



BALB/C, BDNF Homozigot (+/+) ve BDNF Heterozigot Transgenik (+/-) Farelerde Glukoz, Lipid ve Protein Parametrelerinin Karşılaştırılması

Seçkin ÖZKANLAR^{1✉}, İsmail ABİDİN², Mustafa Sinan AKTAŞ³, Hüseyin Serkan EROL¹,
Cihan GÜR¹, Nergis ULAŞ³, Harun POLAT⁴

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya ABD, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik ABD, Trabzon, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Erzurum, TÜRKİYE.
4. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya ABD, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.09.2015	29.10.2015	24.04.2016

Öz: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF, *Brain Derived Neurotrophic Factor*) nöronlardan salgılanarak nöronların gelişimi ve olgunlaşmasında rol oynayan bir faktördür. BDNF proteinini kodlayan iki alelden birinden yoksun olan transgenik fare modelinde pek çok beyin bölgesinde BDNF ekspresyonu %50 oranında azalmıştır (BDNF heterozigot transgenik (+/-)). BDNF proteininin nörolojik etkilerinin yanı sıra metabolizma üzerine etkilerinin de araştırılması gerekmektedir. Bu çalışmada BALB/C, BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) farelerde glukoz, lipid ve protein parametrelerinin karşılaştırılması amaçlandı. Araştırmada 10 adet BALB/C ırkı ergin fare ve vahşi tip (WT, wild type) ırktan 9 adet WT BDNF homozigot normal (+/+) ve 4 adet WT BDNF heterozigot transgenik (+/-) ergin fare kullanıldı. Farelerin BDNF heterozigot transgenik (+/-) ve homozigot normal (+/+) oldukları RT-PCR ile belirlendi. Gruplarda elde edilen bulgular karşılaştırıldığında, BALB/C grubundaki hayvanlara kıyasla WT gruplarındaki hayvanlarda glukoz ve lipid düzeylerinin önemli derecede düşük olduğu ve total protein düzeylerinin ise yüksek olduğu tespit edildi. WT gruplarındaki BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler arasında bu parametreler arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlendi. Sağlıklı normal farelerde BDNF proteininin eksikliğinin glukoz, lipid ve protein düzeylerini önemli derecede etkilemediği anlaşıldı. BDNF'nin metabolizma üzerine etkileri ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Özellikle metabolik hastalıklar sırasında BDNF'nin rolü üzerine çalışmalar metabolik etkilerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: BDNF, Glukoz, Lipid, Metabolizma, Protein.

Comparison of Glucose, Lipid and Protein Parameters in BALB/C, BDNF Homozygous (+/+) and BDNF Heterozygous Transgenic (+/-) Mice

Abstract: Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) is a factor that released by neurons and has role in the development and growth of neurons. Expression of BDNF is reduced by 50 % ratio in the most of the brain region of transgenic mouse model (BDNF heterozygous transgenic (+/-)), which is deprived of one of the two alleles coding BDNF protein. Besides, neurologic effects of BDNF protein, the effects on metabolism should also be investigated. In this study, glucose, lipid and protein parameters were aimed to compare among BALB/C, BDNF homozygous (+/+) and BDNF heterozygous transgenic (+/-) mice. Ten BALB/C mice and 9 wild type (WT) BDNF homozygous normal (+/+) mice and 4 WT BDNF heterozygous transgenic (+/-) mice were used in this experiment. BDNF heterozygous transgenic (+/-) and BDNF homozygous mice were differentiated by RT-PCR. When the data obtained in the groups were compared, it was determined that glucose and lipid levels in WT groups were significantly low and total protein level was high in comparison to BALB/C group. It was detected that no significant difference among these parameters was found between BDNF homozygous (+/+) and BDNF heterozygous transgenic (+/-) mice. It was understood that BDNF protein deficiency does not significantly affect glucose, lipid and protein levels in healthy normal mice. Further studies are needed to evaluate the effects of BDNF protein on metabolism. Investigations about the role of BDNF during metabolic diseases may provide to comprehend the metabolic effects more.

Keywords: BDNF, Glucose, Lipid, Metabolism, Protein.

✉ Seçkin ÖZKANLAR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: seckinozkanlar@yahoo.com

GİRİŞ

İnsanlarda ve hayvanlarda Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF, Brain Derived Neurotrophic Factor) korteksteki nöronlardan salgılanan ve yine nöronların gelişimi ve olgunlaşmasında önemli rol oynayan bir faktördür. BDNF etkilerinin daha ayrıntılı ve fizyolojik normlara daha yakın incelenebilmesi amacı ile bir deneysel hayvan modeli oluşturulmuştur (1). BDNF proteinini kodlayan iki alelden birinden yoksun olan bu fare modelinde pek çok beyin bölgesinde BDNF ekspresyonu %50 oranında azalmıştır (BDNF heterozigot transgenik (+/-)). Söz konusu bu model kullanılarak BDNF'nin sinir sistemi gelişimindeki rolü ve metabolizma üzerine olan diğer etkileri daha ayrıntılı olarak incelenmektedir.

BDNF eksikliğinin eksitatör ve inhibitör sistemde presinaptik, sinaptik ve postsinaptik etkinlikleri üzerine çalışmalar bulunmaktadır (2,3). BDNF proteinin oksidatif stres ile ilişkili bir rolünün olduğu gösterilmiştir (4). Özellikle nörodejeneratif hastalıklarda BDNF proteini kritik öneme sahiptir (5). Astım ve alerji gibi hastalıklarda seviyelerinin değiştiği anlaşılmıştır (6). Ayrıca, BDNF'nin deneysel olarak obesite oluşturulan hayvanlarda kolesterol (CHOL), trigliserid (TG), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve kan glukoz (GLU) düzeyleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (7).

Diyabetli obez rodentler üzerinde yapılan bir çalışmada BDNF'nin endokrin fonksiyonları olduğu, gıda alımı ve kan glukoz konsantrasyonunu azalttığı bulunmuştur (8). Hiperinsulinemili genç farelerde BDNF'nin hipoglisemik etkisinin daha güçlü olabileceği ifade edilmiştir. Nakagawa ve ark. (8) normal farelerde BDNF'nin kan glukoz düzeyini değiştirmede sonucuna ulaşılmışlardır.

Sinir sisteminin gelişmesi ve normal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi nörotrofik

faktörler sayesinde sağlanmaktadır (9). Bu faktörlerin fizyolojik, biyokimyasal ve patolojik olaylarla ilişkili olarak metabolizma üzerinde de etkili oldukları anlaşılmıştır. Salınımının ve fonksiyonunun gelişim sürecinde zamanla kısıtlı olmaması, sentezinin de aktivite ile bağımlı olması BDNF'yi diğer nörotropik faktörlerden farklı ve ilginç kılmaktadır (10). BDNF knockout hayvanlarda yapılan çalışmalar sayesinde biyokimyasal ve metabolik olayların daha iyi anlaşılması sağlanacaktır. Bu çalışmada BALB/C, BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) farelerde glukoz, lipid ve protein düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Araştırmada ortalama 4 aylık 10 adet BALB/C fare kullanıldı (Grup I). Ayrıca ortalama 4 aylık 9 adet BDNF homozigot normal (+/+) (Grup II) ve 4 adet BDNF heterozigot transgenik (+/-) vahşi tip (WT, wild type) (Grup III) fare kullanıldı (Etik Kurul Karar No: 2013/60).

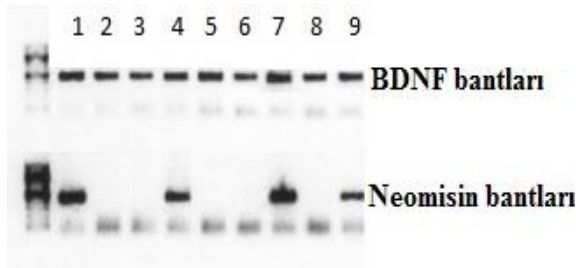
WT transgenik hayvanların ayırımı için kuyruk ucundan alınan doku örneklerinde BDNF heterozigot transgenik (+/-) ve homozigot normal (+/+) oldukları PCR analizi ile belirlendikten sonra fareler BDNF (+/-) ve BDNF (+/+) olmak üzere 2 alt gruba ayrıldı.

Kuyruk örneklerinin Polimeraz zincir reaksiyonu (Polimerase chain reaction, PCR) yöntemi BDNF heterozigot (+/-) ve BDNF homozigot (+/+) ayırımının yapılabilmesi için BDNF ve neomisin bantları belirlendi. Şekil 1'de örnek bir genotipleme sonucunun jel görüntüsü gösterilmiştir. PCR yönteminde BDNF genini tanımak için 5_-ACC ATA AGG ACG CGG ACT TGT AC-3_ ve neomisin genini tanımak için 5_GAT TCG CAG CGCATCGCCTT-3_

primerleri kullanıldı. Reverse primer olarak ise 5_-GAAGTGCTATCCTT ATG AAT CGC-3_ kullanıldı.

Şekil 1. BDNF ve neomisin bantlarının gösterildiği örnek bir agaroz jel görüntüsü. Örneklerin tamamında BDNF geni olmasına karşın, 1, 4, 7 ve 9 nolu örneklerde neomisin geninin varlığı bu örneklerin heterozigot olduğunu diğer örneklerin ise normal WT homozigot olduğunu göstermektedir.

Figure 1. A sample agarose gel appearance showing specific BDNF and neomycin bands. BDNF gene is present in all samples while neomycin gene is only present in the heterozygous samples of 1, 4, 7 and 9 and the rest of them are normal WT homozygous samples.



Örneklerin Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılan bütün farelerden 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Almanya) ve 80 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer, USA) anestezisi altında intrakardiyak olarak kan örnekleri alındı ve hayvanlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri jelli serum tüplerine koyuldu. Bu kan tüpleri +4°C' de 4000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Serum örnekleri gruplara göre eppendorf tüplere alınarak çalışma yapılıncaya kadar -80°C'de bekletildi.

Biyokimyasal Analizler

Kan serumu örneklerinde kolorimetrik yöntem ile tam otomatik otoanalizörde (Beckman Coulter, AU5800 model, USA) cihaza özgü (Beckman Coulter, USA) glukoz (OSR6121), total kolesterol (OSR6116), LDL kolesterol (OSR6183), HDL kolesterol (OSR6587), trigliserid (OSR61118), total protein

(OSR6132), albümin (OSR6102) test kitleri kullanılarak çalışıldı. Globulin düzeyi total proteinden albüminin çıkarılmasıyla hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılıklar tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan post-hoc testi ile karşılaştırıldı. P<0.05 değeri önemli bir farklılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

BALB/C, WT BDNF homozigot (+/+) ve WT BDNF heterozigot transgenik (+/-) gruplardaki ortalama serum glukoz, lipid ve protein parametreleri Tablo 1'de gösterildi.

BDNF heterozigot (+/-) ve BDNF homozigot (+/+) WT fareler arasında serum glukoz düzeylerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı tespit edilmesine karşılık, bu iki gruptaki hayvanların serum glukoz düzeylerinin normal BALB/C farelerden daha düşük seviyede olduğu tespit edildi (P<0.05). WT grubundaki hem BDNF (+/+) hem de BDNF (+/-) farelerdeki serum total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid değerlerinin istatistiksel olarak farklı olmamasına (P>0.05) rağmen BALB/C farelere kıyasla düşük düzeyde olduğu belirlendi (P<0.001). BDNF (+/+) ve BDNF (+/-) grupları arasında serum glukoz, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmedi. BDNF (+/-) grubundaki değerlerin BDNF (+/+) grubundakilere kıyasla hafif düzeyde yüksek olduğu dikkati çekti. BALB/C grubundaki farelerde serum total protein ve albümin değerlerinin WT grubundaki hem BDNF (+/+) hem de BDNF (+/-) farelerin değerlerine kıyasla daha düşük seviyede tespit edildi (P<0.05).

Tablo 1. BALB/C, WT transgenik homozigot BDNF (+/+) ve WT transgenik heterozigot BDNF (+/-) gruplarındaki ortalama serum glukoz, lipid ve protein parametreleri.

Table 1. Mean serum glucose, lipid and protein parameters in the groups of BALB/C, WT transgenic homozygous BDNF (+/+) and WT transgenic heterozygous BDNF (+/-).

Parametreler	Gruplar			P değeri*
	BALB/C	WT		
		BDNF (+/+)	BDNF (+/-)	
Glukoz (mg/dL)	173.2±11.3 ^b	145.9±7.2 ^a	146.5±12.9 ^a	<0.05
Total Kolesterol (mg/dL)	97.2±3 ^b	53.3±2.8 ^a	58.5±4.1 ^a	<0.001
HDL-Kolesterol (mg/dL)	63.2±2.6 ^b	33±2.5 ^a	37.5±4.1 ^a	<0.001
LDL-Kolesterol (mg/dL)	25.3±1.3 ^b	14.9±0.7 ^a	15.8±1 ^a	<0.001
Trigliserid (mg/dL)	235.5±32.8 ^b	66±7.6 ^a	62.8±3.1 ^a	<0.001
Total Protein (g/dL)	5±0.1 ^a	6±0.2 ^b	5.9±0.2 ^b	<0.05
Albumin (g/dL)	2.3±0.1 ^a	2.2±0.1 ^a	2.3±0.1 ^a	>0.05
Globulin (g/dL)	2.7±0.1 ^a	3.8±0.3 ^b	3.6±0.3 ^b	<0.01

±: Standart Hata, *: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

BDNF, nöronların gelişimi ve olgunlaşmasında önemli rol oynayan, sinir sisteminin gelişmesi ve normal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için gerekli olan bir faktördür (9). BDNF'nin salınımı hayat boyu devam etmektedir (10). BDNF proteini sinir sistemi ile ilişkili olmasına rağmen metabolik etkileri de araştırılmaktadır. BDNF heterozigot transgenik (+/-) farelerde BDNF proteinini kodlayan iki alelden biri bulunmadığından dolayı bu farelerde BDNF ekspresyonu %50 oranında azalmıştır. Bu çalışmada herhangi bir metabolik anormalliği bulunmayan BALB/C ve WT olmak üzere farklı iki ırktan fareler kullanıldı. WT gruplarındaki hayvanlar BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler olmak üzere iki alt grup olarak oluşturuldu. Bu çalışmada BALB/C grubundaki hayvanlara kıyasla WT gruplarındaki hayvanlarda glukoz ve lipid düzeylerinin önemli derecede düşük olduğu ve total protein düzeylerinin ise önemli derecede yüksek olduğu tespit edildi. WT gruplarındaki BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler arasında bu parametreler arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlendi. BDNF heterozigot transgenik (+/-) farelerdeki glukoz ve lipid değerlerinin homozigot (+/+) farelere kıyasla hafif düzeyde yüksek olduğu görüldü.

Bu çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde WT gruplarındaki hem heterozigot (+/-) hem de homozigot (+/+) farelerdeki serum glukoz, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerlerinin BALB/C grubundaki farelerden istatistiksel olarak düşük düzeyde olduğu gözükmektedir. BALB/C farelerin ortalama ağırlığının WT farelerden daha yüksek olması enerji metabolizmalarının da farklı olmasını gerektirmektedir. Ayrıca ırk farklılığı nedeniyle gıda alımında da farklılıklar olması muhtemeldir. BDNF'nin tropomiyozin-ilişkili kinaz tip B (TrkB) reseptörlerine yüksek affinitesinin olmasından dolayı gıda alımına ve vücut ağırlığının kontrolüne etkisi olabileceği düşünülmektedir (11). İnsanlarda BDNF ve TrkB geninin mutasyonunun (eksikliğinin) obezite ve gıda alımı ile ilgili hastalıklarla ilişkili olabilir. Obez diyabetik rodentlerde BDNF hiperfajiyi ve hiperglisemiyi azaltıcı etki gösterebilir. Bu nedenle BDNF'nin merkezi anorektik (iştah azaltıcı) bir etkisi olabilir. Bu çalışmadaki BDNF heterozigot transgenik (+/-) farelerde BDNF ekspresyonu düşük olduğundan dolayı bu hayvanlarda BDNF düzeyleri de düşüktür. Herhangi metabolik bir hastalığı olmayan bir canlıda BDNF düzeyinin azalmasının metabolizmayı ne kadar ve nasıl etkileyeceği tam olarak bilinmemektedir. BDNF'nin serum protein düzeylerini nasıl etkilediği ile ilgili herhangi bir bildirim bulunmamaktadır.

BDNF (+/+) ve BDNF (+/-) grupları arasında serum glukoz, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmedi. Ayrıca, serum total protein, albümin ve globulin değerlerinin hem BDNF (+/+) hem de BDNF (+/-) farelerde aynı seviyede olduğu belirlendi. Bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer olarak Nakagawa ve ark. (8) yaptıkları araştırmalar neticesinde normal farelerde BDNF'nin kan glukoz düzeyini değiştirmedeği sonucuna ulaşmıştır. BDNF hakkında şimdiye kadar yayınlanan literatürlerde diyabet gibi metabolik bir hastalıkta BDNF'nin rolü araştırılmış, diyabetli obez rodentler üzerinde yapılan bir çalışmada BDNF'nin endokrin fonksiyonlar üzerine etki yaparak gıda alımı ve kan glukoz konsantrasyonunu azalttığı bulunmuştur (8). Hiperinsulinemili genç farelerde BDNF'nin hipoglisemik etkisinin daha güçlü olabileceği ifade edilmiş, insulin eksikliğine bağlı deneysel diyabet modelinde ise intraserebroventriküler BDNF enjeksiyonunun diyabetik hiperglisemiyi gıda alımından bağımsız olarak düşürdüğü bildirilmiştir (12). BDNF'nin glukagon düzeyi ve glukoneogenezis ile ilişkili olarak karaciğer glukoz üretimini baskılayarak kan glukoz düzeyini düşürdüğü ileri sürülmüştür. Tsuchia ve ark., (2002) tip 2 diyabetli farelerde yürüttükleri bir çalışmada obez diyabetik farelerden iki grup oluşturmuş ve bu gruplardan birine BDNF enjeksiyonu yapmışlardır. Obez diyabetik farelere 3 hafta süresince BDNF enjeksiyonu yapılmasının kan glukoz düzeyini BDNF enjeksiyonu yapılmayan obez diyabetik farelere kıyasla önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiştir (13). Aynı çalışmada diyabetik farelerde serum esterleşmemiş serbest yağ asitlerinin, total kolesterolün ve fosfolipid düzeyinin de düşük olduğu görülmüştür. Obez diyabetik farelere özgü olarak BDNF proteininin enerji metabolizmasını hızlandırdığı söylenebilir. Nakagawa ve ark. (8) BDNF'nin hipoglisemik etkisini gösterebilmesi için endojen ya da ekzojen insüline ihtiyaç duyabileceğini ifade etmişlerdir. Daha önce

yayınlanan literatürlerdeki bildirimler ve bu çalışmada elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde BDNF'nin metabolizmayı etkileyebilmesi için tam bir BDNF eksikliğinin oluşması gerektiği anlaşılmaktadır. Ayrıca diyabet gibi metabolik bir hastalık sırasında BDNF'nin ilave metabolik etkilere neden olabileceği anlaşılmaktadır.

Tip 2 diyabetli insanlarda yapılan bir araştırmada, diyabetli hastalarda BDNF düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (14). BDNF düzeyi ile açlık kan glukozu ve trigliserid düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilirken yaş ile negatif bir korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir. BDNF düzeyinin artışı ile tip 2 diyabet arasında bir ilişkinin olabileceği düşünülmektedir. BDNF'nin gıda alımını düzenleyen önemli etkenlerden biri olduğu kabul edilmektedir (15). Bu etki leptin, insülin ve pankreatik polipeptid'ler ile düzenlenmektedir. BDNF potansiyel olarak anorektik bir etki gösterebilir. BDNF düzeyindeki değişiklikler de anoreksiya nervoza ve bulimiya nervoza gibi gıda alımı ile ilgili hastalık risklerini arttırabilir. Fakat bu çalışmada BDNF (+/+) gruptaki hayvanlar ile BDNF (+/-) gruptaki hayvanlar arasında glukoz ve lipid parametreleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. BDNF azlığının obezite ve diyabet ile ilişkili olabileceği ile ilgili bilgiler bulunmakla birlikte, obeziteli 80 insan üzerinde yapılan başka bir araştırmada serum BDNF düzeyinin yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite veya obezite ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (16). Bu bildirimlerden farklı olarak son yıllarda tip 2 diyabetli insanlar üzerinde yürütülen diğer bir çalışmada ise serum BDNF düzeyinin açlık kan glukozu ile ters orantılı olduğu tespit edildiği için BDNF düzeyinin tip 2 diyabetin tanısında kullanılabileceği ifade edilmiştir (17).

Sonuç olarak, bu çalışmada BALB/C grubundaki hayvanlara kıyasla WT gruplarındaki hayvanlarda glukoz ve lipid düzeylerinin önemli derecede düşük olduğu ve total protein düzeylerinin ise yüksek olduğu tespit edildi. WT gruplarındaki BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-

) fareler arasında bu parametreler arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlendi. Sağlıklı normal farelerde BDNF proteininin eksikliğinin glukoz ve lipid düzeylerini önemli derecede etkilemediği anlaşıldı. BDNF proteininin metabolizmayı nasıl veya ne kadar etkilediği ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Özellikle metabolik hastalıklar sırasında BDNF'nin rolü üzerine çalışmalar metabolik etkilerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Korte M., Carroll P., Wolf E., Brem G., Thoenen H., Bonhoeffer T., 1995. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America*, 92, 8856-8860.
2. Abidin I., Köhler T., Weiler E., Zoid G., Eysel UT., Lessmann V., Mittmann T., 2006. Reduced presynaptic efficiency of excitatory synaptic transmission impairs LTP in the visual cortex of BDNF-heterozygous mice. *European Journal of Neuroscience*, 24, 3519-3531.
3. Abidin I., Eysel UT., Lessmann V., Mittmann T., 2008. Impaired GABAergic inhibition in the visual cortex of brain-derived neurotrophic factor heterozygous knockout mice. *Journal of Physiology (London)* 586, 1885-901.
4. Jain S., Banerjee BD., Ahmed RS., Arora VK., Mediratta PK., 2013. Possible role of oxidative stress and brain derived neurotrophic factor in triazophos induced cognitive impairment in rats. *Neurochemical Research*, 38, 2136-2147.
5. Zhang XY., Chen DC., Tan YL., Tan SP., Wang ZR., Yang FD., Okusaga OO., 2015. Zunta-Soares GB and Soares JC. The interplay between BDNF and oxidative stress in chronic schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 201-208.
6. Rost B., Hanf G., Ohnemus U., Otto-Knapp R., Groneberg DA., Kunkel G., Noga O., 2005. Monocytes of allergics and non-allergics produce, store and release the neurotrophins NGF, BDNF and NT-3. *Regulatory Peptides*, 124, 19-25.
7. Jin YJ., Cao PJ., Bian WH., Li ME., Zhou R., Zhang LY., Yang MZ., 2015. BDNF levels in adipose tissue and hypothalamus were reduced in mice with MSG-induced obesity. *Nutritional Neuroscience*, 18, 376-382.
8. Nakagawa T., Ono-Kishino M., Sugaru E., Yamanaka M., Taiji M., Noguchi H., 2002. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 18, 185-91.
9. Maisonpierre PC., Belluscio L., Squinto S., Ip NY., Furth ME., Lindsay RM. Yancopoulos GD., 1990. Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*, 247, 1446-1451.
10. Poo MM., 2001. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nature Reviews Neuroscience*, 2, 24-32.
11. Lebrun B., Bariohay B., Moysse E., Jean A., 2006. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: a minireview. *Autonomic Neuroscience*, 126-127, 30-38.
12. Meek TH., Wisse BE., Thaler JP., Guyenet SJ., Matsen ME., Fischer JD., Taborsky GJ. Jr, Schwartz MW., Morton GJ., 2013. BDNF action in the brain attenuates diabetic hyperglycemia via insulin-independent inhibition of hepatic glucose production. *Diabetes*, 62, 1512-1518.
13. Tsuchida A., Nonomura T., Nakagawa T., Itakura Y., Ono-Kishino M., Yamanaka M., Sugaru E., Taiji M., Noguchi H., 2002. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates lipid metabolism in diabetic mice. *Diabetes Obesity and Metabolism*, 4, 262-269.
14. Suwa M., Kishimoto H., Nofuji Y., Nakano H., Sasaki H., Radak Z., Kumagai S., 2006. Serum brain-derived neurotrophic factor level is increased and associated with obesity in newly diagnosed female patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 55, 852-857.

15. Rosas-Vargas H., Martínez-Ezquerro JD., Bienvenu T., 2011. Brain-derived neurotrophic factor, food intake regulation, and obesity. *Archives of Medical Research*, 42, 482-494.
16. Gajewska E., Sobieska M., Łojko D., Wieczorowska-Tobis K., Suwalska A., 2014. Obesity itself does not influence BDNF serum levels in adults. *European Review for Medical and Pharmacological Science*, 18, 3246-3250.
17. Li B., Lang N., Cheng ZF., 2015. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor are associated with diabetes risk, complications, and obesity: a cohort study from Chinese patients with type 2 diabetes. *Molecular Neurobiology*, DOI 10.1007/s12035-015-9461-2