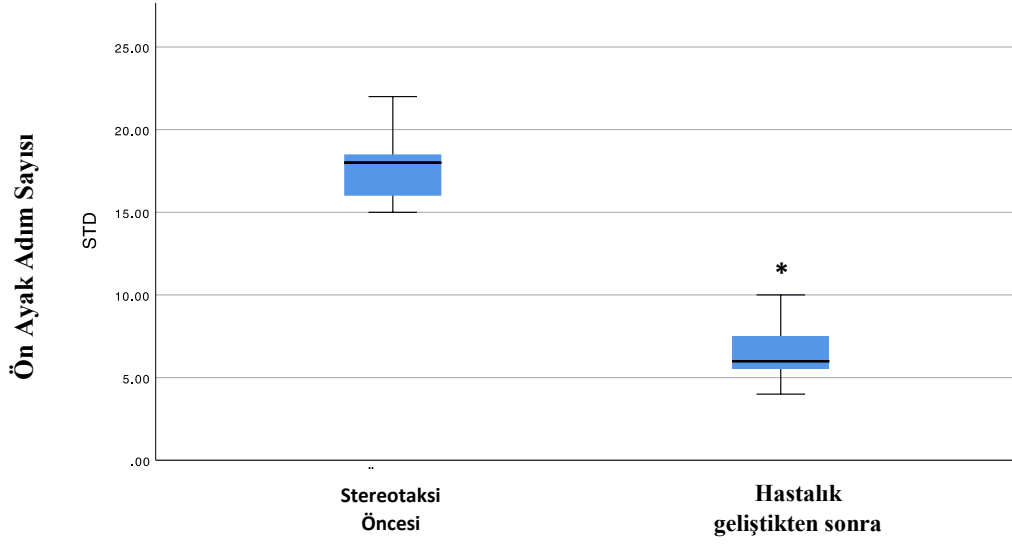


Şekil 4.11. Stereotaksi uygulamasından önce grupların temizlenme süreleri (*= $p < 0,05$)

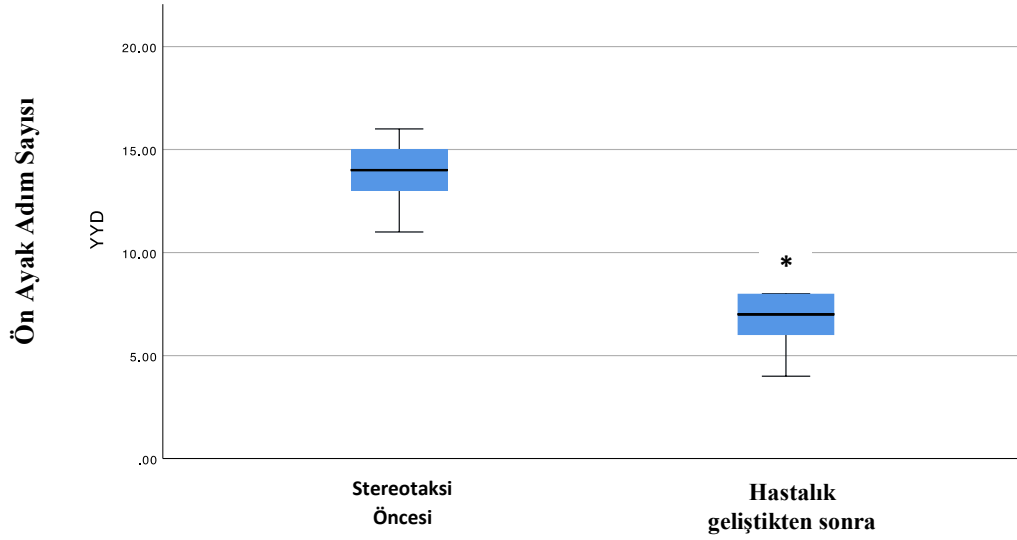


Şekil 4.12. Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların temizlenme süreleri ($p > 0,05$)

Ön ayak adım sayıları değerlendirildiğinde STD grubunda PH gelişikten sonra ÖAA anlamlı biçimde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.13). Benzer şekilde, YYD grubunda da ÖAA hastalık modelinden önceki değerlere göre anlamlı biçimde azalmıştır ($p < 0,05$) (Şekil 4.14).

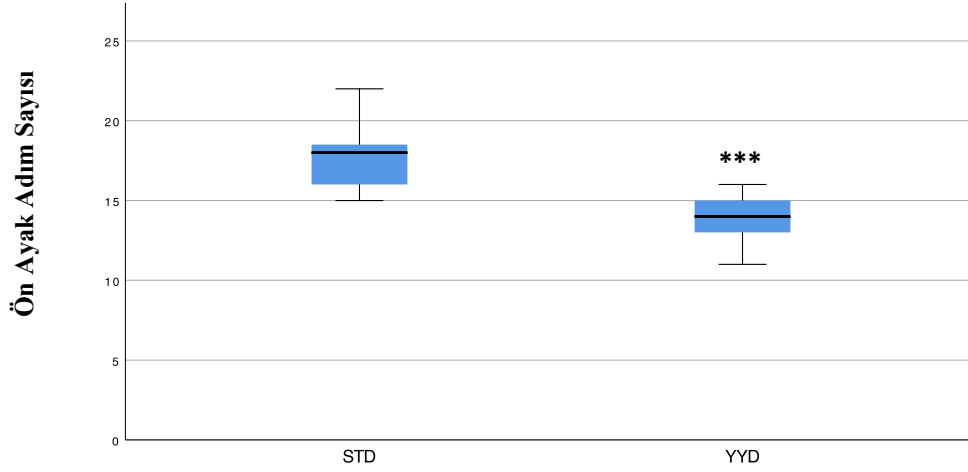


Şekil 4.13. STD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki ön ayak adım sayısı (*= $p < 0,05$)

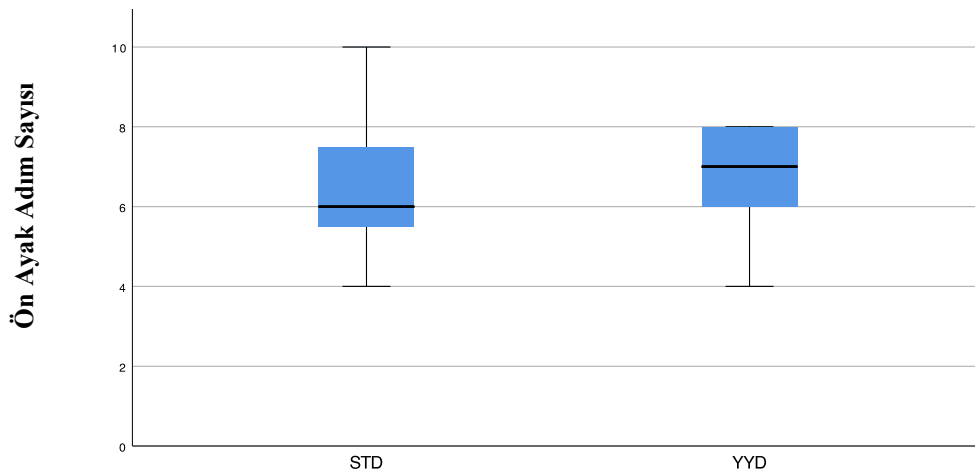


Şekil 4.14. YYD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki ön ayak adım sayısı (*= $p < 0,05$)

Stereotaksi uygulamasından önceki ÖAA sayısı diyet türüne göre deney grupları arasında karşılaştırıldığında YYD grubunda daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 4.15.). Model geliştikten sonra saptanan ÖAA sayıları YYD grubunda daha fazladır ancak gruplar arasındaki fark ortadan kalkmıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.16.).

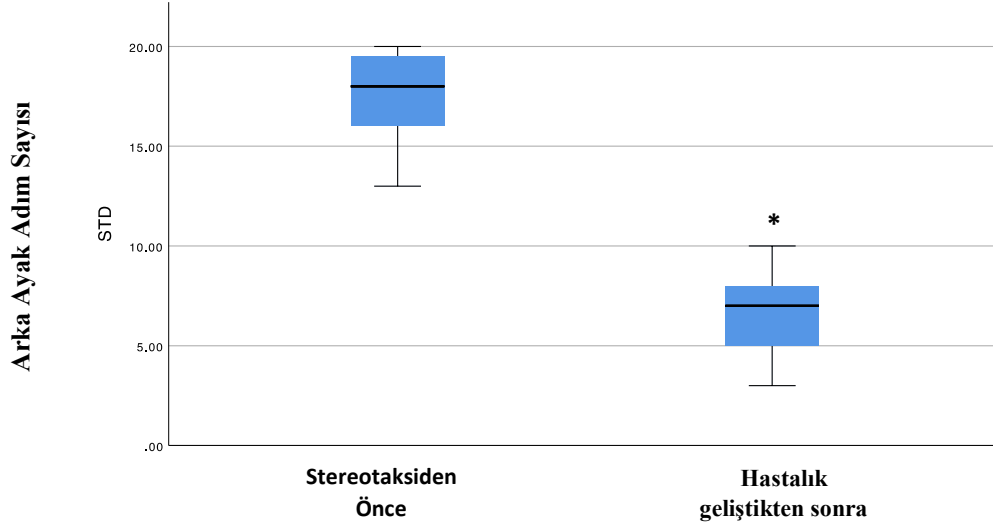


Şekil 4.15. Stereotaksi uygulamasından önce ön adım ayak sayısı (***)= $p < 0,001$)

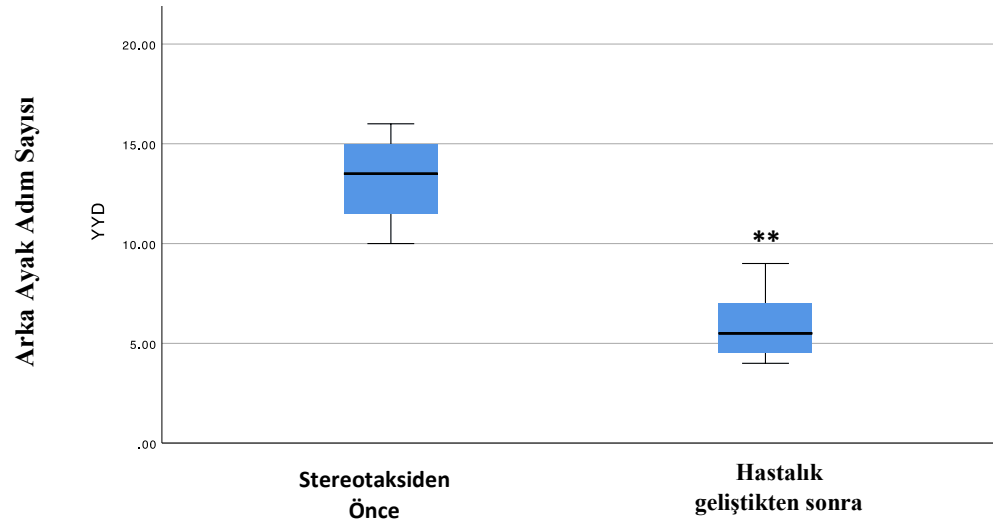


Şekil 4.16. Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların ön ayak adım sayısı ($p > 0,05$)

Her iki diyet grubunda da arka ayak adım sayısı hastalık modeli geliştikten sonra anlamlı şekilde azalmıştır ($p_{STD} < 0,005$ ve $p_{YYD} < 0,005$) (Şekil 4.17. ve Şekil 4.18.).

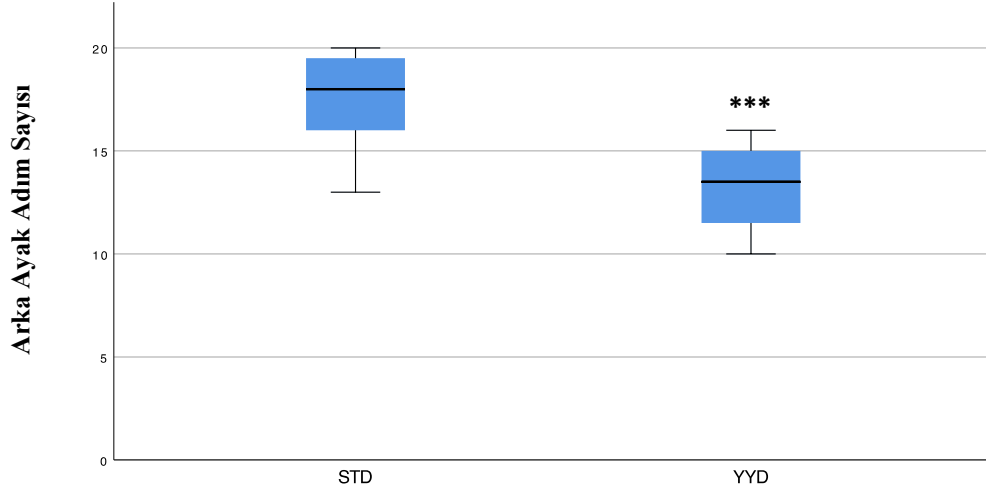


Şekil 4.17. STD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki arka ayak adım sayısı (*= $p < 0,05$)

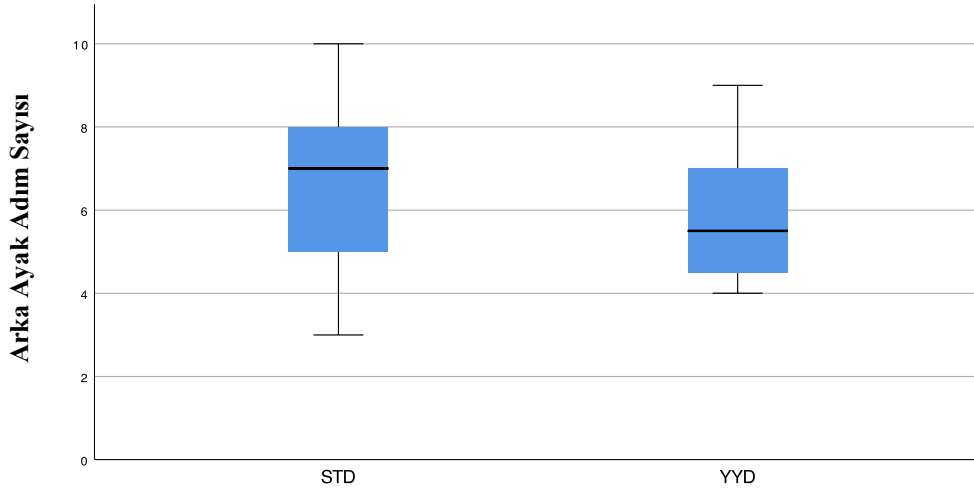


Şekil 4.18. YYD grubunun stereotaksi uygulamasından önce ve hastalık geliştikten sonraki arka ayak adım sayısı (**= $p < 0,005$)

Stereotaksi uygulamasından önce ölçülen arka ayak adım sayısı diet türüne göre karşılaştırıldığında YYD grubundaki hayvanların daha az adım attıkları saptanmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 4.19.). Stereotaksi uygulamasından 21 gün sonra PH modeli gelişen hayvanlarda yapılan ölçümlere göre YYD grubundaki hayvanların STD grubuna göre adım sayısındaki azalma istatistiksel anlamlılık seviyesine ulaşmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.20.).



Şekil 4.19. Stereotaksi uygulamasından önce grupların arka ayak adım sayısı (***)= $p < 0,001$)



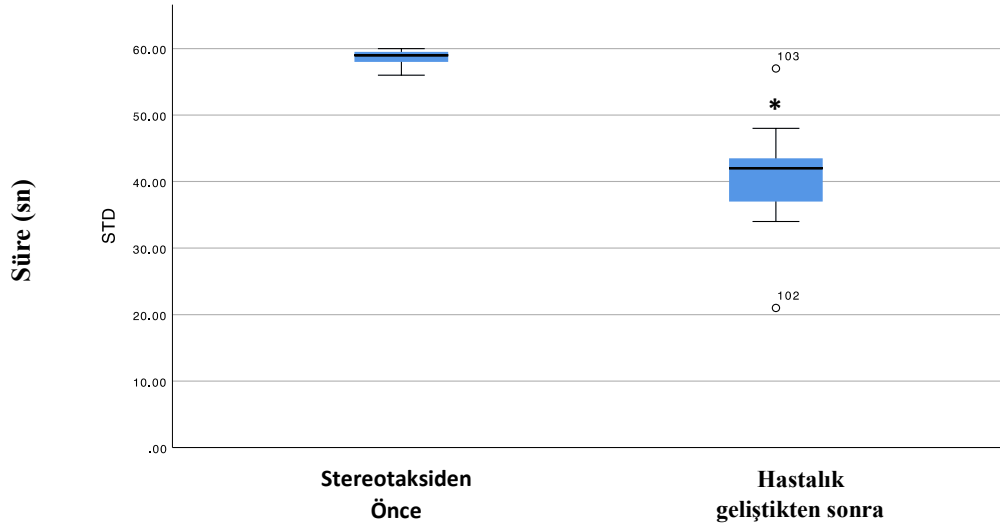
Şekil 4.20. Stereotaksi uygulaması ve PH gelişimden sonra grupların arka ayak adım sayısı ($p > 0,05$)

4.2.2 Rotarod Testi

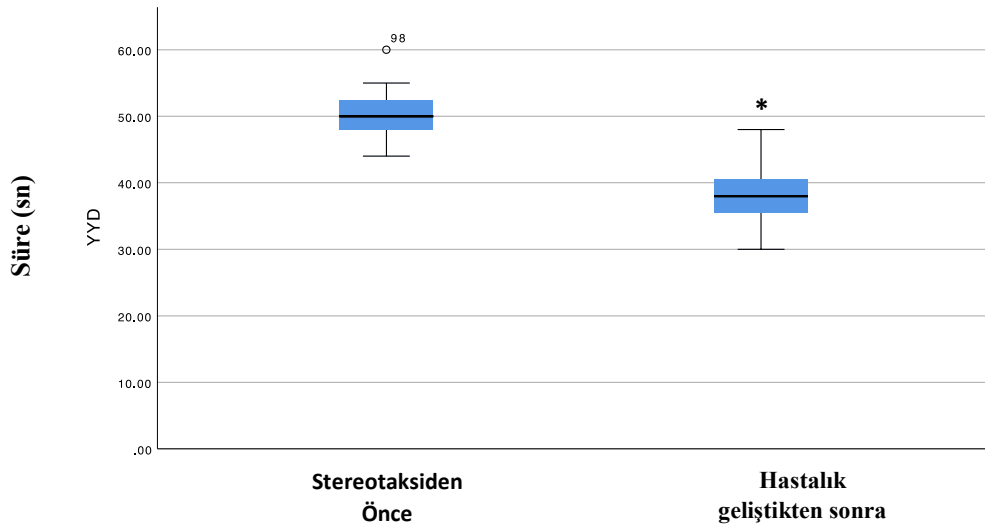
Hayvanların döner mil üzerinde dengede kalma süresi motor koordinasyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Dopaminerjik denervasyona bağlı olarak motor koordinasyonda bozulma beklenmektedir. Hareketli mil üzerinde dengede durabilme süresi motor bozukluğun derecesine bağlı olarak kısalmaktadır.

Motor koordinasyonunun değerlendirilmesinde kullanılan rotarod testinin sonuçları analiz edilirken rotarod üzerinde geçirilen süre (sn) parametresi kullanılmıştır.

Bu bağlamda, standart yem grubunun stereotaksi sonrası rotarod üzerinde geçirdiği süre stereotaksi öncesinde rotarod üzerinde geçirdiği süreye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.21.). Yüksek yağlı yem grubunun stereotaksi sonrası rotarod üzerinde geçirdiği süre stereotaksi öncesi rotarod üzerinde geçirdiği süreye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p < 0,05$) (Şekil 4.22.).

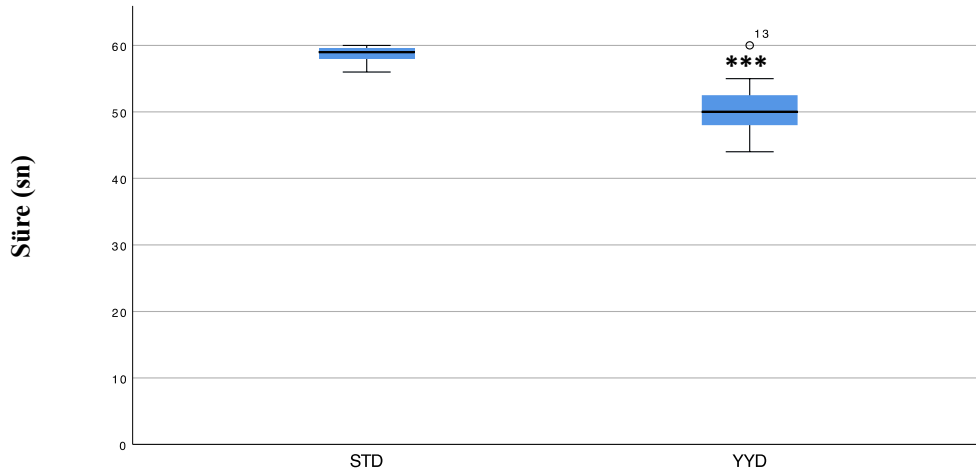


Şekil 4.21. STD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra rotarod üzerinde geçirdiği süre ($*=p < 0,05$)

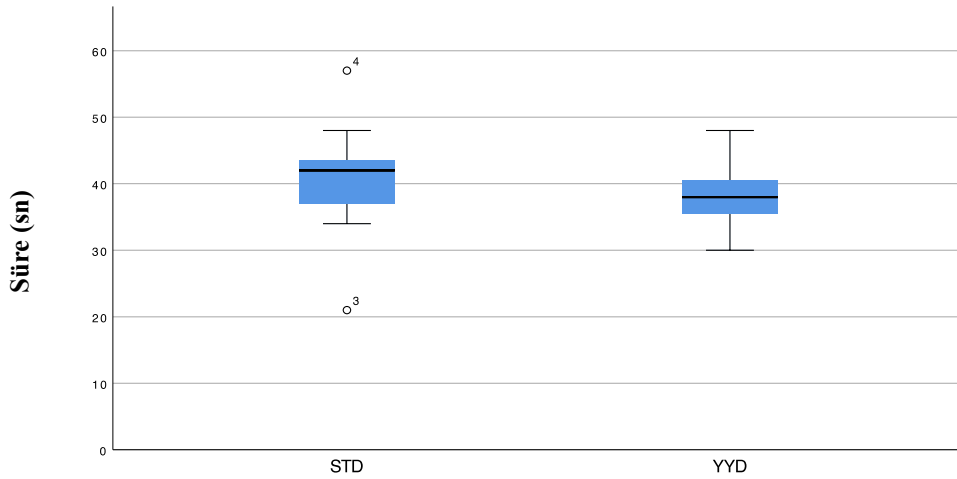


Şekil 4.22. YYD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra rotarod üzerinde geçirdiği süre ($*=p < 0,05$)

Stereotaksi uygulamasından önce rotarod üzerinde geçirilen süre diyet türüne göre karşılaştırıldığında YYD grubunun rotarod üzerinde geçirdiği süre standart yem grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde kısadır ($p < 0,001$) (Şekil 4.23.). YYD ile STD grupları arasındaki bu fark stereotaksi uygulaması sonrasında da benzer bir görünümde olsa da fark anlamlı değildir ($p > 0,05$) (Şekil 4.24.).



Şekil 4.23. Stereotaksi uygulamasından önce grupların rotarod üzerinde geçirdikleri süre ($p < 0,001$)



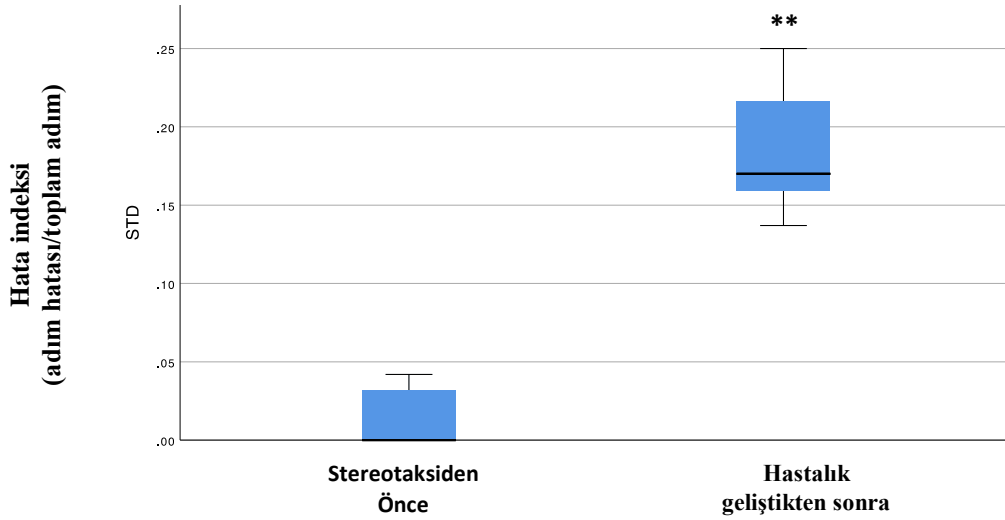
Şekil 4.24. PH gelişimden sonra grupların rotarod üzerinde geçirdikleri süre ($p > 0,05$)

4.2.3 Yatay Çubukta Zorlu Yürüme Testi

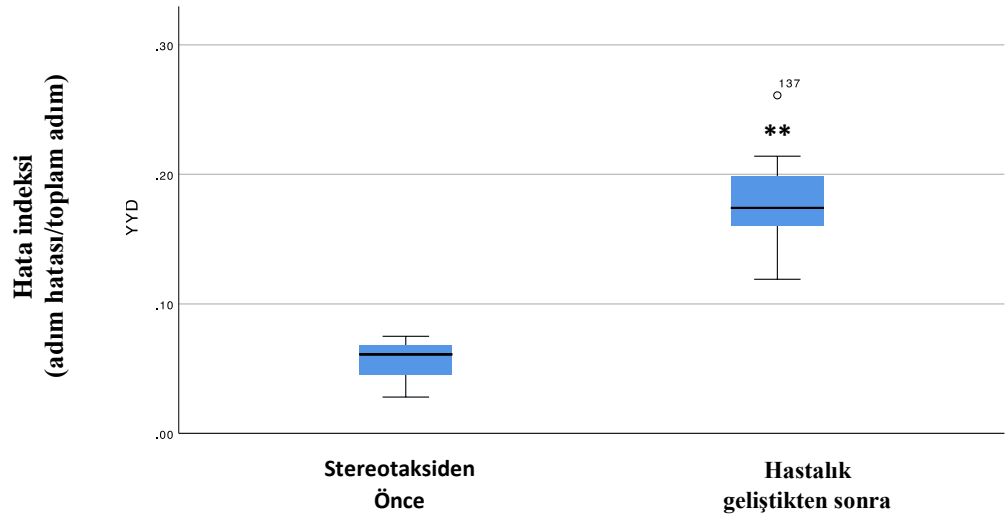
Deney hayvanlarında motor koordinasyonun test edilmesi amacıyla kullanılan yatay çubukta zorlu yürütme testinin analizinde değerlendirme parametresi olarak “Hata

indeksi” kullanılmıştır. Bu indeks her hayvan için parkur süresinde yaptıkları hata sayısının parkur süresinde attıkları adım sayısına oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

STD grubunun stereotaksi öncesinde ve PH gelişimden sonra hata indeksi değerleri istatistiksel olarak farklıdır ve hastalık geliştikten sonra hata indeksi oranı daha yüksektir ($p < 0,005$) (Şekil 4.25.). YYD grubunda da stereotaksiden önce ve PH geliştikten sonraki hata indeksleri arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0,005$) (Şekil 4.26.).

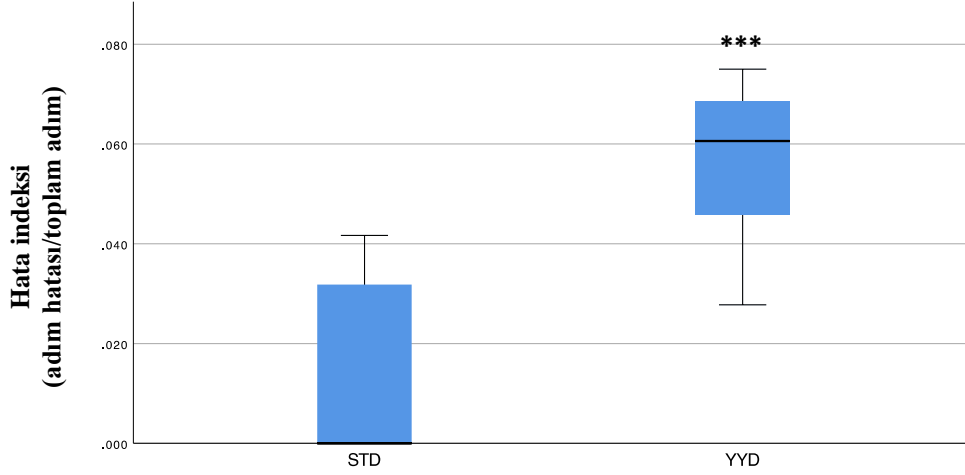


Şekil 4.25. STD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra yatay çubuktaki hata indeksi değerleri. (**= $p < 0,005$)

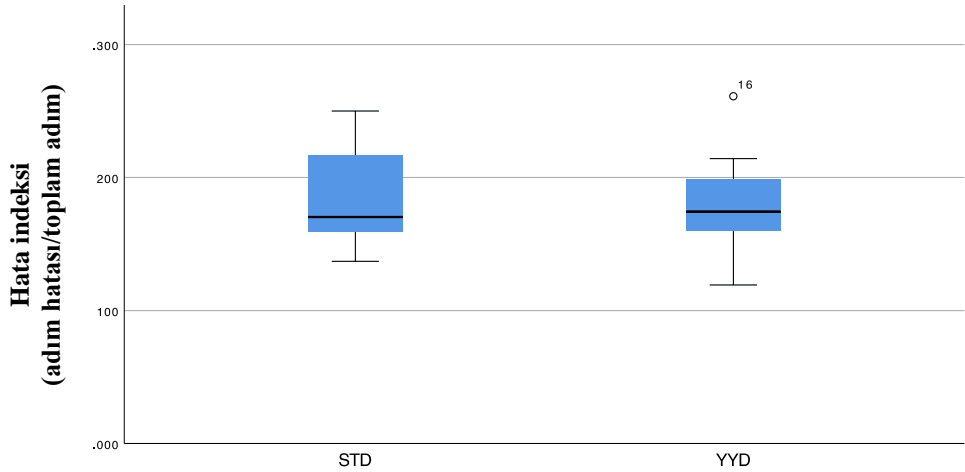


Şekil 4.26. YYD grubunun stereotaksi uygulaması öncesi ve PH gelişimden sonra yatay çubuktaki hata indeksi değerleri. (**= $p < 0,005$)

Stereotaksi uygulamasından önceki hata indeksi diyet türüne bağlı olarak gruplar arasında anlamlı olarak farklıydı ve YYD grubunda hata indeksi oranı daha yüksekti ($p < 0,001$) (Şekil 4.27.). PH modeli uygulandıktan 21 gün sonra hata indeksi açısından gruplar benzerdi ($p > 0,05$) (Şekil 4.28.).



Şekil 4.27. Stereotaksi uygulamasından önce grupların hata indeksi değerleri (***= $p < 0,001$)



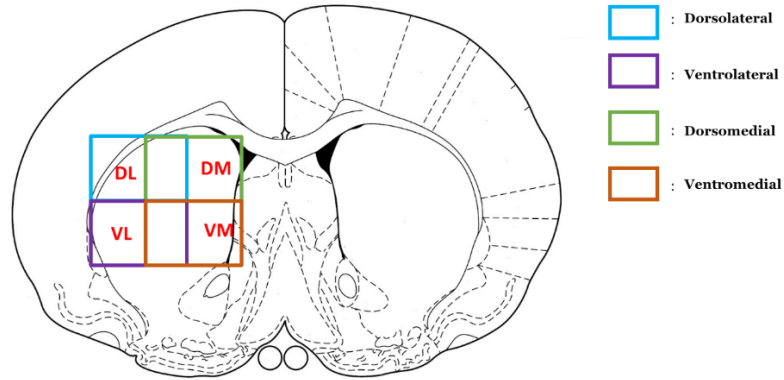
Şekil 4.28. PH gelişimden sonra grupların hata indeksi değerleri ($p > 0,05$)

4.3 İmmünofloresan Boyama ile Yapılan Morfolojik Değerlendirme

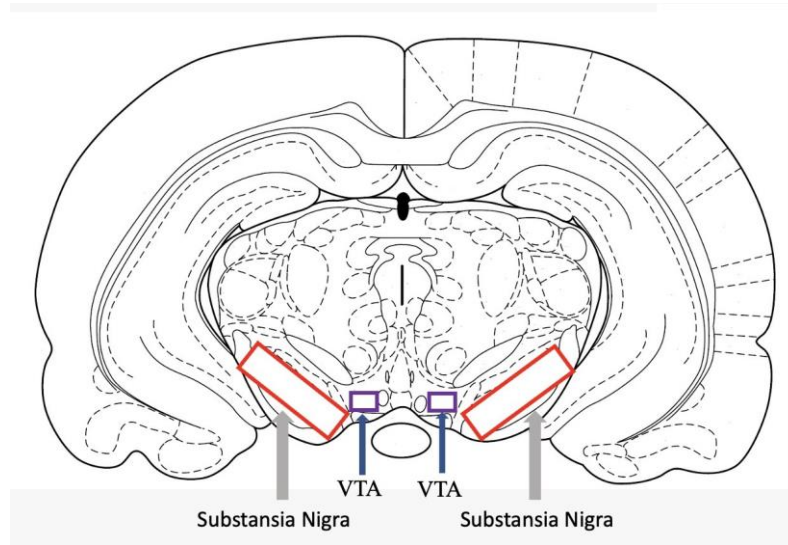
TH, D1, D2 ve leptin reseptörü antikoları kullanılarak striatumda seçilen alanların immünofloresan boyama değerlendirme sonuçları aşağıdadır. Gruplarda yapılan boyamalar için her gruptan bir örneğin sonuçları sunulmuştur.

4.3.1. Tirozin Hidroksilaz Boyaması

Beyin kesitlerinde sırasıyla dorsolateral striatum, dorsomedial striatum, ventrolateral striatum, ventromedial striatum, substantia nigra (SN), ventral tegmental alan (VTA) ve nucleus accumbens bölgelerinde (Şekil 4.29. ve Şekil 4.30.) dopaminerjik nöron yoğunlukları incelenmiştir (Şekil 4.31.- Şekil 4.36.).

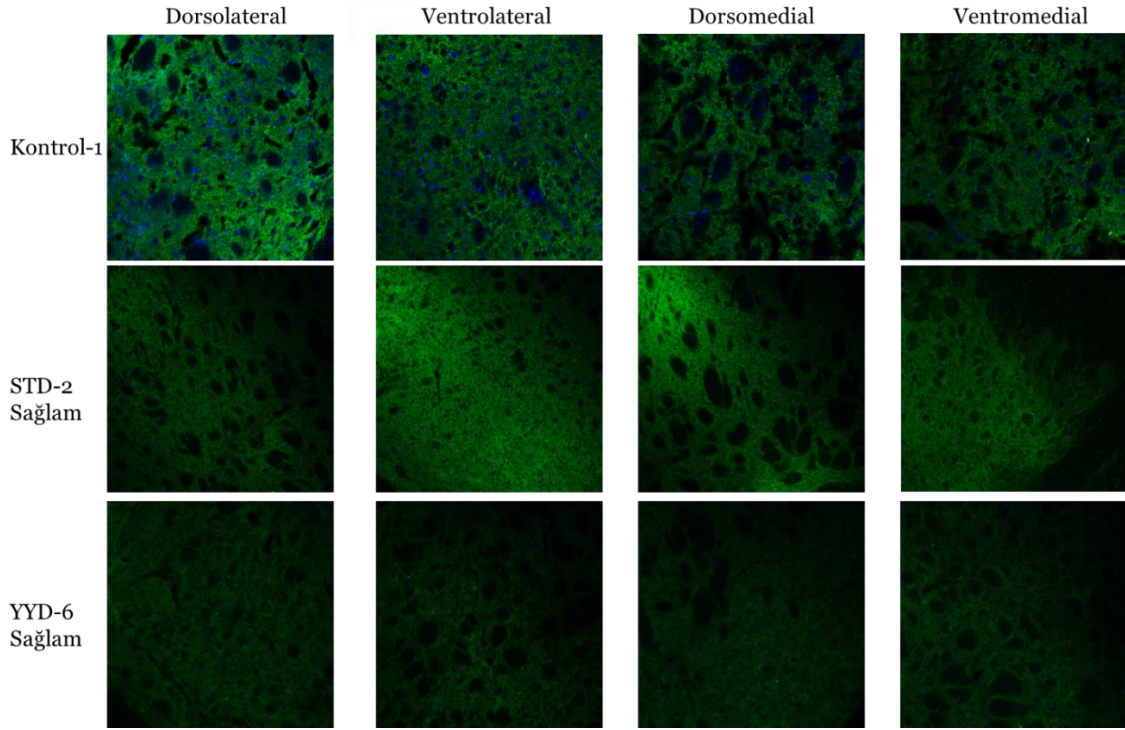


Şekil 4.29. İmmünofloresan boyama yapılan beyin kesitlerinin görüntüleme alanları (111)'den uyarlanmıştır.



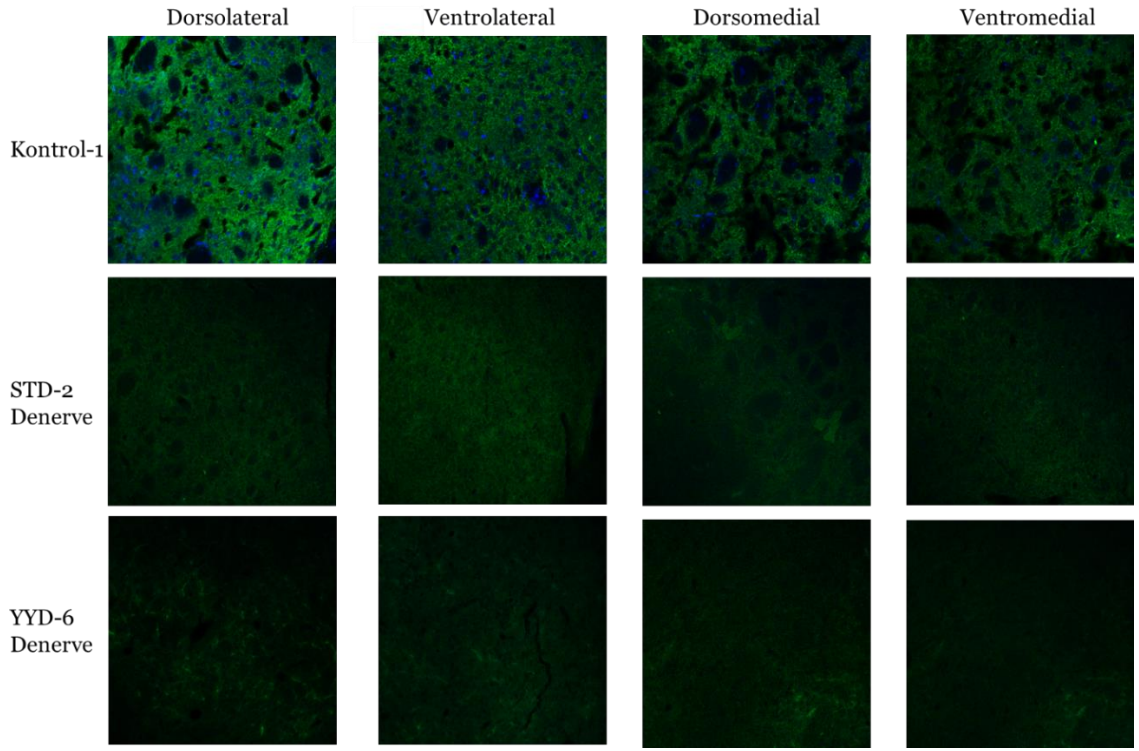
Şekil 4.30. İmmünofloresan boyama yapılan beyin kesitlerinin görüntüleme alanları (111)'den uyarlanmıştır. VTA: ventral tegmental alan

Kontrol ve STD gruplarının lezyon oluşturulmayan (sağlam) hemisferlerinin striatum bölgeleri kıyaslandığında TH boyanma yoğunluğu benzer görünmektedir. YYD grubundaki hayvanlar ile STD grubundaki hayvanların lezyon oluşturulmayan (sağlam) hemisferinin striatumu kıyaslandığında ise TH boyanma yoğunluğunun YYD grubunda 6 numaralı hayvanda belirgin şekilde azaldığı görülmektedir (Şekil 4.31.).



Şekil 4.31. Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. (10X)

Hayvanların lezyon oluşturulan hemisferleri kıyaslandığında STD ve YYD gruplarında TH boyanma yoğunluğundaki azalma belirgindir. STD ve YYD grupları arasında ise, YYD grubu lehine TH boyanmasında belirgin şekilde azalma gözlenmiştir (Şekil 4.32.).

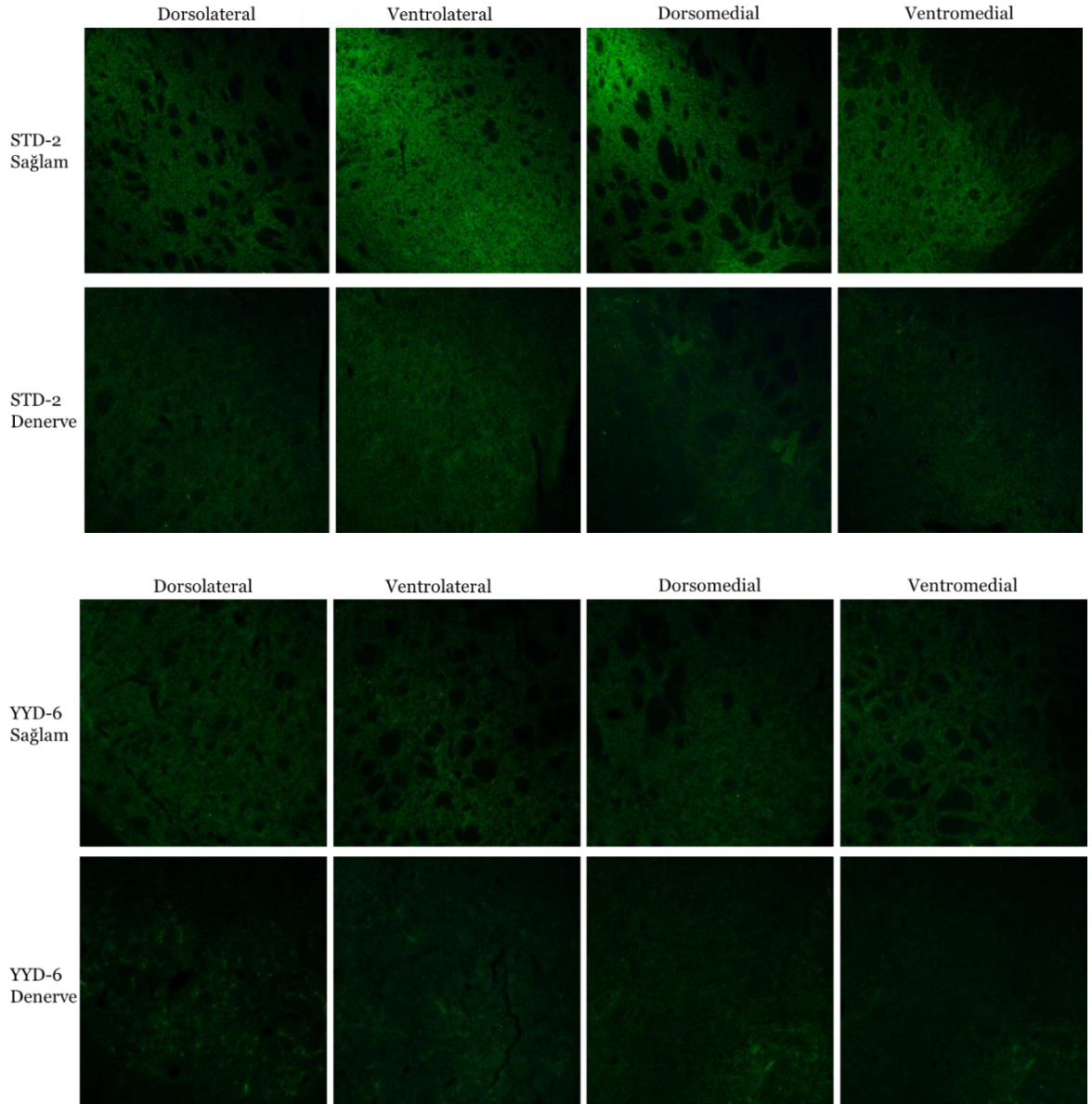


Şekil 4.32. Kontrol, STD ve YYD gruplarının hasarlı hemisferlerinin tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. (10X)

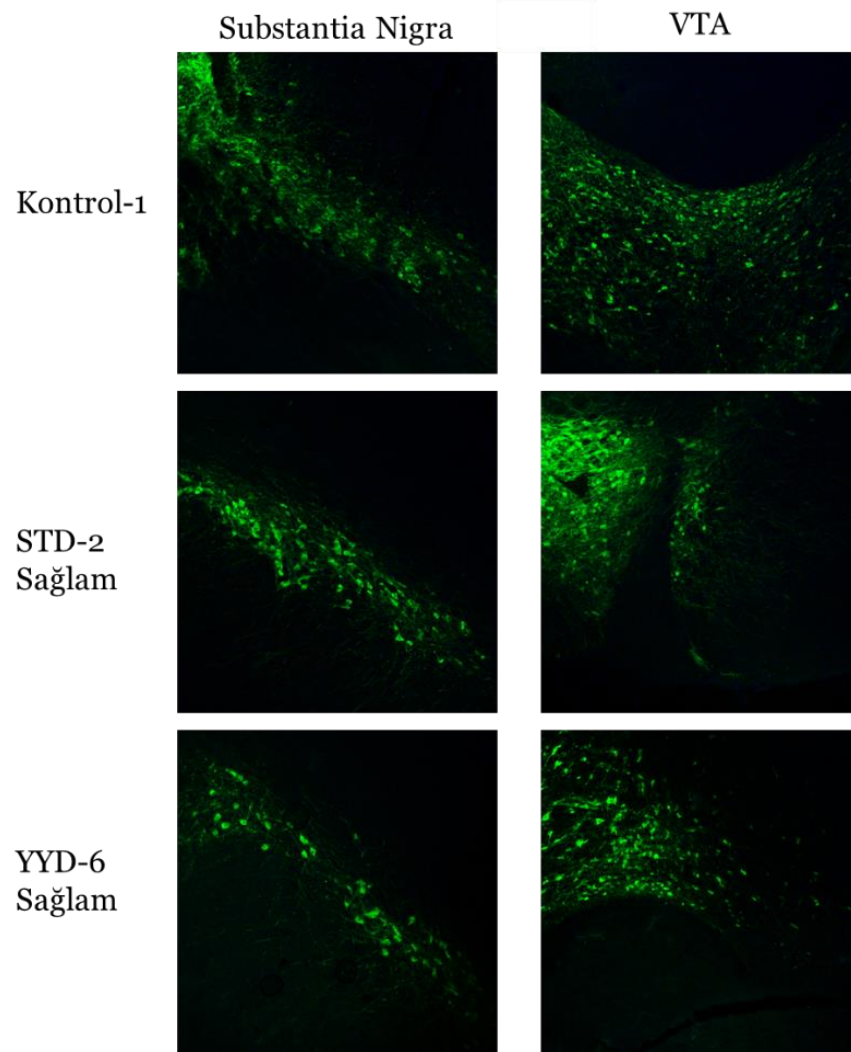
Diyet gruplarının kendi içinde sağlam ve lezyonlu hemisferlerinin görüntüleri Şekil 4.33.'de gösterilmektedir. Her iki grupta da hasarlı hemisferde TH yoğunluğu azalmıştı. (Şekil 4.33.).

Ek olarak deney gruplarında striatum bölgesinin yanı sıra SN ve VTA'daki dopaminerjik nöron yoğunluğu da karşılaştırılmıştır. Bu bölgelerde de kontrol ve STD gruplarının sağlam hemisferleri benzer iken YYD grubunda SN ve VTA'nın TH boyama yoğunluğunun belirgin biçimde az olduğu görülmektedir (Şekil 4.34.).

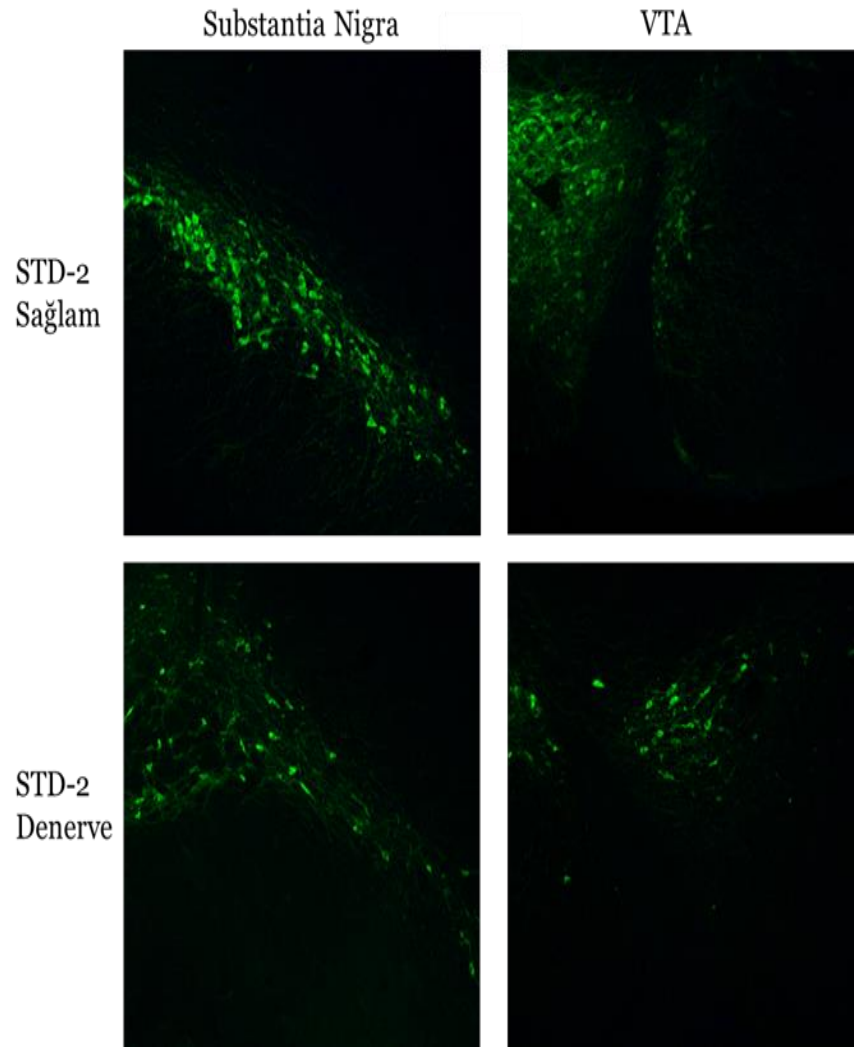
Aynı bölgelerin sağlam ve denerve hemisferleri için STD ve YYD gruplarında yapılan karşılaştırmalar, her iki grupta da substansia nigra ve VTA kıyaslandığında denerve hemisferde TH boyanma yoğunluğunun azaldığını göstermektedir (Şekil 4.35. ve Şekil 4.36.).



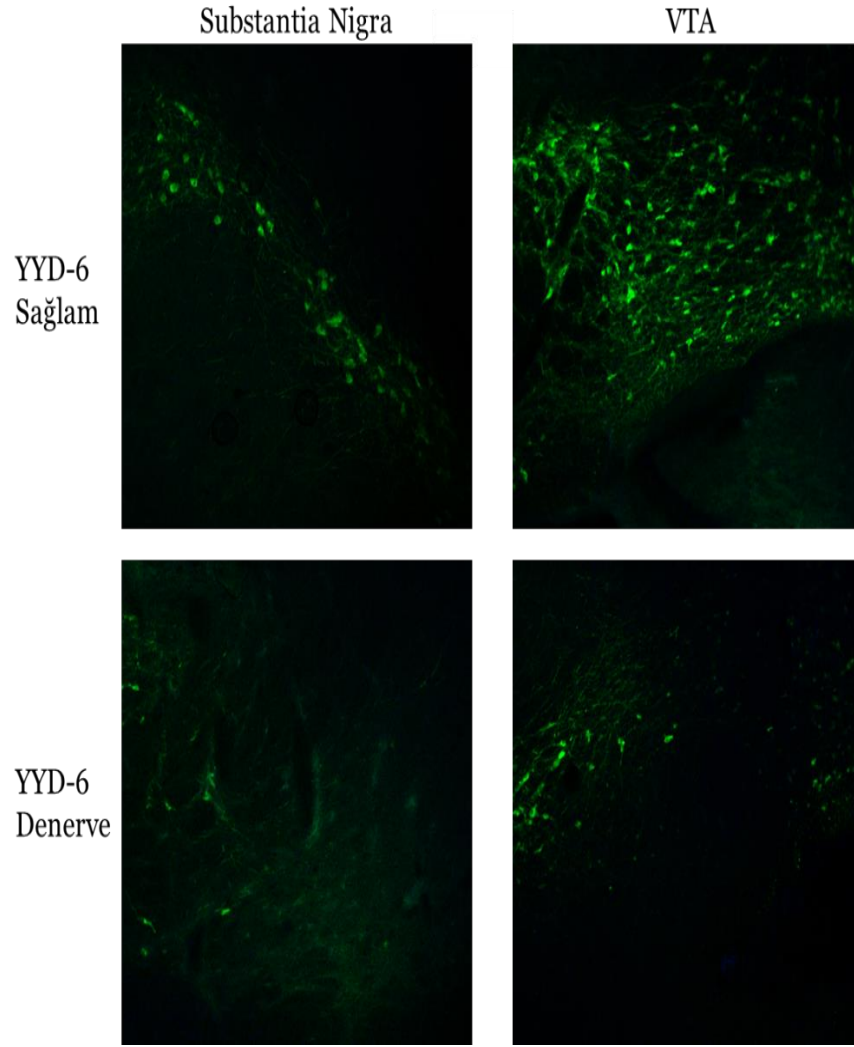
Şekil 4.33. STD ve YYD gruplarının sağlam (üst iki panel) ve hasarlı (denerve) (alt iki panel) hemisferlerinin tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. Her grupta ve her hemisferde dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. (10X)



Şekil 4.34. Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. (25X)



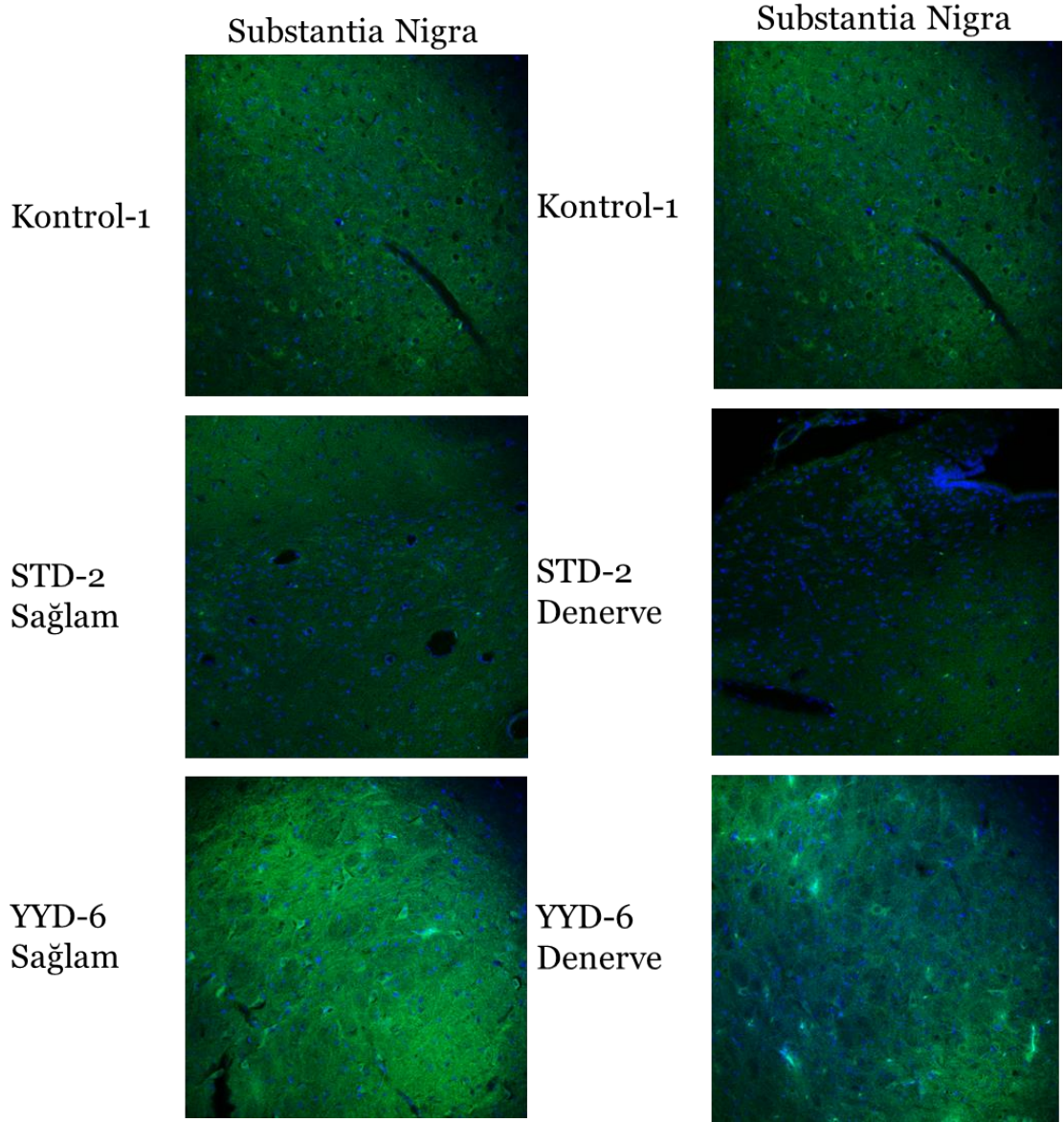
Şekil 4.35. STD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. (25X)



Şekil 4.36. YYD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra ve ventral tegmental alandaki tirozin hidroksilaz boyamasından örnekler. (25X)

4.3.2. Leptin Reseptörü Boyaması

Sağlam ve denerve hemisferlerde SN bölgesinde leptin reseptörü boyamasının sonuçlarına göre kontrol ve STD gruplarındaki hayvanların sağlam hemisferlerindeki boyanma yoğunluğu benzerdi. STD ile YYD gruplarının sağlam hemisferleri kıyaslandığında YYD grubunda belirgin biçimde artmış leptin reseptörü yoğunluğu gözlemlendi. Benzer fark STD ve YYD gruplarının lezyonlu hemisferleri karşılaştırıldığında da saptandı (Şekil 4.37.).



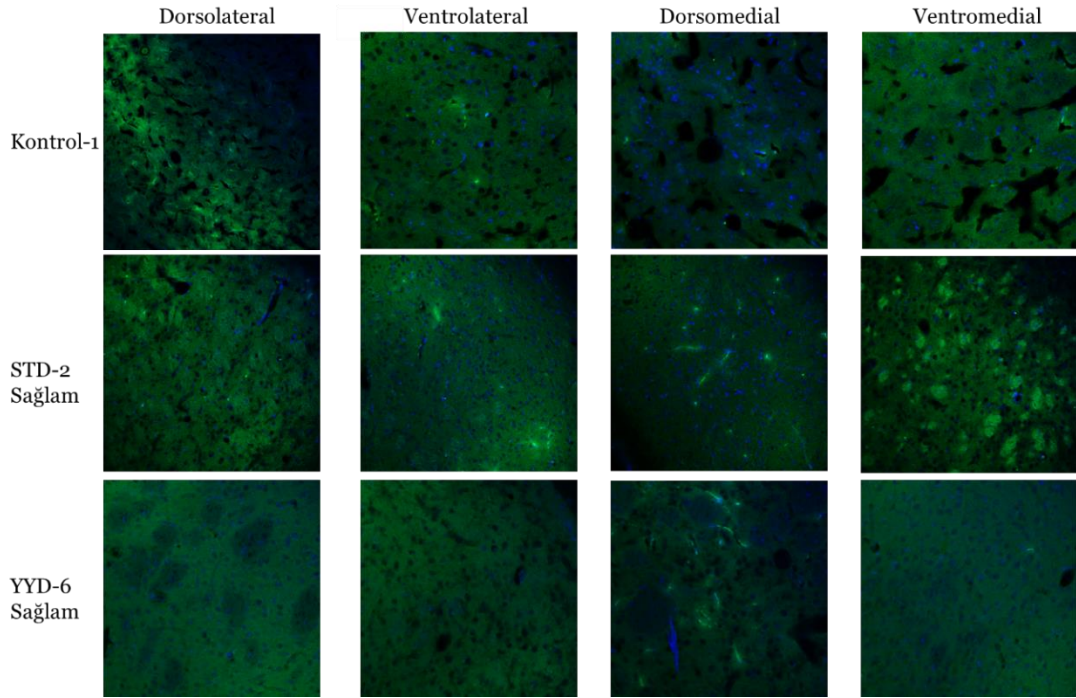
Şekil 4.37. Deney gruplarının sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin substansiya nigra bölgesinde leptin reseptörü boyamasından örnekler. (10X)

STD grubunun sağlam hemisferi leptin reseptör yoğunluğu açısından kontrol grubuna benzerken, denerve hemisferde önemli azalma gözlemlendi (Şekil 4.37.). YYD grubunda ise sağlam hemisferin substansiya nigra alanındaki leptin reseptörü yoğunluğu aynı hayvanının denerve hemisferine kıyasla daha yüksekti (Şekil 4.37.).

4.3.3. Dopamin (D1 ve D2) Reseptörü Boyaması

Parkinson hastalığında önemli rolleri olan dopaminerjik D1 ve D2 reseptörlerinin yoğunluğu da seçili beyin alanlarında immünfloresan görüntüleme yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

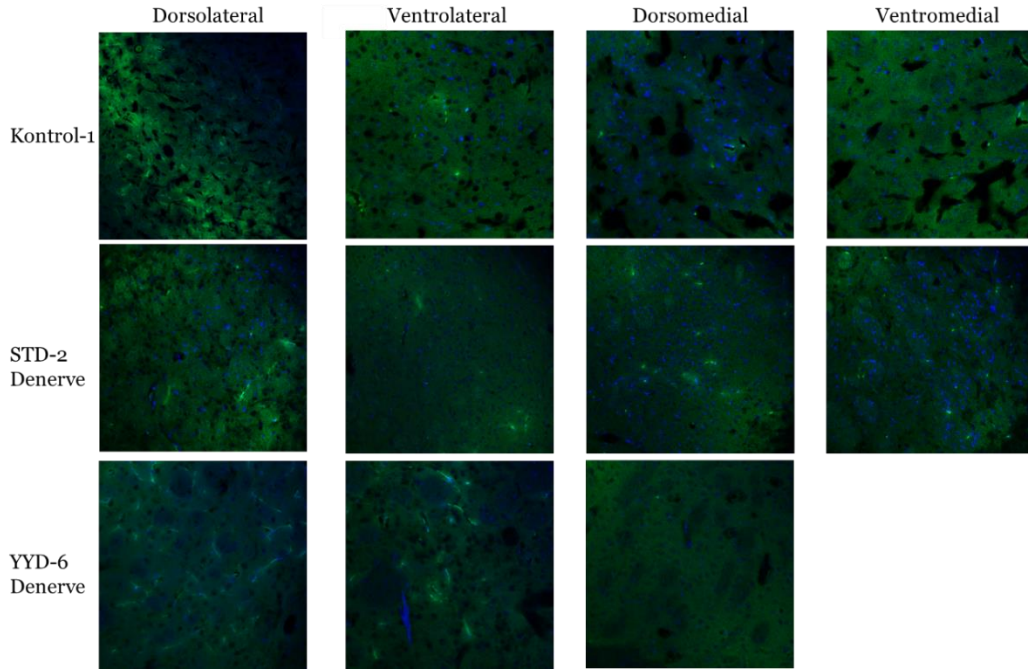
D1 reseptörü boyanması açısından deney grupları incelendiğinde sonuçlar şu şekildedir; dorsolateral striatum, dorsomedial striatum, ventrolateral striatum, ventromedial striatum alanlarında STD grubunda sağlam hemisferindeki D1 reseptörü yoğunluğu kontrol grubu ile benzer iken, YYD grubunun sağlam hemisferi aynı beyin bölgeleri açısından kontrol ve STD gruplarına göre D1 reseptörü boyanma yoğunluğu açısından belirgin şekilde düşüktür (Şekil 4.38.).



Şekil 4.38. Kontrol, STD ve YYD gruplarının sağlam hemisferlerinin D1 reseptörü boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. (10X)

Dorsolateral striatum, dorsomedial striatum, ventrolateral striatum, ventromedial striatum alanlarında STD grubunda denerve hemisferindeki D1 reseptörü yoğunluğu kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde az iken, YYD grubunun denerve hemisferi aynı

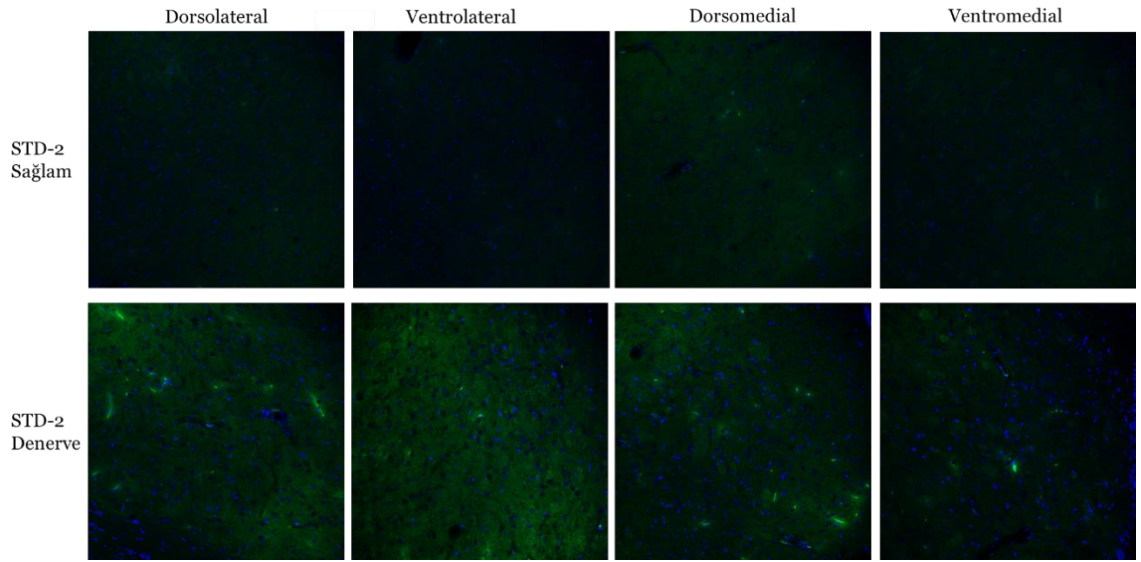
beyin bölgeleri açısından STD grubuna göre D1 reseptörü boyanma yoğunluğu açısından belirgin şekilde düşüktür (Şekil 4.38.).



Şekil 4.39. Kontrol, STD ve YYD gruplarının hasarlı (denerve) hemisferlerinin D1 reseptörü boyamasından örnekler. Her grupta dört farklı striatal bölge görüntülenmiştir. YYD grubunda denerve hemisfere ait ventromedial striatum görüntülenmesi tekrarlanacaktır. (10X)

STD gruptaki sağlam ve denerve hemisferler D2 reseptörü boyanması açısından kıyaslandığında dorsolateral striatum, dorsomedial striatum, ventrolateral striatum, ventromedial striatum alanlarında D2 reseptörü yoğunluğu denerve hemisferde belirgin biçimde yüksektir (Şekil 4.40.).

D2 reseptörü boyaması sonuçlarında YYD-6 grubunda D2 reseptörü düşük yoğunluklu boyandığı için yenilenmesine karar verilmiştir.



Şekil 4.40. STD grubunun sağlam ve hasarlı (denerve) hemisferlerinin D2 reseptörü boyamasından örnekler(10X)

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında YYD ile beslenerek vücut ağırlıklarının artması sağlanan sıçanlarda motor test performansının STD uygulanan hayvanlara göre daha kötü olduğu, stereotaksik 6-OHDA enjeksiyonu ile oluşturulan PH modelinin striatumda dopaminerjik denervasyon yarattığı ve bu nörodejenerasyonun YYD grubunda daha fazla olduğu saptandı. Motor semptomlar PH gelişen her iki diyet grubunda da bozulmuştu, ancak iki grup arasındaki farkın ortadan kalktığı gözlemlendi. Bu bulgulara beyin leptin reseptör yoğunluğu ve nöroinflamatuvar süreçlerin neden olduğu düşünüldü.

Çalışmamızın ilk hedefi olan *Sprague Dawley* sıçanlarda obezite geliştirilmesi, YYD ile beslenme sağlandı. Önceki çalışmalar ve laboratuvarımızda uyguladığımız obezite modeli gözden geçirilerek % 30 yağ içeren YYD 8 hafta süre ile uygulandı ve PH modeli oluşturulmadan önce hayvanlarda hedeflenen (standart yemle beslenen hayvanlardan en az % 30 daha yüksek vücut ağırlığı) kilo artışı sağlandı. *Sprague Dawley* sıçan türü obezite hayvan modelleri açısından en sık kullanılan türlerden biri olduğu, obeziteye yatkınlıkları ve bu yatkınlığın özellikle erkek sıçanlarda daha fazla olması nedeni ile çalışmamızda erkek *Sprague Dawley* sıçanlar kullanılmıştır. Bu türe ait hayvanların YYD ile beslendiklerinde insan ile benzer biçimde bazı hayvanlarda obezite fenotipinin kolayca geliştiği diğerlerinde ise standart yem ile beslenen hayvanlara benzer vücut ağırlığında kaldıkları görülmüştür. Bu bilgiler ışığında araştırmacılar YYD etkisiyle etkin biçimde obezite gelişen hayvanları seçici olarak çiftleştirerek obeziteye daha yatkın bir soy geliştirmişler ve bu soylarda obeziteye yatkınlığın erkek bireylerde dişilere kıyasla daha baskın görüldüğünü de göstermişlerdir (44, 118). Obezite hayvan modeli çalışmalarında elde edilen ilginç bulgulardan biri de kafes başına düşen hayvan sayısı artırıldığında geliştirilmek istenen obezite modelinin daha başarılı olabileceğidir (119). Bu sebeplerle, obezite modeli geliştirilecek olan hayvanlar seçilirken ince ayrıntılar çalışmanın sonucunu etkileyebilir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda kullanılan erkek sıçanlar, 4-5 hayvan/kafes olacak şekilde barındırılmış ve kilo alımı açısından yakından takip edilmiştir. Hedef kiloya ulaşamayan sıçanlar çalışmaya alınmamıştır.

Çalışmamızda farklı PH modellerinden stereotaksik 6-OHDA ile oluşturulan PH modeli kullanılmıştır. Bu model, % 60 - 70 başarı oranına sahip olduğunun gösterilmesi, tek taraflı PH semptomları oluşturabilmesi ve aynı hayvanda karşı tarafın kontrol olarak

kullanılabilmesi, sistemik yan etkileri olmaması ve uygulama yöntemi nedeni ile araştırmacılar açısından riskinin düşük olması gibi avantajları göz önünde tutularak tercih edilmiştir. Ancak 6-OHDA dopamin ve noradrenalin analogu olduğu ve tüm katekolaminerjik nöronlarda dejenerasyona neden olabileceği için hücre içine alınmasını sağlayan taşıyıcılardan noradrenalin membran taşıyıcı (NAT) blokörü desipramin ile birlikte kullanılmış, böylece seçici olarak dopaminerjik nöronlar hedeflenmiştir. Ek olarak hayvanlara MAO inhibitörü paraglyin de uygulanmış böylece 6-OHDA molekülünün yıkımı azaltılarak dopaminerjik nöronların maruziyeti artırılmıştır. Böylece, uygulanan modelin başarılı olma ihtimali artırılmıştır.

PH'nin geliştiği stereotaksik cerrahiden 21 gün sonra yapılan apomorfin testi ve motor testler ile doğrulanmıştır. Apomorfin testi sonrasında dakikada 6 ve üzeri dönüş yapan hayvanlarda dopaminerjik nöronların tam dejenerasyona uğradığı, dakikada 6 turdan daha az dönen hayvanların parsiyel dejenerasyona maruz kaldığı kabul edilmektedir (113). Apomorfin testi sonuçlarımız YYD ile beslenen hayvanların % 58,3'ünde, STD ile beslenen hayvanların ise % 90'ında tam denervasyon geliştiğini göstermiştir. Bu literatürde belirtilen başarı oranlarına uygun ve STD grubunda ise üstüne çıkan bir orandır. Deney gruplarında apomorfine dönüş yanıtına göre parsiyel denervasyon geliştiği değerlendirilen hayvanların temizlenme ve donma davranışları incelemiş ve uygulanan modelin PH oluşturduğu görülmüştür. Çalışmamızda, YYD aracılı DIO ve 6-OHDA PH modelleri başarı ile uygulanmıştır.

PH hastalığında tanı klinik belirtiler, istirahat tremoru, rijidite ve bradikinezi gibi motor semptomların ile konulmaktadır (120). Bu motor semptomlar, dorsal striatuma uzanan SNpc'de yer alan dopaminerjik nöronların ilerleyici kaybına yanıt olarak gelişir. Bununla birlikte, PH'nin tam patolojik spektrumu, azalmış dopamin ile açıklanan bir hareket bozukluğunun ötesine uzanmakta ve otonomik disfonksiyonları (örneğin, gastrointestinal ve üriner disfonksiyonlar ve ortostatik hipotansiyon), uyku/uyanıklık bozuklukları ve çok çeşitli nöropsikiyatrik durumları da içermektedir (121). PH'nin motor semptomları, L-DOPA ve dopamin reseptörü agonistlerine dayanan replasman tedavileri ile önemli ölçüde azaltılabilirken (122), motor olmayan semptomlar genellikle bu yaklaşımlara dirençlidir. Bu kısıtlılıklara rağmen, 6-OHDA uygulamasının göreceli seçiciliği, PH'nin klasik motor semptomlarını ve L-DOPA gibi standart antiparkinson ilaçlarının uzun süreli uygulanmasıyla gelişen motor komplikasyonları modelleme

başarısı bu toksinin deney hayvanlarında parkinsonizm modeli oluşturmada en çok tercih edilen yöntem olmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, 6-OHDA aracılı parkinsonizm modelleri hastalarda sıklıkla gözlenen motor dışı komorbiditenin altında yatan mekanizmaları aydınlatmak için de kullanılmaktadır. Örnek olarak, fare ve sıçanlarda MFB, SNc veya striatum bölgelerine yapılan 6-OHDA enjeksiyonlarının bu hayvanlarda koku alma ve sirkadiyen ritim ve uyku bozuklukları ile birlikte bilişsel bozukluklara da neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (123). Bu bozukluklar kısmen noradrenalin sisteminin eşzamanlı dejenerasyonu veya 6-OHDA lezyonu sonucu serotonin seviyelerindeki azalma ile açıklanabilmektedir (124-126). Bu durumu elimine edebilmek için tez çalışmamızda yöntem bölümünde de belirtildiği gibi hayvanlara 6-OHDA enjeksiyonundan 30 dakika öncesinde desipramin ve paragylin intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

Obeziteye bağlı olarak metabolik işlevlerde meydana gelen bozuklukların, demans gelişimi, nöronal hücre ölümüne sebep olabilecek morfolojik değişikliklere ve bilişsel işlevlerde bozulmaya sebep olabileceği yakın zamanda tartışılmaya başlanmıştır. Bittencourt ve ark. 25 hafta süreyle YYD besledikleri *Wistar* türü sıçanlarda nigrostriatal yolda önemli değişiklikler tespit etmişlerdir(54). Bu hayvanlarda, beyin TH düzeylerinde azalmaya ek olarak, insülin direnci, artmış tümör nekroz faktör- α seviyeleri, oksidatif stres, astroglioz ve mikroglia aktivasyonu ile tanımlanan nöroinflamasyon da tespit edilmiştir. Motor testler değerlendirildiğinde ise, obezite gelişen YYD grubunda açık alan, aydınlık/karanlık kutusu, hareketlilik ve kaygı ile ilgili lokomotor ve davranış testlerinde önemli değişimler tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, YYD grubunda inflamatuvar parametrelerde meydana gelen artışın obezite gelişimi sonucu oluşan metabolik bozukluklarla ilişkilendirilebileceğini, motor işlev bozukluklarının ise, L-DOPA oluşumu ve dopamin biyosentezi için hız sınırlayıcı bir enzim olan tirozin hidroksilaz (TH) seviyelerindeki azalma ile gösterilen dopaminerjik nöron dejenerasyonu ile açıklanabileceğini göstermektedir. Son yıllarda mikroglia aracılı nöroinflamasyon, oksidatif stres, proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar faktörlerin PH patogeneğinde oynayabileceği roller büyük ilgi çekmektedir (103-105).

Tez çalışmamız kapsamında varılan sonuçlara göre YYD ile STD grupları arasında spontan aktivite testi parametreleri açısından anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Spontan aktivite testi deney hayvanlarında asimetric ayak kullanımı testinden uyarlanarak

geliştirilmiştir (76, 127, 128). Bu test deney hayvanlarında spontan hareket başlatma ve sürdürme davranışlarını incelediği için parkinsonizm hayvan modeli çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (129). Çalışmamız kapsamında stereotaksi ile parkinsonizm modeli gelişimi öncesi YYD ile STD yem grubu hayvanlar arasında spontan aktivite testinde kullanılan parametrelerden dikelme sayısı, temizlenme süresi, ön ve arka ayak adım sayıları arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. YYD ile STD yem grubu arasındaki bu farkın iki yem grubuna da uygulanan stereotaksi uygulaması sonucunda PH gelişen hayvanlarda kaybolduğunun görülmüş olması şaşırtıcıdır.

6-OHDA ile indüklenen dopaminerjik yolak lezyonlarının veya dopamin reseptör antagonisti uygulamalarının, deney hayvanlarında afajiyeye (130-132) yol açtığı uzun zamandır bilinmektedir. Bu gözlemler gen susturma teknolojisi kullanılarak da doğrulanmıştır (133). Spontan aktivitenin azalmasının da bir göstergesi olan bu durum, bizim çalışmamızda da PH geliştikten sonra her iki diyet grubunda da vücut ağırlığının azalmasını da açıklamaktadır.

Çalışmamızda kullandığımız rotarod testinde deney hayvanlarının döner mil üzerinde dengede kalma süresi motor koordinasyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Dopaminerjik denervasyona bağlı olarak motor koordinasyonda bozulma beklenmektedir. Hareketli mil üzerinde dengede durabilme süresi motor bozukluğun derecesine bağlı olarak kısalmaktadır. Bu bilgilere uygun şekilde PH gelişen hayvanlarda rotarod üzerinde kalabilme süreleri azalmıştır. Ek olarak, YYD ile beslenen hayvanların rotarod testinde elde edilen süreler STD grubundan daha kısadır. Benzer sonuçlar, yatay çubuk testi ile de elde edilmiştir.

Bütün motor testler ve apomorfın testi sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, YYD'e bağlı gelişen obezitenin yarattığı kronik inflamatuvar sürecin elde edilen bulguları açıklayabileceği düşünülmektedir, bu literatür verileri ile de desteklenmektedir (134-136). Tez çalışmamızın limitasyonlarından biri de inflamatuvar süreçlere ait parametrelerin incelenmemiş olmasıdır. Halihazırda elimizde bulunan doku örneklerinde bu parametrelerin incelenmesi gelecek dönem hedeflerimiz arasındadır.

Tez çalışmamız kapsamında YYD ve STD gruplarına ait hayvanlara uygulanan 6-OHDA aracılı unilateral parkinsonizm modelinin başarıya ulaştığı yem gruplarına ait hayvanların sağlam ve denerve hemisferleri dopaminerjik nöron yoğunluğu bakımından

incelendiğinde açıkça görülmektedir. Çalışmamızda striatum dorsolateral, dorsomedial, ventrolateral ve ventromedial bölgeleri ile beraber ventral tegmental alan ve SN'de TH yoğunlukları immünfloresan boyama ile değerlendirildiğinde motor bulguları destekler şekilde YYD ile beslenen hayvanlarda STD ve kontrol gruplarına göre azaldığı ve PH modeli uygulanan tüm hayvanlarda önemli miktarda TH boyanma yoğunluğunun azaldığı görülmüştür. TH miktarı ile gösterilen dopaminerjik denervasyon hastalıktan önceki motor test skorlarını ve literatür bilgilerini desteklemektedir (54). Bu bulgular literatür bilgisi ile uyumlu biçimde YYD uygulamasına bağlı olarak gelişen obezite kaynaklı kronik inflamatuvar süreçler neticesinde YYD grubuna ait hayvanlarda gelişen dopaminerjik nöron kaybının STD grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu kanıtlamaktadır. Mevcut literatür bilgisi yaşlanma, hipertansiyon, diyabet, obezite, çevresel toksin maruziyeti, inflamasyon, kafa travması ve genetik faktörler gibi risk faktörlerinin PH geliştirme riski ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Sharma ve ark. erkek *Wistar* sıçanları sekiz hafta boyunca YYD ile besledikten sonra 6-OHDA aracılı parkinsonizm modeli geliştirmişlerdir. Araştırmacılar YYD'e maruz kalan gruptaki hayvanlarda STD yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük striatal dopamin yoğunluğu ve motor becerilerde bozulma gözlemlemişlerdir (137). YYD grubuna ait hayvanlarda STD grubuna ait hayvanlara kıyasla motor hareket ve koordinasyondan sorumlu bölgelerde gözle görülür şekilde düşük dopaminerjik nöron yoğunluğu sensorimotor testler sırasında deney hayvanlarının motor kabiliyetinde anlamlı bir düşüşe yol açmıştır. YYD uygulaması kronik nörodejeneratif süreç gibi etki ederek bu gruba ait hayvanlarda daha düşük dopaminerjik nöron yoğunluğuna sebep olmaktadır.

Ancak PH modeli uygulanan hayvanların YYD grubunda olanlarda motor performansın STD grubu kadar bozulmamış olması ya da diğer bir ifade ile iki grubun benzer hale gelmesi TH boyaması sonuçları ile tam paralellik göstermemektedir, bu uyumsuzluk besin alımının ödül sistemi üzerinden lokomotor aktiviteyi artırıcı etkileri ile açıklanabilir. Mezokortikolimbik sistem, lezzetli yiyecekler veya sosyal etkileşim gibi doğal uyaranlarla birlikte kokain veya eroin gibi uyuşturucular da dahil olmak üzere ödüllendirici uyaranlarla etkinleşen bir dizi birbirine bağlı beyin bölgelerini temsil etmektedir. Ödül sistemi olarak da adlandırılan bu sistem, amigdala ve bazı hipotalamik yapıların da katılımıyla ventral striatum ve prefrontal korteks de dahil

olmak üzere ön beyin bölgelerine çıktı vermektedir. Ventral tegmental alandan prefrontal kortekse (mezokortikal) ve nükleus akumbens ile amigdalaya (mezolimbik) giden dopamin projeksiyonlarının lokomotor aktivite ile ilgili etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (138). Ödül sisteminin besin alımı ile özellikle YYD'nin artmış lezzeti ile uyarılıyor olması PH modeli uygulanmasına rağmen YYD grubunda STD kadar belirgin etki gözlenmemesinin nedenlerinden birisi olabilir. Bu tutarsızlık dopaminerjik nöronların yüzeyinde yerleşen leptin, D1 ve D2 reseptör yoğunluklarında meydana gelen işlevsel değişiklikler ve aktive/inhibe olan yollar özelinde de açıklanabilir.

Dopamin şu ana kadar tespit edilen G-proteini ile kenetli beş reseptörü ile etki göstermektedir. İki gruba ayrılan DA reseptörlerinden D1-benzeri aile (*D1 like family*), D1 ve D5 reseptörlerini, D2-benzeri aile (*D2 like family*) ise D2, D3 ve D4 reseptörlerini içermektedir. D1 ve D2 reseptörlerinin birincil ifade bölgesi striatumdur (139), ancak her iki reseptör alt tipi de hipotalamus ve prefrontal kortekste de ifade olmaktadır (140).

D2 reseptörü ile ilgili çalışmalar çoğunlukla ödül sistemi ile ilgili araştırmaları içermektedir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalar obezite / YYD tüketimi ile ödül sisteminin işlevinde azalma arasında korelasyon olduğunu göstermektedir. Ödül sisteminin uyarılma eşiğini bu sistemin aktivitesinin bir ölçüsü olarak kabul eden çalışmalar, kronik YYD tüketiminin deney hayvanlarında ödül eşiğini düşürdüğü göstermiş ve bu etkiye D2 reseptör seviyelerinde azalmanın aracılık ettiği belirtilmiştir (141-145). İlginç olarak, araştırmacılar D2 reseptör seviyelerinde görülen azalmanın YYD uygulamasının sonlandırılmasını takiben 2 hafta daha devam ettiği bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada, 28 günlük YYD tüketiminin, sıçanlarda NAc bölgesinde D1 ve D2 reseptörlerinin seviyelerinde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (146). Bu bulguların aksine, Han ve ark. 5 ay YYD ile besledikleri obez C57BL/6J farelerin orta beyinlerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek dopamin ve D2 reseptör seviyeleri tespit etmişlerdir (147). Başka çalışmada da 3 ay YYD ile beslenen obez C57BL/6J farelerin striatum bölgesinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek D2 reseptör seviyeleri raporlanmıştır (148). Benzer biçimde 4 ay YYD ve yüksek şekerli yem ile beslenen obez C57BL/6J farelerin striatum bölgesinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek dopamin seviyeleri saptanmıştır (149). Bu bulgular, D1 ve D2 reseptörleri ile birlikte beyin dopamin seviyelerinin YYD ile beslenme karşısında verdiği cevapta literatür

kapsamında fikir birliği oluşmadığı hatta birçok çalışmada birbirine tam zıt sonuçlar elde edildiğini işaret etmektedir. Bu durumun D1 ve D2 reseptörlerinin beynin farklı bölgelerinde homojen dağılım göstermemesiyle ilgili olabileceği ilk akla gelen cevap olsa da özellikle dopamin reseptör ailesinin her bir üyesinin motor fonksiyonların regülasyonu dışında birçok motor olmayan fonksiyonun regülasyonunda da rol aldığı gerçeği de göz ardı edilmemelidir.

Bir çok çalışma unilateral 6-OHDA enjeksiyonunun striatumdaki D1 ve D2 reseptörlerinde yukarı doğru regülasyona (*upregulation*) sebep olarak denervasyondan sonra bu reseptörlerin süpersensitizasyonuna yol açtığını göstermektedir (150). Fakat, PH hastalarından elde edilen postmortem örneklerde kaudat ve putamen bölgelerinde D1 ve D2 reseptör seviyelerinin hasta olmayan bireyle benzer yoğunlukta tespit edildiği gerçeği de unutulmamalıdır (151, 152). Ayrıca, 6-OHDA ile indüklenen unilateral PH modelinde striatumdaki en belirgin nöronal hücre fenotipi olan GABAerjik MSN'ların D2 reseptörlerini kodlayan genlerinde artmış mRNA ifadesi gösterilirken, dinorfin/P maddesi pozitif nöronlarda D1 reseptörlerini kodlayan genlerde ise azalmış mRNA ifadesi tespit edilmiştir (153). Farklı çalışmalarda birbiri ile çelişen bulguların mevcut olması PH gelişiminde D1 ve D2 reseptörlerinin ifade ve yoğunluğunda hastalık gelişimi ile indüklenen aşırı duyarlılığa karşı telafi edici mekanizmalardan kaynaklanan değişikliklerin geliştiği düşündürmektedir. PH'da ve PH modellerindeki semptomlarda geniş bir spektrumda farklı olması da bu çeşitliliklere bağlı olabilir.

Önceki verilerin ışığında, stereotaksik 6-OHDA modelinin toksik etkisi sebebiyle dopaminerjik D1 reseptörlerinde boyanma yoğunluğunun daha az olması beklenmektedir. Bu durumda, bahsi geçen D1 reseptörlerinde ligandına karşı affinite artışı olması beklenmektedir. Çalışmamızın sonuçları da bu verileri destekleyecek şekilde görüntülenen tüm striatal bölgelerde YYD grubunda azalmıştı. Bu durum hasar oluşturulmayan sağlam hemisferler için de geçerliydi. Süpersensitizasyon veya aşırı duyarlılık ("yukarı düzenleme" veya "aşırı duyarlılık") ilk olarak reseptöre özgü presinaptik ögenin tükenmesini takiben gelişen reseptör blokajı sonucunda oluşan adaptif bir mekanizmadır. Bu süreç sonucunda, yeni reseptörlerin sentezi ile daha çok reseptör hücre yüzeyinde bulunan fizyolojik ligandlarına maruz kalmaktadır.

Unilateral PH hayvan modellerinde D1 reseptör ifadesinin azalması, bu hastalığın en önemli semptomlarından biri olan bradikinezi ve akineziyi temsil eden spontan aktivite parametrelerindeki azalmayı kısmen açıklayabilir. Hastalık gelişen hayvanlarda saptanan azalmış D1 reseptörü ifadesine rağmen, D1 reseptörlerinin sinyal yollarında artmış aktivasyon tespit edilmiştir, bunun GABA salıverilmesini artırarak diskineziye sebep olabileceği iddia edilmektedir.

YYD ile beslenmenin kronik inflamatuvar süreçler yoluyla 6-OHDA aracılı dopaminerjik denervasyonun etkilerini güçlendireceği yönündeki hipotezimiz D1 reseptörü özelinde incelendiğinde şu yorumu yapabiliriz. İmmünfloresan görüntüleme sonuçları YYD grubunda seçili beyin alanlarındaki D1 reseptör yoğunluğu STD grubu ile karşılaştırıldığında belirgin derecede düşüktür. YYD uygulaması sonucunda D1 reseptör yoğunluğunda görülen azalmanın motor becerileri de negatif olarak etkileyeceği düşünülebilir. Fakat, literatür kapsamında birçok çalışmada da vurgulandığı gibi 6-OHDA uygulaması ve obezite gelişimi sonucunda D1 reseptör miktarı ve bu reseptörün ligandı olan dopamin seviyelerinde meydana gelen azalma D1 reseptörünün süpersensitize duruma gelmesine sebep olmuş olabilir. Aşırı duyarlılaşan D1 reseptörü ise azalmış ligandını daha verimli bir şekilde kullanacaktır. Eğer tez çalışmamızda YYD grubuna ait hayvanda D1 reseptör sensitizasyonu gerçekleştiğini kabul edersek bu durum gerçekleştirmiş olduğumuz sensorimotor testler sonucunda stereotaksi uygulaması sonrasında YYD ile STD gruplarının benzer motor beceriye sahip olduğu bulgumuzu açıklayabilir. Fakat, bu önermeyi doğrulamak için YYD ve STD grubuna ait hayvanların D1 reseptörüne bağımlı olarak aktive/inhibe olan yollarını araştırmak gereklidir.

Çalışmamız kapsamında deney gruplarına ait dopaminerjik D2 reseptör yoğunluğu incelendiğinde sadece STD-2 hayvanına ait beyin kesitlerinde yapılan D2 reseptör boyamalarının sonuçları sunulabilmiştir. Diğer grupların beyin kesitlerinde D2 reseptör boyaması kullanılacak olan antikor yoğunluğu, primer antikor ile inkübasyon süresi vb. optimizasyon kaynaklı sorunlar sebebi ile başarıya ulaşmamıştır. STD grupta elde edilen D2 reseptör yoğunluğu bulguları incelendiğinde literatür ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu kapsamda, literatür bilgileri 6-OHDA enjeksiyonu ile YYD ile obezite gelişiminin D2 reseptör yoğunluğunu artırdığını göstermektedir.

Önceki çalışmalardan elde edilen bilgiler, leptinin mezolimbik dopaminerjik sistemi TH, veziküler somatodendritik depolar, nöronal uyarılabilirlik, dopamin taşıyıcısı ve dopamin salımı da dahil olmak üzere birçok seviyede modüle ettiğini göstermektedir (154, 155). Yiyecek alımı, ödül sistemi ve limbik sistem üzerinde etkileri literatür kapsamında gösterilmiş olan leptin reseptörünün substantia nigra ve striatum gibi alanlarda da ifade edildiği bilinmektedir (156).

YYD ile gelişen obezite ile periferik ve merkezi olarak arttığı düşünülen leptinin nöroinflamatuvar mekanizmalar yoluyla PH patofizyolojisine katkıda bulunup bulunmadığı konusu ilgi çekicidir. Literatür bilgileri, leptinin mikroglialarda sitokin üretimi üzerinde etkisi olduğunu ortaya koymuştur (157). Leptinin mikroglial hücrelerdeki LRb reseptörüne bağlanarak ve STAT3 aktivasyonu yoluyla IL-1 β üretimini tetiklediği gösterilmiştir. Ek olarak, BV-2 hücre hattı ile yapılan çalışmalar leptinin IRS-1/PI3K/Akt/NF- κ B/p300 sinyal yolağı aracılığıyla IL-6 üretimini modüle ettiğini göstermektedir (158). Bu bulgular leptinin nöroinflamatuvar mekanizmalar yoluyla PH gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bunu destekleyecek biçimde bir insan çalışmasında plazma leptin seviyeleri ile TH ifadesi arasında negatif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (159). Bizim çalışmamızda da STD ve YYD grubuna ait hayvanların LR yoğunlukları incelendiğinde, YYD grubunda sağlam ve denerve hemisferlerde LR boyanma yoğunluğu STD grubuna göre belirgin biçimde yüksektir. YYD grubundaki hayvanların 8 hafta YYD ile beslenmesi ve kilo artışı periferik ve merkezi leptin seviyelerinin yükselmesine neden olurken, bu süreçte reseptör düzeyinde meydana gelen bir adaptasyon da hayvanın sağlam hemisferindeki seçili beyin alanlarında leptin reseptör yoğunluğunun STD grubuna kıyasla daha yüksek olmasını açıklayabilir. Obezite gelişimi ile adipoz dokudan leptin aracılı ve aracısız olarak birçok proinflamatuvar adipokinin salgılandığı bilinmektedir. Son yıllarda leptin hormonunun merkezi etkilerinin araştırıldığı çalışmalar bu hormonun sadece yiyecek alımı ve vücut ağırlığı düzenlenmesinde değil de lokomotor aktivite ve çeşitli motor yollar üzerinde de farklı etkiler gösterebileceğini bildirmiştir. Leptin reseptörü ile ilgili özellikle substantia nigra ve VTA özelinde yapılan son çalışmalar bu reseptörlerin yiyecek alımına bağlı ödül sistemi, beslenme ve lokomotor aktivite üzerine etkileri hakkında çelişkili sonuçlar bildirmektedir. Orta beyinde yer alan leptin reseptörlerinin lokomotor aktivite üzerine etkilerini araştıran

bir çalışmada, VTA bölgesine yapılan leptin infüzyonunun *ad libitum* beslenen hayvanlarda yiyecek alımını düşürmesine rağmen lokomotor aktivitede bir değişiklik yaratmadığını tespit eden araştırmacılar, RNA interferans yöntemiyle VTA bölgesinde LR'yi susturdularında ise bu gruptaki hayvanların hem besin tüketimi hem de lokomotor aktivitelerinde artış görmüşlerdir. Artan besin tüketimine karşın bu hayvanlarda lokomotor aktivitenin de artmış olması bu hayvanların vücut ağırlıklarında anlamlı değişim görülmemesiyle sonuçlanmıştır. VTA bölgesindeki dopaminerjik nöronlarda ifade edilen LR, STAT3 sinyal yolağı ile ilişkilidir. Orta beyinde SN ve VTA'da yerleşimli dopaminerjik nöronlarda STAT 3 yolağı ablasyonu gerçekleştirdiğinde, hayvanlarda lokomotor aktivitenin arttığı raporlanmıştır (160). Öte yandan, merkezi leptin infüzyonu yapılan yüksek şeker ve yağ içerikli yem ile beslenen hayvanlarda lokomotor aktivitenin değişmemesi, bu hayvanların zaten yüksek endojen leptin düzeylerine sahip olması ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda elde edilen bulgular LR özelinde incelendiğinde, YYD grubunda LR seviyeleri sağlam ve denerve hemisferde STD grubuna kıyasla belirgin biçimde yüksek tespit edilmiştir. YYD ile beslenmenin periferik ve merkezi leptin seviyelerini artırdığı kabul edilirse, tez çalışmamız kapsamında stereotaksi uygulamasından önce gerçekleştirilen sensorimotor test bulgularında YYD grubuna ait hayvanların istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük motor beceriye sahip olmaları açıklanabilmektedir. Motor test sonuçları bakımından YYD ile STD grupları arasında stereotaksi öncesinde görülen istatistiksel olarak anlamlı farkın stereotaksi sonrası test sonuçlarına göre ortadan kalkmış olması ise, YYD grubuna ait hayvanların 8 haftalık süre boyunca yüksek yağlı besine maruz kalmaları periferik ve merkezi leptin miktarını artırırken beklendiği şekilde reseptör uyum mekanizmaları dahilinde merkezi reseptör seviyelerini de artırmış olabilir. Ayrıca, YYD grubundaki hayvanların uzun süre yüksek periferik ve ve merkezi leptin seviyelerine maruz kalmaları leptin reseptörlerinde ön koşullanmaya (*preconditioning*) neden olarak hastalık modeli uygulandığında leptinin motor yanıtındaki rolünün değişmesine neden olması mümkündür. Özellikle leptinin merkezi sinir sisteminde koruyucu ve zarar verici etkileri son yılların gözde araştırma konularından biri haline gelmiştir. Biz de tez çalışmamızda YYD grubunda merkezi LR'nin ön koşullanma mekanizmaları ile aktivasyon değişikliğine giderek, PH modeli geliştiğinde dopaminerjik nöronlarda

leptinin koruyucu etkilerini gösterdiği yolakların daha baskın hale geldiğini düşünmekteyiz. Özetle, STD ile YYD hayvanlarının stereotaksi öncesi sensorimotor test sonuçlarının desteklediği şekilde, YYD grubuna ait hayvanlarda YYD ile beslenmenin periferik ve merkezi leptin seviyelerini artırmanın yanısıra, adipoz doku kaynaklı proinflamatuvar adipokinlerin de katkısıyla merkezi dopaminerjik nöron aracılı motor yetenekte düşüşe sebep olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın kısıtlılıklarından birisi leptin düzeylerinin ölçülememiş olmasıdır, bu konuda gerçekleştirilen bir çalışma plazma leptin seviyeleri ile TH ifadesi arasında negatif korelasyon bulmuştur (161, 162). Bununla birlikte, YYD ile besleme sonucunda obez gruba ait hayvanların dopaminerjik nöronlarındaki LR önkoşullanma ve uyumu PH ve DIO modellerinin uygulandığı YYD grubundaki hayvanlarda STD grubuna benzer motor skorlar saptanmasını açıklayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1) Çalışmamızda uygulanan YYD modeli obeziteye neden olmuştur.
- 2) Stereotaksik 6-OHDA uygulaması STD ve YYD gruplarında PH gelişimini sağlamıştır.
- 3) YYD grubunda motor test skorları azalmış motor performansı göstermektedir.
- 4) PH geliştikten sonra diyet grupları arasındaki motor performans farkı ortadan kalkmıştır.
- 5) Bu bulgunun dopaminerjik D1 ve D2 reseptörlerinin striatal ifadelerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.
- 6) STD ve YYD gruplarında merkezi leptin reseptör düzeylerindeki farkın obezitenin neden olduğu inflamatuvar sürece adaptasyon olarak ortaya çıkmış olabileceği ve dopaminerjik sistemi ve dolayısı ile motor performansı modüle edebileceği düşünülmüştür.

Öneriler:

- 1) Vücut ağırlığının nörodejeneratif hastalıklardaki rolünün periferik ve merkezi adipokin düzeyleri de gözönünde tutularak incelenmesi,
- 2) Beyin leptin ve dopamin düzeylerinin de ölçülerek nörodejenerasyonun patogenezinde oynayabileceği olası rolün araştırılması,
- 3) Beyindeki motor sistemin yanısıra dopaminerjik ve leptinerjik alt yolların diğer işlevler açısından da değerlendirilmesi PH araştırmalarına önemli katkıda bulunacaktır.
- 4) Vücut ağırlığının nörodejeneratif hastalıklardaki rolünün periferik ve santral inflamatuvar belirteçlerin düzeyleri de gözönünde tutularak incelenmesi,
- 5) D1, D2 ve Leptin reseptörleri özelinde vücut ağırlığındaki değişim ve/veya PH modelinin gelişimi sonrası ligandın affinite (binding) modülasyonunda meydana gelebilecek olası değişikliklerin incelenmesi de vücut ağırlığının nörodejeneratif hastalıklardaki rolünün aydınlatılmasına önemli katkıda bulunacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003;39(6):889-909.
2. Jenner P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2008;9(9):665-77.
3. Huot P, Johnston TH, Koprach JB, Fox SH, Brotchie JM. The pharmacology of L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease. *Pharmacological reviews*. 2013;65(1):171-222.
4. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *The Lancet*. 2011;378(9793):804-14.
5. Collaborators GO. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *New England journal of medicine*. 2017;377(1):13-27.
6. Tremmel M, Gerdtham U-G, Nilsson PM, Saha S. Economic burden of obesity: a systematic literature review. *International journal of environmental research and public health*. 2017;14(4):435.
7. Withrow D, Alter DA. The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. *Obesity reviews*. 2011;12(2):131-41.
8. de Heredia FP, Gómez-Martínez S, Marcos A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2012;71(2):332-8.
9. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2169-80.
10. Flores-Dorantes MT, Díaz-López YE, Gutiérrez-Aguilar R. Environment and gene association with obesity and their impact on neurodegenerative and neurodevelopmental diseases. *Frontiers in Neuroscience*. 2020;14:863.
11. Organization WH. WHO European regional obesity report 2022. 2022.
12. Collaboration NRF. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19· 2 million participants. *The lancet*. 2016;387(10026):1377-96.
13. de Ferranti S, Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clinical chemistry*. 2008;54(6):945-55.
14. Avram AS, Avram MM, James WD. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2005;53(4):671-83.
15. Jéquier E. Pathways to obesity. *International Journal of Obesity*. 2002;26(2):S12-S7.
16. Hill JO, Melanson EL, Wyatt HT. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. *The Journal of nutrition*. 2000;130(2):284S-8S.
17. French S, Robinson T. Fats and food intake. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2003;6(6):629-34.
18. Schrauwen P, Westerterp KR. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *British journal of nutrition*. 2000;84(4):417-27.
19. Popkin BM, Keyou G, Zhai F, Guo X, Ma H, Zohoori N. The nutrition transition in China: a cross-sectional analysis. *European journal of clinical nutrition*. 1993;47(5):333-46.
20. Saris W, Astrup A, Prentice A, Zunft H, Formiguera X, Verboeket-Van De Venne W, et al. Randomized controlled trial of changes in dietary carbohydrate/fat ratio and simple vs complex carbohydrates on body weight and blood lipids: the CARMEN study. *International journal of obesity*. 2000;24(10):1310-8.

21. Warwick ZS, Schiffman SS. Role of dietary fat in calorie intake and weight gain. *Neuroscience & biobehavioral reviews*. 1992;16(4):585-96.
22. Boozer CN, Schoenbach G, Atkinson RL. Dietary fat and adiposity: a dose-response relationship in adult male rats fed isocalorically. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1995;268(4):E546-E50.
23. Takahashi M, Ikemoto S, Ezaki O. Effect of the fat/carbohydrate ratio in the diet on obesity and oral glucose tolerance in C57BL/6J mice. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 1999;45(5):583-93.
24. Scalfani A, Springer D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiology & behavior*. 1976;17(3):461-71.
25. Young GS, Kirkland JB. Rat models of caloric intake and activity: relationships to animal physiology and human health. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2007;32(2):161-76.
26. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 2007;15(4):798-808.
27. Lauterio TJ, Bond JP, Ulman EA. Development and characterization of a purified diet to identify obesity-susceptible and resistant rat populations. *The Journal of nutrition*. 1994;124(11):2172-8.
28. Farley C, Cook JA, Spar BD, Austin TM, Kowalski TJ. Meal pattern analysis of diet-induced obesity in susceptible and resistant rats. *Obesity research*. 2003;11(7):845-51.
29. Suleiman JB, Mohamed M, Bakar ABA. A systematic review on different models of inducing obesity in animals: Advantages and limitations. *Journal of advanced veterinary and animal research*. 2020;7(1):103.
30. Even PC, Virtue S, Morton NM, Fromentin G, Semple RK. Are rodent models fit for investigation of human obesity and related diseases? : *Frontiers Media SA*; 2017. p. 58.
31. Organization WH. World Health Organization obesity and overweight fact sheet. 2016. 2019.
32. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *The Journal of nutrition*. 2003;133(4):1081-7.
33. Ghibaudo L, Cook J, Farley C, Van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obesity research*. 2002;10(9):956-63.
34. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2002;282(1):R46-R54.
35. Du T, Yu X, Zhang J, Sun X. Lipid accumulation product and visceral adiposity index are effective markers for identifying the metabolically obese normal-weight phenotype. *Acta diabetologica*. 2015;52(5):855-63.
36. Djibo DA, Araneta MRG, Kritiz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Wooten W. Body adiposity index as a risk factor for the metabolic syndrome in postmenopausal Caucasian, African American, and Filipina women. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2015;9(2):108-13.
37. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1929;89(1):24-33.
38. Bernardis L, Patterson B. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*. 1968;40(4):527-8.
39. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.

40. Schemmel R, Mickelsen O, Motawi K. Conversion of dietary to body energy in rats as affected by strain, sex and ration. *The Journal of Nutrition*. 1972;102(9):1187-97.
41. Surwit R, Feinglos M, Rodin J, Sutherland A, Petro A, Opara E, et al. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and AJ mice. *Metabolism*. 1995;44(5):645-51.
42. Sharma B, Henderson DC. Sibutramine: current status as an anti-obesity drug and its future perspectives. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2008;9(12):2161-73.
43. Levin BE, Triscari J, Sullivan AC. The effect of diet and chronic obesity on brain catecholamine turnover in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1986;24(2):299-304.
44. Levin BE, Dunn-Meynell AA, Balkan B, Keeseey R. Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1997;273(2):R725-R30.
45. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and-resistant rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000;278(1):R231-R7.
46. Rothwell N, Stock M. Combined effects of cafeteria and tube-feeding on energy balance in the rat. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1979;38(1):5.
47. Rogers PJ, Blundell JE. Meal patterns and food selection during the development of obesity in rats fed a cafeteria diet. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1984;8(4):441-53.
48. Pérez C, Fanizza L, Sclafani A. Flavor preferences conditioned by intragastric nutrient infusions in rats fed chow or a cafeteria diet. *Appetite*. 1999;32(1):155-70.
49. Moore BJ. The cafeteria diet—an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *The Journal of nutrition*. 1987;117(2):227-31.
50. Banks WA, Coon AB, Robinson SM, Moinuddin A, Shultz JM, Nakaoke R, et al. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes*. 2004;53(5):1253-60.
51. Woods SC. The control of food intake: behavioral versus molecular perspectives. *Cell metabolism*. 2009;9(6):489-98.
52. Benoit SC, Kemp CJ, Elias CF, Abplanalp W, Herman JP, Migrenne S, et al. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC- θ subcellular localization in rodents. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(9):2577-89.
53. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*. 2010;23(2):270-99.
54. Bittencourt A, Brum PO, Ribeiro CT, Gasparotto J, Bortolin RC, de Vargas AR, et al. High fat diet-induced obesity causes a reduction in brain tyrosine hydroxylase levels and non-motor features in rats through metabolic dysfunction, neuroinflammation and oxidative stress. *Nutritional neuroscience*. 2022;25(5):1026-40.
55. Song J, Kim J. Degeneration of dopaminergic neurons due to metabolic alterations and Parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience*. 2016;8:65.
56. Wolters EC. Non-motor extranigral signs and symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. 2009;15:S6-S12.
57. Bergman H, Wichmann T, DeLong MR. Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science*. 1990;249(4975):1436-8.
58. Laitinen LV, Bergenheim AT, Hariz MI. Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease. *Journal of neurosurgery*. 1992;76(1):53-61.
59. Benabid A-L, Pollak P, Louveau A, Henry S, De Rougemont J. Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease. *Stereotactic and functional neurosurgery*. 1987;50(1-6):344-6.

60. Nambu A. A new dynamic model of the cortico-basal ganglia loop. *Progress in brain research*. 2004;143:461-6.
61. Milardi D, Quartarone A, Bramanti A, Anastasi G, Bertino S, Basile GA, et al. The cortico-basal ganglia-cerebellar network: past, present and future perspectives. *Frontiers in systems neuroscience*. 2019;13:61.
62. Kita T, Kita H. The subthalamic nucleus is one of multiple innervation sites for long-range corticofugal axons: a single-axon tracing study in the rat. *Journal of Neuroscience*. 2012;32(17):5990-9.
63. Wessel JR, Ghahremani A, Udupa K, Saha U, Kalia SK, Hodaie M, et al. Stop-related subthalamic beta activity indexes global motor suppression in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2016;31(12):1846-53.
64. Obeso J, Guridi J, DeLong M. Surgery for Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1997;62(1):2.
65. Blesa J, Phani S, Jackson-Lewis V, Przedborski S. Classic and new animal models of Parkinson's disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012;2012.
66. Chiueh C, Markey S, Burns R, Johannessen J, Jacobowitz D, Kopin I. Neurochemical and behavioral effects of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) in rat, guinea pig, and monkey. *Psychopharmacology bulletin*. 1984;20(3):548-53.
67. Dauer W, Kholodilov N, Vila M, Trillat A-C, Goodchild R, Larsen KE, et al. Resistance of α -synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(22):14524-9.
68. Seniuk N, Tatton W, Greenwood C. Dose-dependent destruction of the coeruleus-cortical and nigral-striatal projections by MPTP. *Brain research*. 1990;527(1):7-20.
69. Muthane U, Ramsay K, Jiang H, Jackson-Lewis V, Donaldson D, Fernando S, et al. Differences in nigral neuron number and sensitivity to 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine in C57/bl and CD-1 mice. *Experimental neurology*. 1994;126(2):195-204.
70. Blesa J, Juri C, Collantes M, Peñuelas I, Prieto E, Iglesias E, et al. Progression of dopaminergic depletion in a model of MPTP-induced Parkinsonism in non-human primates. An 18F-DOPA and 11C-DTBZ PET study. *Neurobiology of disease*. 2010;38(3):456-63.
71. Ungerstedt U. 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European journal of pharmacology*. 1968;5(1):107-10.
72. Blandini F, Armentero M-T, Martignoni E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism & related disorders*. 2008;14:S124-S9.
73. Díaz MRg, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, González-Hernández T. Motor behavioural changes after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: an animal model of Parkinson's disease. *Behavioural brain research*. 2001;122(1):79-92.
74. Larsen P, Hay-Schmidt A, Vrang N, Mikkelsen J. Origin of projections from the midbrain raphe nuclei to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat: a combined retrograde and anterograde tracing study. *Neuroscience*. 1996;70(4):963-88.
75. Dunnett SB, Lelos M. Behavioral analysis of motor and non-motor symptoms in rodent models of Parkinson's disease. *Progress in brain research*. 2010;184:35-51.
76. Glajch KE, Fleming SM, Surmeier DJ, Osten P. Sensorimotor assessment of the unilateral 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Behavioural brain research*. 2012;230(2):309-16.
77. Exner N, Lutz AK, Haass C, Winklhofer KF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: molecular mechanisms and pathophysiological consequences. *The EMBO journal*. 2012;31(14):3038-62.
78. Lachenmayer ML, Yue Z. Genetic animal models for evaluating the role of autophagy in etiopathogenesis of Parkinson disease. *Autophagy*. 2012;8(12):1837-8.

79. Dantuma NP, Bott LC. The ubiquitin-proteasome system in neurodegenerative diseases: precipitating factor, yet part of the solution. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2014;7:70.
80. Gandhi S, Wood-Kaczmar A, Yao Z, Plun-Favreau H, Deas E, Klupsch K, et al. PINK1-associated Parkinson's disease is caused by neuronal vulnerability to calcium-induced cell death. *Molecular cell*. 2009;33(5):627-38.
81. Goldberg MS, Fleming SM, Palacino JJ, Cepeda C, Lam HA, Bhatnagar A, et al. Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(44):43628-35.
82. Andres-Mateos E, Mejias R, Sasaki M, Li X, Lin BM, Biskup S, et al. Unexpected lack of hypersensitivity in LRRK2 knock-out mice to MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine). *Journal of Neuroscience*. 2009;29(50):15846-50.
83. Yoon SY, Heo S-J, Lee HJ, Shin J, Kim YW, Yang SN, et al. Initial BMI and Weight Loss over Time Predict Mortality in Parkinson Disease. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2022;23(10):1719. e1-. e7.
84. Park JH, Choi Y, Kim H, Nam MJ, Lee Cw, Yoo JW, et al. Association between body weight variability and incidence of Parkinson disease: A nationwide, population-based cohort study. *European Journal of Neurology*. 2021;28(11):3626-33.
85. Ceschia A, Giacomini S, Santarossa S, Rugo M, Salvadego D, Da Ponte A, et al. Deleterious effects of obesity on physical fitness in pre-pubertal children. *European journal of sport science*. 2016;16(2):271-8.
86. Aiello M, Eleopra R, Rumiati RI. Body weight and food intake in Parkinson's disease. A review of the association to non-motor symptoms. *Appetite*. 2015;84:204-11.
87. Wang C, Chan JS, Ren L, Yan JH. Obesity reduces cognitive and motor functions across the lifespan. *Neural plasticity*. 2016;2016.
88. Logroscino G, Sesso HD, Paffenbarger Jr RS, Lee I-M. Body mass index and risk of Parkinson's disease: a prospective cohort study. *American journal of epidemiology*. 2007;166(10):1186-90.
89. Paul KC, Chuang YH, Shih IF, Keener A, Bordelon Y, Bronstein JM, et al. The association between lifestyle factors and Parkinson's disease progression and mortality. *Movement Disorders*. 2019;34(1):58-66.
90. Martin-Jiménez CA, Gaitán-Vaca DM, Echeverría V, González J, Barreto GE. Relationship between obesity, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease: an astrocentric view. *Molecular neurobiology*. 2017;54(9):7096-115.
91. Mazon JN, de Mello AH, Ferreira GK, Rezin GT. The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life sciences*. 2017;182:22-8.
92. D O'Brien P, Hinder LM, Callaghan BC, Feldman EL. Neurological consequences of obesity. *The Lancet Neurology*. 2017;16(6):465-77.
93. Stoeckel LE, Arvanitakis Z, Gandy S, Small D, Kahn CR, Pascual-Leone A, et al. Complex mechanisms linking neurocognitive dysfunction to insulin resistance and other metabolic dysfunction. *F1000Research*. 2016;5.
94. Pugazhenth S, Qin L, Reddy PH. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-molecular basis of disease*. 2017;1863(5):1037-45.
95. Treviño S, Aguilar-Alonso P, Flores Hernandez JA, Brambila E, Guevara J, Flores G, et al. A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse*. 2015;69(9):421-33.
96. Arnoldussen IA, Kiliaan AJ, Gustafson DR. Obesity and dementia: adipokines interact with the brain. *European Neuropsychopharmacology*. 2014;24(12):1982-99.

97. Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, et al. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *Journal of neuroimmunology*. 2010;219(1-2):25-32.
98. Morrison CD, Pistell PJ, Ingram DK, Johnson WD, Liu Y, Fernandez-Kim SO, et al. High fat diet increases hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in aged mice: implications for decreased Nrf2 signaling. *Journal of neurochemistry*. 2010;114(6):1581-9.
99. Rahmani J, Roudsari AH, Bawadi H, Clark C, Ryan PM, Salehisahlabadi A, et al. Body mass index and risk of Parkinson, Alzheimer, Dementia, and Dementia mortality: a systematic review and dose–response meta-analysis of cohort studies among 5 million participants. *Nutritional neuroscience*. 2022;25(3):423-31.
100. Qiu C, Kivipelto M, Von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2022.
101. Whitmer R, Gustafson D, Barrett-Connor E, Haan M, Gunderson E, Yaffe K. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*. 2008;71(14):1057-64.
102. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of neurology*. 2005;62(10):1556-60.
103. Whittin P. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *British journal of pharmacology*. 2007;150(8):963-76.
104. Marinova-Mutafchieva L, Sadeghian M, Broom L, Davis JB, Medhurst AD, Dexter DT. Relationship between microglial activation and dopaminergic neuronal loss in the substantia nigra: a time course study in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*. 2009;110(3):966-75.
105. Bolner A, Micciolo R, Bosello O, Nordera G. A Panel of Oxidative Stress Markers in Parkinson's Disease. *Clinical laboratory*. 2016;62(1-2):105-12.
106. Health Nlo. Guide for the care and use of laboratory animals: National Academies; 1985.
107. Dowd E, Dunnett SB. Comparison of 6-hydroxydopamine-induced medial forebrain bundle and nigrostriatal terminal lesions in a lateralised nose-poking task in rats. *Behavioural brain research*. 2005;159(1):153-61.
108. Yuan H, Sarre S, Ebinger G, Michotte Y. Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *Journal of neuroscience methods*. 2005;144(1):35-45.
109. Thiele SL, Warre R, Nash JE. Development of a unilaterally-lesioned 6-OHDA mouse model of Parkinson's disease. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2012(60):e3234.
110. Eşlik PML-dD, Presinaptik ES, ile ilişkili Proteinler NS. Striatal Neurotransmitter Release-related Presynaptic Proteins in L-dopa Induced Dyskinesia in a Model of Parkinsonism. 2017.
111. Pellegrino LJ, Cushman AJ. Stereotaxic atlas of the rat brain. 1967.
112. Kelly PH, Seviour PW, Iversen SD. Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain research*. 1975;94(3):507-22.
113. Schwarting R, Huston J. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Progress in neurobiology*. 1996;50(2-3):275-331.
114. Carter RJ, Morton J, Dunnett SB. Motor coordination and balance in rodents. *Current protocols in neuroscience*. 2001;15(1):8.12. 1-8.. 4.


115. Monville C, Torres EM, Dunnett SB. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. *Journal of neuroscience methods*. 2006;158(2):219-23.
116. Cinar E, Yalcin-Cakmakli G, Saka E, Ulusoy A, Yuruker S, Elibol B, et al. Modelling cognitive deficits in Parkinson's disease: Is CA2 a gateway for hippocampal synucleinopathy? *Experimental Neurology*. 2020;330:113357.
117. Allbutt HN, Henderson JM. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Journal of neuroscience methods*. 2007;159(2):195-202.
118. Michel C, Dunn-Meynell A, Levin BE. Reduced brain CRH and GR mRNA expression precedes obesity in juvenile rats bred for diet-induced obesity. *Behavioural brain research*. 2004;154(2):511-7.
119. Patterson CM, Bouret SG, Park S, Irani BG, Dunn-Meynell AA, Levin BE. Large litter rearing enhances leptin sensitivity and protects selectively bred diet-induced obese rats from becoming obese. *Endocrinology*. 2010;151(9):4270-9.
120. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders*. 2015;30(12):1591-601.
121. Schapira AH, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nature reviews neuroscience*. 2017;18(7):435-50.
122. Mercuri NB, Bernardi G. The 'magic' of L-dopa: why is it the gold standard Parkinson's disease therapy? *Trends in pharmacological sciences*. 2005;26(7):341-4.
123. McDowell K, Chesselet M-F. Animal models of the non-motor features of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*. 2012;46(3):597-606.
124. Breese G, Traylor T. Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. *British journal of pharmacology*. 1971;42(1):88.
125. Reader T, Gauthier P. Catecholamines and serotonin in the rat central nervous system after 6-OHDA, 5-7-DHT and p-CPA. *Journal of neural transmission*. 1984;59(3):207-27.
126. Santiago RM, Barbieiro J, Lima MM, Dombrowski PA, Andreatini R, Vital MA. Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2010;34(6):1104-14.
127. Bracha H, Shults C, Glick SD, Kleinman JE. Spontaneous asymmetric circling behavior in hemi-parkinsonism; a human equivalent of the lesioned-circling rodent behavior. *Life sciences*. 1987;40(11):1127-30.
128. Fernandez-Espejo E, Caraballo I, de Fonseca FR, El Banoua F, Ferrer B, Flores JA, et al. Cannabinoid CB1 antagonists possess antiparkinsonian efficacy only in rats with very severe nigral lesion in experimental parkinsonism. *Neurobiology of disease*. 2005;18(3):591-601.
129. Sakai K, Gash DM. Effect of bilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra on locomotor activity in the rat. *Brain research*. 1994;633(1-2):144-50.
130. Heffner TG, Zigmond MJ, Stricker EM. Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1977;201(2):386-99.
131. Salamone J, Zigmond M, Stricker E. Characterization of the impaired feeding behavior in rats given haloperidol or dopamine-depleting brain lesions. *Neuroscience*. 1990;39(1):17-24.

132. Ungerstedt U. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1971;82(S367):95-122.
133. Zhou Q-Y, Palmiter RD. Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell*. 1995;83(7):1197-209.
134. Hong S, Nagayach A, Lu Y, Peng H, Duong QVA, Pham NB, et al. A high fat, sugar, and salt Western diet induces motor-muscular and sensory dysfunctions and neurodegeneration in mice during aging: Ameliorative action of metformin. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2021;27(12):1458-71.
135. Veniaminova E, Oplatchikova M, Bettendorff L, Kotenkova E, Lysko A, Vasilevskaya E, et al. Prefrontal cortex inflammation and liver pathologies accompany cognitive and motor deficits following Western diet consumption in non-obese female mice. *Life sciences*. 2020;241:117163.
136. Elabi OF, Cunha JPM, Gaceb A, Fex M, Paul G. High-fat diet-induced diabetes leads to vascular alterations, pericyte reduction, and perivascular depletion of microglia in a 6-OHDA toxin model of Parkinson disease. *Journal of Neuroinflammation*. 2021;18(1):1-16.
137. Sharma S, Taliyan R. High fat diet feeding induced insulin resistance exacerbates 6-OHDA mediated neurotoxicity and behavioral abnormalities in rats. *Behavioural Brain Research*. 2018;351:17-23.
138. Reyes T. High-fat diet alters the dopamine and opioid systems: effects across development. *International journal of obesity supplements*. 2012;2(2):S25-S8.
139. Weiner DM, Levey AI, Sunahara RK, Niznik HB, O'Dowd BF, Seeman P, et al. D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proceedings of the national academy of sciences*. 1991;88(5):1859-63.
140. Mansour A. Dopamine receptor expression in the central nervous system. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. 1995:207-19.
141. Teegarden SL, Scott AN, Bale TL. Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling. *Neuroscience*. 2009;162(4):924-32.
142. Naef L, Srivastava L, Gratton A, Hendrickson H, Owens SM, Walker C-D. Maternal high fat diet during the perinatal period alters mesocorticolimbic dopamine in the adult rat offspring: reduction in the behavioral responses to repeated amphetamine administration. *Psychopharmacology*. 2008;197(1):83-94.
143. Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology*. 2010;151(10):4756-64.
144. Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, Tschöp MH, Lipton JW, Clegg DJ, et al. Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral neuroscience*. 2008;122(6):1257.
145. Vucetic Z, Carlin JL, Totoki K, Reyes TM. Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity. *Journal of neurochemistry*. 2012;120(6):891-8.
146. Speed N, Saunders C, Davis AR, Owens WA, Matthies HJ, Saadat S, et al. Impaired striatal Akt signaling disrupts dopamine homeostasis and increases feeding. *PloS one*. 2011;6(9):e25169.
147. Han J, Nepal P, Odelade A, Freely FD, Belton DM, Graves Jr JL, et al. High-fat diet-induced weight gain, behavioral deficits, and dopamine changes in young C57BL/6J mice. *Frontiers in Nutrition*. 2021:353.
148. Kozuka C, Kaname T, Shimizu-Okabe C, Takayama C, Tsutsui M, Matsushita M, et al. Impact of brown rice-specific γ -oryzanol on epigenetic modulation of dopamine D2

- receptors in brain striatum in high-fat-diet-induced obesity in mice. *Diabetologia*. 2017;60(8):1502-11.
149. Fritz BM, Muñoz B, Yin F, Bauchle C, Atwood BK. A high-fat, high-sugar 'Western' diet alters dorsal striatal glutamate, opioid, and dopamine transmission in mice. *Neuroscience*. 2018;372:1-15.
150. Narang N, Wamsley JK. Time dependent changes in DA uptake sites, D1 and D2 receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *Journal of chemical neuroanatomy*. 1995;9(1):41-53.
151. Pimoule C, Schoemaker H, Reynolds G, Langer S. [3H] SCH 23390 labeled D1 dopamine receptors are unchanged in schizophrenia and Parkinson's disease. *European journal of pharmacology*. 1985;114(2):235-7.
152. Rinne JO, Laihinen A, Lönnberg P, Marjamäki P, Rinne UK. A post-mortem study on striatal dopamine receptors in Parkinson's disease. *Brain research*. 1991;556(1):117-22.
153. Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma Jr FJ, et al. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*. 1990;250(4986):1429-32.
154. Perry ML, Leininger GM, Chen R, Luderman KD, Yang H, Gnegy ME, et al. Leptin promotes dopamine transporter and tyrosine hydroxylase activity in the nucleus accumbens of Sprague-Dawley rats. *Journal of neurochemistry*. 2010;114(3):666-74.
155. Roseberry AG, Painter T, Mark GP, Williams JT. Decreased vesicular somatodendritic dopamine stores in leptin-deficient mice. *Journal of Neuroscience*. 2007;27(26):7021-7.
156. Hommel JD, Trinko R, Sears RM, Georgescu D, Liu Z-W, Gao X-B, et al. Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *neuron*. 2006;51(6):801-10.
157. Lafrance V, Inoue W, Kan B, Luheshi GN. Leptin modulates cell morphology and cytokine release in microglia. *Brain, behavior, and immunity*. 2010;24(3):358-65.
158. Tang C-H, Lu D-Y, Yang R-S, Tsai H-Y, Kao M-C, Fu W-M, et al. Leptin-induced IL-6 production is mediated by leptin receptor, insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, NF- κ B, and p300 pathway in microglia. *The Journal of Immunology*. 2007;179(2):1292-302.
159. DiLeone RJ. The influence of leptin on the dopamine system and implications for ingestive behavior. *International journal of obesity*. 2009;33(2):S25-S9.
160. Fernandes MFA, Matthys D, Hryhorczuk C, Sharma S, Mogra S, Alquier T, et al. Leptin suppresses the rewarding effects of running via STAT3 signaling in dopamine neurons. *Cell metabolism*. 2015;22(4):741-9.
161. Li Y, South T, Han M, Chen J, Wang R, Huang X-F. High-fat diet decreases tyrosine hydroxylase mRNA expression irrespective of obesity susceptibility in mice. *Brain research*. 2009;1268:181-9.
162. Leite F, Lima M, Marino F, Cosentino M, Ribeiro L. Dopaminergic receptors and tyrosine hydroxylase expression in peripheral blood mononuclear cells: a distinct pattern in central obesity. *PLoS one*. 2016;11(1):e0147483.

8. EKLER

Ek-1: Etik Kurul İzni

	T.C. HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Sayı : 52338575 - 65	
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI	
TOPLANTI TARİHİ	: 29.05.2019 (ÇARŞAMBA)
TOPLANTI SAYISI	: 2019/05
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2019/35
KARAR NUMARASI	: 2019/05- 02
PROJE SONLANMA TARİHİ	: 29.05.2020
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU
HAYVAN DENEYLERİNDE	: Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU, Arş. Gör. Deniz
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: ÖNAL, Arş. Gör. Özbeyen ATALAY, Arş. Gör. Meriç DEMELİ
DİĞER YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 36 Adet Sprague Dawley Sıçan (6-8 Hafta)
<p>Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU'nun araştırma yürütücüsü olduğu 2019/35 kayıt numaralı "<i>Parkinson Hastalığında Vücut Ağırlığının Motor Becerilere Etkisi ve Merkezi Dopamin ve Dopamin Reseptörü Düzeyi ile İlişkinin Sıçan Modelinde İncelenmesi</i>" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.</p> <p>Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.</p>	
<p>Prof. Dr. Sema ÇALIŞ Etik Kurul Başkanı</p>	

Ek-2: Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Deniz Önal
 Ödev başlığı: DOKTORA TEZ
 Gönderi Başlığı: DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE OBEZİTENİN ...
 Dosya adı: K_RESEPT_RLER_VE_LEPT_N_RESEPT_RLER_LE_L_K_S_N_N_NCE...
 Dosya boyutu: 24.06M
 Sayfa sayısı: 74
 Kelime sayısı: 14,633
 Karakter sayısı: 102,673
 Gönderim Tarihi: 29-Mar-2023 10:15ÖÖ (UTC+0300)
 Gönderim Numarası: 2036897968

1. GİRİŞ

Teknolojik gelişmeler insanlığı yaşam süresi beklentisini geçmişi yüzyıllarda karşılamışlığında anlamlı bir biçimde arttırdı. Bu durum aynı zamanda dünya nüfusunun yaşlı popülasyonunun büyüme ile nörodejeneratif hastalıklara oranını da önemli ölçüde artırmaktadır. James Parkinson, 1817 tarihli klasik monografisi olan "Essay on Felt and Tremor"da, Albinetier hastalığından (AH) sonra en sık görülen ikinci nörodejeneratif hastalık olan ve gelecekte kendi soyadı ile anılacak olan bir hastalığın temel klinik özelliklerini tanımlamıştır. Bu uzun geçişlerle eşleşen, Parkinson hastalığının (PH) temel patolojik mekanizması olarak kabul edilen substantia nigra pars compacta/daki (SNpc) nöron kaybının keşfi için bir asrın fazla süre geçmiştir. 1958'de Arvid Carlsson'un memelî beyinde dopamin (DA) keyfesininin ardından bu nörodejeneratif hastalık ile ilgili çalışmalar hızla ilerlemiştir. Bu kapsamda, ilks olarak SNpc nöronlarının nigrostriyal dopaminergic yolları oluşturduğu ve bu nöronların kaybının PH'nin temel semptomlarının ortaya çıkmasına neden olduğu keşfiyle ilgili çalışmalar hızla ilerlemiştir. Tedavi edilebilir hastalıklar arasında DA türetilmiş 3,4-Dihidroksi L-Fenilalanin (L-DOPA) oral uygulanmasıyla birlikte striatal DA eksikliğinin yerine konması ile hastalığa ait semptomların çoğunda hafifletme sağlanabilmektedir (1). L-DOPA öncelikle tedavi için başta beyin hücreleri tarafından da uzun süreli tedavinin hastalığın çoğunda eşitli motor komplikasyonlara yol açması, hastalığın gelişim sürecinde bazal gangliyonların fonksiyon ve ilaca yanıtında bazı temel değişikliklere sebep olduğunu düşündürmektedir (2, 3).

Günümüzde modernleşme ve teknolojik gelişmelerin sonucunda yaşam ve çalışma yöntemlerinin ilerlemesi ve hızlanması ile insanların besin maddelerine erişimi kolaylaşırken, enerji açısından yoğun, besin açısından fakir olan işlemleri giderek yaygınlaşması, fiziksel aktivitenin azalması, kilolu, çevresel ve epigenetik değişiklikleri kaçınılmaz hale getirmiştir (4). Bu durum mevcut besinlerin bazı yönlerden kolaylaştırılarak aynı zamanda öğünlerin herhangi olarak mideden önce ve ağır kilolu da gelişerek yaygınlaşması, insanların yaşam biçiminde daha yoğun hale gelmesine ve obeziteyi epidemik düzeyine ulaştırmasına zemin hazırlamıştır.

Dünya çapında obezite prevalansı 1980 yılından günümüze neredeyse iki katına çıkarken dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri ağır kilolu veya obez olarak sınıflandırılmaktadır (5). Yaşlılıkta obezite

Ek-3: Orijinallik Raporu

DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE OBEZİTENİN MOTOR BECERİLERE ETKİSİ VE BEYİN TİROZİN HİDROKSİLİZ DÜZEYİ, DOPAMİNERJİK RESEPTÖRLER VE LEPTİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Gönderim Tarihi: 29-Mar-2023 10:15AM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 2036897968

Dosya adı: K_RESEPT_RLER_VE_LEPT_N_RESEPT_RLER_LE_L_K_S_N_N_NCELENMES.docx (24.06M)

Kelime sayısı: 14633

Karakter sayısı: 102673

Yazar Deniz Önal

DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE OBEZİTENİN MOTOR BECERİLERE ETKİSİ VE BEYİN TİROZİN HİDROKSİLİZ DÜZEYİ, DOPAMİNERJİK RESEPTÖRLER VE LEPTİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%5	%4	%1	%2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%3
2	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	%1
3	F. Josef van der Staay. "Long-term effects of immunotoxic cholinergic lesions in the septum on acquisition of the cone-field task and noncognitive measures in rats", Hippocampus, 12/2006 Yayın	<%1
4	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
5	bmcbgenomics.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<%1
6	Douglas B. Jacoby. "Comparison of fresh and cryopreserved porcine ventral mesencephalon cells transplanted in A rat	<%1

9. ÖZGEÇMİŞ

Deniz Önal 31.03.1988 tarihinde Malatya’da doğdu. Liseyi Malatya Fen Lisesi’nde tamamladı. 2006 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans eğitimi almaya hak kazandı. 2013-2016 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimi tamamladı. Hemen ardından aynı bölümde doktora eğitimine başladı. İyi derecede İngilizce bilmektedir.