

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

DOKTORA TEZİ

**AÇ FARELERE SKOPOLAMİN UYGULANMASI VE YEM
VERİLMESİ İLE OLUŞAN KONVULSİYONLARIN
PLAZMA VE DOKU GHRELİN DÜZEYLERİ İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

ASLI ZENGİN TÜRKMEN

**DANIŞMAN
PROF. DR. ASIYE NURTEN**

**SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI
İLERİ NÖROLOJİK BİLİMLER PROGRAMI**






İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı İleri Nörolojik Bilimler Programında Aslı Zengin Türkmen tarafından hazırlanan Aç Farelere Skopolamin Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvulsiyonların Plazma ve Doku Ghrelin Düzeyleri ile İlişkisinin Araştırılması başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

26 / 06 / 2012

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Asiye Nurten, Tez Danışmanı (Yeni Yüzyıl Üniv., Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD.)	
2.Prof. Dr. Nurhan Enginar, Tez İzleme Komitesi Üyesi (İstanbul Üniv., İstanbul Tıp Fak., Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji AD.)	
3.Doç. Dr. Rezzan Gülhan (Aker), Tez İzleme Komitesi Üyesi (Marmara Üniv., Tıp Fakültesi, Farmakoloji AD.)	
4.Prof. Dr. Betül Baykan (İstanbul Üniv., Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.)	
5.Yrd. Doç Dr. A. Vehbi Alpman (Yeni Yüzyıl Üniv., Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.)	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Aslı Zengin Türkmen



TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, tez çalışmam süresince bilimsel yardımlarını ve bilgisini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Asiye Nurten'e teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yürütürken laboratuvarlarını kullanmama izin veren İ.Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ile İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İmmunoloji Anabilim Dalı ve Sinirbilim Anabilim Dalı'na,

Güler yüzlerini esirgemeyen Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı ve tüm Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü çalışanlarına,

Çalışmanın deneysel aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm Moleküler Tıp Uzmanı Emine Bilge'ye ve Yrd. Doç. Dr. Mine Ergüven'e,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri çalışanlarına,

Bu uzun süreçte desteğiyle sürekli yanımda olan sevgili eşime, aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7744

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	İX
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Epilepsi	4
2.1.1. Epileptik Nöbet Oluşum Mekanizmaları	4
2.1.2. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması	6
2.1.2.1. Refleks Epilepsiler ve Yeme Epilepsisi	7
2.1.2.2. Aç Hayvanlara Antimuskarinik Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvulsiyonlar	8
2.1.3. Epilepsi Tedavisi.....	10
2.2. Ghrelin	11
2.2.1. Ghrelin Peptidinin Dokulardaki Dağılımı.....	13
2.2.2. Ghrelin Peptidinin Dokular Üzerindeki Etkisi.....	14
2.2.3. Ghrelin Peptidinin Beslenme ile İlişkisi	16
2.3. Ghrelin ve Epilepsi İlişkisi.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Kullanılan Malzemeler ve Laboratuvarlar	20
3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması.....	20
3.3. Plazma ve Doku Ghrelin Düzeyinin Belirlenmesi.....	22
3.4. İmmunhistokimya DeneYleri	22
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR.....	26

4.1. Konvulsiyonlar.....	26
4.1.1. Ağırlık Değişimleri	26
4.1.2. Konvulsiyon Evreleri	26
4.1.3. Konvulsiyon Sıklığı ve Başlama Süreleri	27
4.2. Ghrelin Düzeyleri.....	28
4.2.1. Plazma Ghrelin Düzeyleri	28
4.2.2. Doku Ghrelin Düzeyleri.....	29
4.3. İmmunohistokimyasal Değerlendirme	31
5. TARTIŞMA	34
KAYNAKLAR	40
ETİK KURUL KARARI	49
ÖZGEÇMİŞ	51

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Farklı çalışmalarda gösterilen açlık plazma ghrelin düzeyleri (54).....	14
Tablo 4-1: Farelerin 24 saat içindeki vücut ağırlığı değişimi.....	26
Tablo 4-2: Konvulsiyon geçiren hayvan sayıları ve evreleri.....	27
Tablo 4-3: Konvulsiyon başlama süresi ve sıklığı.....	27
Tablo 4-4: Plazma ve doku ghrelin düzeyleri, konvulsiyon evreleri ve ortaya çıkma süreleri	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucu ghrelin pozitif olan hücreler.	24
Şekil 3-2: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucu ghrelin negatif olan hücreler.	25
Şekil 4-1: Plazma ghrelin düzeyleri.	29
Şekil 4-2: Beyin dokusundaki ghrelin düzeyleri.	30
Şekil 4-3: Allen Mouse Brain Atlas'tan alınan koronal fare beyin kesiti (1).	32
Şekil 4-4: İmmunohistokimyasal olarak ghrelin boyaması yapılmış koronal fare beyin kesiti.	32
Şekil 4-5: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucunda ghrelin pozitif boyanan hücre yüzdeleri	33

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

μ :	Mikro
μ l:	Mikrolitre
$^{\circ}$ C:	Santigrat derece
aa:	Aminoasit
ABD:	Anabilim Dalı
ACh:	Asetilkolin
AEİ:	Anti-epileptik ilaç
AgRP:	Agouti ilişkili peptid
ARC:	Arkuat çekirdek
BMI:	Vücut kütle endeksi
Ca^{+2} :	Kalsiyum iyonu
CART:	Kokain ve amfetamin düzenleyici transkript
Cl ⁻ :	Klor iyonu
DAB:	Diamino benzidin
dk:	Dakika
EDTA:	Etilen di-amin tetra-asetik asit
EEG:	Elektroensefalografi
ELISA:	Enzim Bağlı İmmun-Analiz
EPSP:	Eksitator post-sinaptik potansiyel
GABA:	Gama amino bütirik asit
GHS-R:	Büyüme hormonu salgılatıcıları reseptörü
GİS:	Mide barsak sistemi
GOAT:	Ghrelin o-açıl transferaz
H_2O_2 :	Hidrojen peroksit

HRP:	Horseradish peroksidaz
ILAE:	Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
IPSP:	İnhibitör post-sinaptik potansiyel
i.c.v.:	İntra-serebro ventriküler
i.p.:	Periton içi
i.v.:	Ven içi
K ⁺ :	Potasyum iyonu
kg:	Kilogram
LHN:	Lateral hipotalamik çekirdek
mg:	Miligram
MK-801:	(+)-5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzosiklohepten-5,10-imin maleat
ml:	Mililitre
MR:	Manyetik rezonans
mRNA:	Taşıyıcı ribo nükleik asit
MSH:	Melanosit uyarıcı hormon
Na ⁺ :	Sodyum iyonu
NMDA:	N-Metil-D-Aspartat
nmol:	Nanomol
NPY:	Nöropeptid Y
ort:	Ortalama
PBS:	Fosfat tampon solüsyonu
PDS:	Paroksizmal depolarizasyon şifti
PET:	Pozitron emisyon tomografisi
pg:	Pikogram
POMC:	Proopiomelanokortin
PRL:	Prolaktin

PVN:	Paraventriküler çekirdek
SE:	Standart hata
SF:	Serum fizyolojik
Skop:	Skopolamin
VMN:	Ventromedial çekirdek
VSS:	Vagal sinir stimülasyonu

ÖZET

Zengin Türkmen A. Aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların plazma ve doku ghrelin düzeyleri ile ilişkisinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2012

Antimuskarinik ilaç uygulanan aç hayvanlarda yem yedikten sonra klonik konvulsiyonlar olduğu gösterilmiştir. Açlık düzeyi ile yakından ilişkili bir peptid olan ghrelin uygulanması ile epileptik nöbetlerin baskılandığı gösterilmiştir. Antimuskarinik bir ilaç olan atropin ise ghrelin salınımı azaltır. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda ghrelinin aç hayvanlara antimuskarinik uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonlardaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, aç ve tok olarak iki gruba ayrılan Balb/C farelere 24 saat sonra serum fizyolojik (SF) veya skopolamin (3 mg/kg, i.p.) uygulandı. Aç hayvanların bir grubuna enjeksiyonlardan 20 dk. sonra yem verildi. Tüm hayvanlar 30 dk. boyunca konvulsiyon açısından izlendi. Bu süre sonunda farelerden alınan kan ve beyin dokularında ELISA yöntemi ile ghrelin derişimleri ölçüldü ve immunohistokimyasal boyama ile hipotalamusun arkuat çekirdeğinde ghrelin pozitif hücrelerin varlığı incelendi.

Açlık sonrasında skopolamin uygulanan hayvanlarda yem yedikten sonra konvulsiyon (% 83,3) olduğu gözlemlendi. Plazma ghrelin düzeyi ($p<0,05$) SF uygulanan aç grupta, tok gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Konvulsiyon geçiren gruptaki plazma ($p<0,05$) ve doku ($p<0,01$) ghrelin düzeyleri açlık sonrasında SF uygulanan ve yem verilen gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu. Buna karşın arkuat çekirdekdeki ghrelin pozitif hücre oranı konvulsiyon geçiren grupta, açlık sonrasında SF uygulanan ve yem verilen gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Çalışmamızda plazma ghrelin düzeyinin açlık durumunda arttığı görülmüştür. Konvulsiyon geçiren grupta ise antimuskarinik uygulanması ve hayvanların yem yemesi nedeniyle ghrelin düzeyinin düştüğü gösterilmiştir. Bu çalışma ile elde ettiğimiz sonuçlar ghrelinin konvulsiyonlarda rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ghrelin ile bu konvulsiyonların ilişkisinin ayrıntılı olarak açıklanabilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, Skopolamin, Konvulsiyon, Fare, Hipotalamus

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7744

ABSTRACT

Zengin Turkmen A. Investigation the relationship between plasma and tissue ghrelin levels and the scopolamine induced convulsions in fasted mice after food intake. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Neuroscience. Doctorate Thesis. Istanbul. 2012.

It has been shown that fasted animals, treated with antimuscarinic drugs, develop clonic convulsions soon after feeding. Administration of ghrelin, which is a peptide associated with hunger levels, inhibits epileptic seizures. Atropine, an antimuscarinic drug, reduces ghrelin secretion. In the light of these evidences, we aimed to investigate ghrelin effect on antimuscarinic induced convulsions in fasted animals after food intake.

For this purpose, after Balb/C mice were divided into two groups as fed and fasted for 24 h, treated with saline or scopolamine (3 mg/kg, i.p.). Twenty minutes after injection, animals were given food pellets. All animals were observed for 30 min for development of convulsions. After this period, blood and brain tissues were collected from animals, and ghrelin levels were measured by ELISA and ghrelin positive cells were investigated in hypothalamic arcuate nucleus by immunohistochemistry.

It has been observed that scopolamine treated fasted animals have convulsions (%83.3) after food intake. Plasma ghrelin concentration ($p<0.05$) in saline treated fasted animals was found significantly higher when compared to saline treated fed animals. In animals with convulsion, plasma ($p<0.05$) and tissue ($p<0.01$) ghrelin concentrations were found significantly lower when compared to fasted animals which were given food after saline injection. Conversely ghrelin positive cell ratio in arcuate nucleus was found significantly higher in animals with convulsion when compared to animals which were given food after saline injection ($p<0.05$).

In present study, we observed increased ghrelin plasma concentration in fasting period. It has been shown that, ghrelin levels were reduced in group with convulsions due to scopolamine administration and food intake. Our results suggested that ghrelin could has possible role on these convulsions. Further studies are required to explain the detailed relation between ghrelin and these convulsions.

Key Words: Ghrelin, Scopolamine, Convulsion, Mouse, Hypothalamus.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 7744

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yakın zamanda yapılan bir dizi çalışma ile 48 saat aç bırakılan farelere skopolamin uygulandıktan sonra yem yemelerine izin verildiğinde hayvanların yaklaşık % 75'inde jeneralize olabilen klonik konvulsiyonlar olduğu gösterilmiştir (33, 34, 35, 36). Nöbetlerin oluşmasında açlık sonrası yeniden yemenin ve skopolamin uygulamasının önemli rol oynadığı saptanmıştır. Antikolinerjik bir ilaç olan skopolamin uygulamasının kolinerjik konvulsiyonları önlediği bilindiğinden bu bulgular oldukça ilginçtir. Konvulsiyon oluşmasının skopolamine özgü olmadığı, diğer antikolinerjik ilaçlardan olan atropin ve biperiden uygulamalarının da nöbetlere neden olduğu gösterilmiştir (34). Gabapentin, valproat ve diazepam dışındaki klasik antikonvulsif ilaçların uygulanması ile nöbetlerin oluşumunun baskılanmadığı bildirilmiştir (34). Skopolamin uygulaması öncesinde N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan MK-801, alfa-2 reseptör agonisti olan klonidin ve tizanidin, dopamin reseptör antagonisti olan klorpromazin ve haloperidol uygulanması ile bu konvulsiyonların ortaya çıkmasının baskılandığı bildirilmiştir (33, 35, 36). Konvulsiyonların oluşumuna yeme davranışının etkisi incelendiğinde katı yem yemenin ana etken olduğu ortaya konmuştur (60). Açlık süresi ile konvulsiyonlar arasındaki ilişki incelendiğinde 2, 3, 12, 18 ve 24 saat süren açlık sonrasında da konvulsiyonların ortaya çıktığı bildirilmiştir (32). Açlık süresince oluşan hipoglisemi bu sürede verilen glikoz ile ortadan kaldırıldığında da konvulsiyon oluşumu önlenemediğinden, hipogliseminin değil yemden yoksun kalma stresinin konvulsiyon oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülmüştür (34). Açlık süresince morfin ve klorpromazin gibi sedatif ilaçların uygulanmasının ise konvulsiyonları baskılamadığı belirlenmiştir (31). Ayrıca, aynı koşullarda sıçanlarda da konvulsiyon olduğu gösterilmiş (59) böylece konvulsiyon oluşumunun farelere özgü olmadığı ancak farelerde konvulsiyonların ortaya çıkmasını önleyen ilaçların, sıçanlarda tamamen aynı etkiyi göstermediği bulunmuştur (59). Konvulsiyonlar esnasında elektroensefalografi (EEG) ile hayvanlarda beyin elektriksel aktivitesi incelendiğinde epileptik nöbet aktivitesi ile uyumlu epileptiform yüksek genlikli diken aktivitesinin nöbet evreleri ile uyumlu olarak olduğu gözlenmiştir (58).

Ghreltin yiyecek alımı, mide-barsak hareketlerinin düzenlenmesi ve enerji metabolizması üzerine etkili bir peptiddir. Plazma ghreltin derişiminin açlık evresinde

arttığı, yemek yedikten sonra ise azaldığı gösterilmiştir (24, 25). Ghrelin reseptörünün varlığı hipotalamusta arkuat çekirdekte (ARC), ventromedial çekirdekte (VMN), paraventriküler çekirdekte (PVN) ve hipotalamus dışında area postrema, vagusun dorsal motor çekirdeğinde ve ayrıca parasempatik postgangliyonik motor nöronlarda gösterilmiştir (53, 75). Hipotalamusta, beslenmeyi uyarıcı özelliği olan Nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilişkili peptid (AgRP) salgılayan nöronlar ile beslenmeyi baskılayıcı özelliği olan proopiomelanokortin (POMC) ve kokain ve amfetamin düzenleyici transkript (CART) salgılayan nöronların iç içe bulunmaktadır (50, 77). Ghrelin yiyecek alımı üzerine olan etkisini bu oreksijenik peptidler üzerinden gerçekleştirmektedir (53, 76). Ghrelin arkuat çekirdekte NPY ve AgRP nöronlarına etki etmekte ve mRNA'larının anlatımında artmaya neden olmaktadır (46, 53). NPY ve AgRP nöronlarında aktivasyon oluştuğunda ise yem alımı artmaktadır (76). Eksojen ghrelin uygulaması da açlık duygusu ve yemek yeme isteğini bu yolla artırmaktadır (25, 67, 76).

Ghrelin salınımının kolinerjik kontrol altında olduğu bildirilmiştir (47). Muskarinik resptör antagonisti olan atropin uygulanmasının ghrelin salınımını baskıladığı, vagotomi yapılmasının ise ghrelin salınımını hızlı şekilde azalttığı gösterilmiştir (47). Vagus siniri ile ghrelin ilişkisini inceleyen diğer bir çalışmada, ghrelinin renal iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine olan koruyucu etkisinin, vagotomi yapılan sıçanlarda ortadan kalktığı gösterilmiştir (66).

Dorsal vagal komplekse ghrelin enjeksiyonu, NPY ve AgRP mRNA anlatımında artışa neden olmaktadır (46). Pikrotoksin ile oluşturulan epileptik nöbetlerde, hipokampusa NPY uygulanması ile epileptik davranış baskılanmaktadır (21). Temporal lob epilepsili hastalardan alınan hipokampal doku örneklerinde, NPY'nin dentat girusta oluşan hipereksitabiliteyi baskıladığı gösterilmiştir (64). Sıçanlarda da hipokampal kesitlere NPY uygulanması sonucunda glutamat salınmasıyla oluşan sinaptik eksitasyonun baskılandığı bulunmuştur (21).

Epilepsili hastalarda serum ghrelin düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (14). Buna karşın, eksojen ghrelin uygulanmasının ise deneysel epilepsi modellerinde nöbetlerin ortaya çıkma süresini geciktirdiği, nöbet oluşumunu azalttığı ve hipokampusta nöron ölümünü engellediği son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (62, 65, 83). Ghrelinin, pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel epilepsi

modellerinde eksojen olarak uygulandığında antiepileptik etkisi olduğu ileri sürülmüştür (62). Sıçanlarda pentilentetrazolle oluşturulan nöbetlerden sonra ise kandaki ghrelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (8).

Açlık düzeyi ve yemek yeme ile yakından ilişkili olan plazma ghrelin düzeyinin epileptik hastalarda sağlıklı bireylere göre yüksek bulunması, ayrıca ghrelinin antiepileptik ve nöroprotektif etkilerini gösteren çalışmalar olması, 24 saat açlık sonrasında skopolamin uygulanan ve ardından yem verilen farelerde oluşan konvulsiyonlar ile ghrelin düzeyinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ghrelin salınımının kolinerjik kontrol altında olması ve açlık sonrasında skopolamin uygulanan ve ardından yem verilen farelerdeki konvulsiyonların oluşumunda skopolaminin ana etkenlerden biri olması nedeniyle bu konvulsiyonlarda ghrelinin rolünün ortaya konması önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında hayvan türü olarak fare seçilmiştir, çünkü sıçanlarda yapılan çalışmada skopolamin verilmeyen kontrol grubundaki hayvanların bazılarında evre 1 ve evre 2 düzeyinde konvulsiyonlar olduğu gözlenmiştir (59). Konvulsiyonların ortaya çıkma sıklığı ve evreleri açısından 24 saat ile 48 saat açlık arasında fark olmadığından hayvanların daha az süre ile aç kaldığı 24 saat bu çalışmada tercih edilmiştir.

Yeme epilepsisinin deneysel modeli olarak kullanılabilir olan açlık sonrasında skopolamin uygulanması ve ardından yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların ghrelin düzeyleri ile ilişkisi daha önce hiçbir çalışmada gösterilmediğinden, bu tez çalışmasında plazma ve doku ghrelin düzeyleri ile konvulsiyonların ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Açlık süresince artan ghrelin düzeylerinin epileptik nöbetlerden koruyucu etkisi olması beklenirken, antimuskarinik uygulanmasının ghrelin salınımını baskılaması bu konvulsiyonların oluşunda ghrelinin katkısı olabileceğini düşündürmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epileptik nöbet bir grup kortikal ya da subkortikal nöronun artmış uyarılabilirliğinden veya senkronize anormal aktivitesinden kaynaklanan bir klinik durumdur (12, 63, 69). Epileptik nöbet gri cevherdeki artmış hızlı ve lokal boşalımlardan köken alır. Epileptik nöbet kliniğinde motor (konvulsiyonlar, kasılmalar), duyuşsal veya otonomik belirtilerin ani başladığı ve belli bir süre ile sınırlı olduğu geçici bilinç değişikliği bulguları görülür. Epileptik nöbetler birkaç saniye veya dakika içinde inhibitör mekanizmalar ile ortadan kalkar, kişinin davranışları ve beynin elektriksel aktivitesi normale döner (12, 48, 63, 69).

Epilepsi kronik olarak tekrarlayan, konvulsif veya non-konvulsif tetiklenmemiş nöbetlerle giden tabloyu tanımlar. Ancak, tek bir nöbet epilepsi anlamına gelmez, herhangi bir uyarı olmaksızın iki ya da daha fazla nöbet geçirildiği zaman epilepsi tanısı konulur (12, 63).

Epilepsi sendromu ise belli nöbet tipleriyle birlikte ona eşlik eden klinik ve laboratuvar bulgularının tümünü tanımlar. Etiyoloji, odağın anatomik yerleşimi, nöbeti tetikleyici etmenler, nöbetlerin başlangıç yaşı, prognoz, tedaviye yanıt ve EEG bulguları sendromun belirlenmesinde önem taşır. Hastalıktan farklı olarak epileptik sendromların ortak bir etiyojisi ve prognozu yoktur (12, 63).

Ülkeler arasında bir takım farklılıklar göstermekle beraber epilepsi insidansı genellikle 20-50/100.000, epilepsi prevalansı ise 4-10/1.000 olarak görülmektedir (12, 70, 73). Ülkemizde askerlerde yapılan bir çalışmada ise epilepsi prevalansı 12,2/1.000 olarak bulunmuştur (13).

2.1.1. Epileptik Nöbet Oluşum Mekanizmaları

Presinaptik uçtan salgılanan nörotransmitterler, postsinaptik uça inhibisyon ya da eksitasyona yol açabilirler. Eksitasyona yol açtıklarında postsinaptik zarın sodyum iyonuna (Na^+) geçirgenliği artar ve bunun sonucunda hücre içi voltaj farkı oluşarak uyarının diğer nörona iletimi sağlanır. İnhibisyonda ise, nörotransmitterler klor (Cl^-)

iyonlarına geçirgenliği arttırarak hücre içindeki negatif istirahat membran potansiyelini yükseltir ve bunun sonucunda nöronun uyarılmasını engellerler. Nöronlarda eksitasyon, membranın Na^+ ve kalsiyum (Ca^{+2}) iyonlarına, inhibisyon ise Cl^- ve potasyum (K^+) iyonlarına geçirgenliğinin artmasına bağlıdır (50).

Tetik çeken nedenler farklı olsa da, epileptik nöronda oluşan fizyolojik değişiklikler şu şekildedir: Nöronlarda “Paroksizmal depolarizasyon şifti (PDS)” oluşmaktadır. İnteriktal deşarj sırasında somaya yakın olan hücre zarında yüksek voltajlı ve uzun süreli depolarizasyon olur, bu da kendini diken aktivitesi patlamaları şeklinde gösterir. Uzun süreli depolarizasyon somadan uzağa doğru nöronun aksonu boyunca iletilen bir seri aksiyon potansiyelinin oluşmasına yol açar (52, 79). PDS eksitator postsinaptik potansiyele (EPSP) benzer. Ancak EPSP’ye göre çok daha geniş genliklidir. PDS’nin bir başka özelliği ise oluşumunda çok hızlı ve pek çok sayıda aksiyon potansiyeli yaratmasıdır. Bu nöronlarda normal EPSP geliştikten sonra PDS gelişir. PDS muhtemelen odak (fokus) içindeki nöronlar arası eksitator geri besleme (feed-back) sonucu oluşmaktadır ve tüm nöronun somadendritik bölgesini kaplar. Nöbet öncesi oluşan PDS’nin yarattığı ardışık yüksek frekanslı impuls dizileri bir nörondan diğerine yayılır ve böylece epileptik nöbet veya diken (spike) aktivitesi oluşur (52).

Epileptik odakta PDS’den sonra hiperpolarizasyon giderek azalır. Nöbet sırasında epileptik nöronlarda uzun süreli depolarizasyon oluşur. PDS’den sonra oluşan hiperpolarizasyon dönemi inhibe edici postsinaptik potansiyele (IPSP) benzer. Zengin komissural bağlantılar nedeni ile deşarjlar bir hemisferde olmasına karşın, diğer hemisferin aynı alanında bir ayna odak gelişebilir. Ayna odağın bir süre sonra otonomi kazanıp, asıl odağın çıkarılmasından sonra bu ikincil odakta oluşan deşarjlar ile ortaya çıktığı deneysel olarak gösterilmiştir. Fokal başlayan nöbetler kortiko-talamik yolla yayılarak tonik klonik nöbetlere dönüşebilir. Nöbeti durdurmada yardımcı olan aktif inhibisyonun beyin inhibitör alanlarından gelen geri beslemeli devreler yoluyla olduğu düşünülmektedir.

İnteriktal dönemden iktal döneme kadar olan dönemde meydana gelen olaylar yeterince anlaşılacakla birlikte birçok olası mekanizma mevcuttur. Nöron zarında veya eksitator ya da inhibitör nörotransmitterlerde bozukluk olması olası mekanizmalardandır. Sinaptik inhibisyonda azalma, sinaptik eksitasyonda artış, K^+ veya

Ca^{+2} ya da ekstrasellüler iyon derişimindeki değişiklikler uzun süreli depolarizasyonu tetikleyerek nöbetlerin oluşmasından sorumlu olabilir (79).

2.1.2. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Epileptik nöbetlerin Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği (International League Against Epilepsy - ILAE) tarafından 1981 yılında yayınlanan ve güncel olarak kullanılan sınıflandırma şekli aşağıda listelenmiştir (78). Nöbetler esas olarak nöbet başlangıcının parsiyel ya da jeneralize olmasına göre ikiye ayrılmaktadır.

I. PARSİYEL (FOKAL) NÖBETLER

A. Basit parsiyel nöbetler (Bilinç etkilenmez)

1. Motor semptomlu (hareketlerle ilişkili bulgular söz konusudur)
2. Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu
3. Otonomik semptomlu
4. Psişik semptomlu

B. Kompleks parsiyel nöbetler (Bilinç etkilenir)

1. Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
 - Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
 - Otomatizmalarla giden
2. Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması
 - Sadece bilinç bozukluğu ile giden
 - Otomatizmalarla giden

C. Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler

1. Basit parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi
2. Kompleks parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi
3. Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete dönüşmesi ve ardından jeneralize nöbete dönüşmesi

II. JENERALİZE NÖBETLER (KONVULZİF VEYA NON-KONVULZİF)

1. Absans nöbetler (dalma nöbetleri)
 - Tipik absans nöbetler
 - Atipik absans nöbetler
2. Miyoklonik nöbetler
3. Klonik nöbetler
4. Tonik nöbetler
5. Tonik-klonik nöbetler
6. Atonik nöbetler (astatik) (ani düşme nöbetleri)

III. SINIFLANDIRILAMAYAN NÖBETLER

Yeterli bilgi olmayışı nedeni ile yukarıdaki kategorilere dahil edilemeyen nöbetler mevcuttur. Çiğneme, ritmik göz hareketleri gibi bazı yeni doğan dönemi nöbetleri bunlardandır.

2.1.2.1. Refleks Epilepsiler ve Yeme Epilepsisi

Refleks epilepsiler, içsel veya dışarıdan gelen özgün uyaranlar ile tetiklenen nöbetlerle karakterize bir epilepsi türüdür. Dış uyaranlar, görsel (parlayan ışık), işitsel (yüksek ve/veya ani ses), somatoduysal (hareket, ısı uyararı) veya kompleks (okuma ve yeme gibi) olabilmektedir (7, 16, 49). İçsel uyaranlar ise düşünme, hesap yapma ve diğer kognitif fonksiyonlar şeklindedir (16). Yeme epilepsisinde en sık gözlenen nöbet tipi sekonder jeneralize olan parsiyel özellikte nöbetlerdir (7).

Yeme epilepsisi, refleks epilepsilerin nadir formlarından biri olup, yemek yenmesiyle tetiklenir. Kesin patolojik mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Son derece nadir gözlenen bu nöbet tipinin genetik, etnik faktörler ve bazı yiyecek veya yemek alışkanlıkları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yeme epilepsisi tanımlayan hastaların büyük bir çoğunluğunda nöbetler yemek yeme işlevi sırasında (% 75), yemek yedikten sonra (% 10,7) veya yemek yeme ve sonrasında (% 14,3) gözlendiği vurgulanmıştır (7). Yeme epilepsisinde nöbeti tetikleyen olası mekanizmalar içinde stereotipik yeme hareketi, gastrik distansiyon, çiğneme ve yutma işlemleri sayılmaktadır. Nadiren yemeğin kokusu veya kimyasal içeriği nöbete neden olabilir (16).

Bu tez çalışmasındaki aç farelerde ortaya çıkan konvulsiyonları tetikleyen faktörler, yeme epilepsisi ile benzerlik göstermektedir.

2.1.2.2. Aç Hayvanlara Antimuskarinik Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvulsiyonlar

Son on beş yıldır devam etmekte olan bir seri çalışmada antimuskarinik uygulanan aç hayvanlarda, yem yedikten birkaç dakika sonra jeneralize olabilen klonik konvulsiyonlar olduğu gösterilmiştir. İlk olarak farelerde yapılan çalışmalarda 48 saat açlık sonrasında skopolamin uygulanması ve yem yenilmesinin konvulsiyon oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir (33, 34, 35, 36). Antimuskarinik etkili bir ilaç olan skopolamin yerine atropin veya biperiden uygulandığında da konvulsiyonların ortaya çıkması, konvulsiyon oluşumunun skopolamine özgü olmayıp antimuskarinik etki ile oluştuğunu düşündürmüştür. Ayrıca konvulsiyonların aynı koşullarda sıçanlarda da oluşması türe özgü olmadığını göstermiştir (59). Açlık süresinin konvulsiyonların ortaya çıkmasına etkisinin araştırıldığı çalışmada, 2, 3, 12, 18 ve 24 saat süren açlık sonrasında da konvulsiyonların ortaya çıktığı saptanmıştır (32). Konvulsiyonlar esnasında EEG ile beyin elektriksel aktivitesi kaydedildiğinde epileptiform diken aktivitesinin olduğu gözlenmiştir (58).

Açlık süresince oluşan hipogliseminin konvulsiyon oluşumuna etkisini araştırmak amacı ile yapılan çalışmada, açlık süresince hayvanlara glikozlu su verilerek hipogliseminin önlenmesi ile konvulsiyonların oluşumu engellenemediği bulunmuştur (36). Konvulsiyonların oluşumunda antikolinergik uygulamasının ve yemden yoksun kaldıktan sonra yeniden yeme ulaşımın ana etkenler olduğu ortaya konmuştur. Konvulsiyonların iki saat gibi kısa süreli açlık sonrasında bile ortaya çıkması, yemden yoksun kalmanın neden olduğu stresin konvulsiyonların oluşmasında etkili olabileceğini düşündürmüştür (32).

Skopolamin antikolinesterazlar tarafından oluşturulan konvulsiyonları önleyen, antikonvulsif etkiye sahip bir ilaçtır. Antikonvulsif etkisini post-sinaptik muskarinik reseptörleri bloke ederek kolinerjik iletimi azaltarak gösterir. Ancak, skopolamin kolinerik nöronlarda pre-sinaptik muskarinik reseptörler üzerinden de ACh salınımına etki etmektedir. ACh salınımının artması ile kolinerjik sinapslarda oluşan ileti artışının, kolinerjik hiperaktivite ve konvulsiyon oluşumu ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür

(33). Skopolamin aynı zamanda pre-sinaptik kolinerjik inhibisyonu antagonize ederek glutamaterjik hiperaktiviteye neden olabilmektedir. Ayrıca NMDA reseptörleri dolaylı yoldan ACh salınımını etkilemektedir. Glutamaterjik sistemdeki hiperaktivitenin, bu konvulsiyonların oluşumunda dolaylı olarak etkili olabileceği ileri sürülmektedir.

Kolinerjik konvulsiyonların glutamat salınımı ve bunun sonucunda glutamat reseptör aktivasyonundan olduğu ve kolinerjik sistemin nöbetin başlamasından, glutamaterjik sistemin ise nöbetin sürdürülmesinden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Glutamat beynin farklı bölgelerinde NMDA reseptörleri üzerinden, ACh salınımını düzenlemektedir. NMDA reseptörlerinin uyarılması konvulsiyonlara neden olurken, NMDA reseptörlerinin inhibisyonu ise glutamat ile oluşan konvulsiyonları engellemektedir. Açlık sonrası skopolamin uygulanması ve ardından yem verilmesinin neden olduğu konvulsiyonların NMDA reseptör antagonisti MK-801 ve glutamat salınımını inhibe eden alfa-2 adrenerjik reseptör agonisti klonidin ve tizanidin ile baskılanması glutamaterjik aktivitenin nöbetlerde rolü olduğunun göstergesidir (33). Bu konvulsiyonlarda, beyin sinaptik membranlarına ³[H] glutamat bağlama kinetikleri incelendiğinde açlık süresince glutamat reseptörlerinde adaptif değişiklikler olduğu ve yeme ve konvulsiyonlar ile tekrar bağlanma kinetiklerinin değiştiği gösterilmiştir (36).

Aç sıçanlarda yapılan çalışmalar ile beslenmenin beynin farklı bölgelerinde dopamin salınımını arttırdığı gösterilmiştir (80). Dopamin reseptör antagonistleri klorpromazin ve haloperidolun farelerde oluşan konvulsiyonları baskıladığı gösterilmiştir (36). Açlık sonrasında yemle buluşmanın dopamin salınımını artırması ve dopaminerjik antagonistlerin uygulanması ile konvulsiyonların azalması dopaminerjik hiperaktivitenin konvulsiyon oluşumunda etkili olabileceğini düşündürmüştür (36). Hayvanlarda iki saat süren kısa süreli açlık sonrasında bile konvulsiyonların ortaya çıktığının gösterilmesi yemden yoksun kalma stresinin konvulsiyon oluşumunda önemli rol oynadığı düşündürmüştür. Stresi baskılamak amacı ile açlık süresince morfin ve klorpromazin gibi sedatif ilaçların uygulanmasının ise konvulsiyonları baskılamadığı belirlenmiştir (34).

Antimuskarinik uygulanan aç hayvanlara yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların diazepam, gabapentin ve valproat hariç birçok klasik antiepileptik

ilaca karşı dirençli olduğu gösterilmiştir. Farelerde konvulsiyonları önlediği gösterilen ilaçların, sıçanlarda tamamen aynı etkiyi göstermediği bulunmuştur (59).

Yeme davranışının konvulsiyonlara etkisi incelendiğinde, hayvanlara, sıvı yem, gavaj yoluyla yem veya çiğneme hareketine neden olan plasebo verildiğinde nöbetlerin oluşmadığı sadece katı yem yiyen hayvanlarda konvulsiyon oluştuğu gösterilmiştir (60). Aynı çalışmada, hayvanlar sıvı yem veya gavaj yolu ile beslendikten sonra katı yem yediklerinde konvulsiyonların oluştuğu gözlenmiştir. Bu katı yem yeme sırasındaki çiğneme davranışının konvulsiyonların ortaya çıkmasında önemli rol oynadığını göstermektedir. Antimuskarinik uygulanan aç hayvanlarda yem alımı ile oluşan konvulsiyonları tetikleyen faktörler, yeme epilepsisi ile benzerlik göstermektedir.

2.1.3. Epilepsi Tedavisi

Epileptik nöbetleri durduran mekanizmalar yeterince anlaşılacakla birlikte, nöbetlerin nöron veya nöronal ağda inhibitör döngülerin aktivasyonu ile hücre dışı K^+ iyonundaki azalma gibi ekstrasellüler ortam değişiklikleri ile veya hücre içi Ca^{+2} iyonunun eliminasyonu ile sona erdiği düşünülmektedir. Deneysel hayvan modellerinde antikonvülzan etki gösteren norepinefrin gibi endojen ajanların da eksitasyonu azalttıkları ve nöbetlerin sonlanmasında etkili oldukları kanıtlanmıştır (84).

Antikonvülsanlar, merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden ilaçlardır. Bu ilaçlar esas olarak merkezi sinir sistemine zarar vermeden ve solunumu deprese etmeden epileptik nöbetlerin baskılanması için kullanılırlar (18). Bugün modern antikonvülsanlarla epileptik nöbetlerin % 75-80'i kontrol altına alınabilmektedir. Epilepsi alanında özellikle son dönemde epilepsi cerrahisi, vagal sinir stimülasyonu, fokal ilaç enjeksiyonları, hücre transplantasyonları ve genetik alanında önemli ilerlemelere rağmen antiepileptik ilaçların (AEİ) profilaktik amaçlı olarak kullanımı halen tedavinin temel taşı gibi görünmektedir (84). Antiepileptik ilaçların epileptogenezi yani epilepsiyi oluşturan temel mekanizmaları engelleyemediği, sadece kullanıldıkları süre için nöbetleri azaltabildikleri veya ortadan kaldırebildikleri bilinmektedir.

İlaca dirençli epilepsisi olan ancak epilepsi cerrahisi açısından uygun bulunmayan kişilerde vagal sinir stimülasyonu (VSS) uygulanmaktadır. Hayvan

deneysinde VSS'nin antikonvülzan etkisinin kortikal ritimlerin desenkronizasyonu ile oluştuğu belirtilmektedir. Sığında pariyetal korteksin piramidal nöronlarında VSS'nin düşük uyarısıyla hiperpolarizasyon oluştuğu bulunmuştur. Ancak etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. VSS'ler insan EEG'si üzerinde görülebilir değişiklikler meydana getirmemektedir. Yapılan fonksiyonel görüntülemelerle VSS'nin etki mekanizması anlaşılmaya çalışılmış ve PET ile talamusta kan akımında değişiklikler nöbet sayısındaki azalma ile uyumlu bulunmuştur. Fonksiyonel MR'da bilateral talamus ve insüler kortekste aktivasyon klinik yanıt ile paralellik göstermektedir (12).

2.2. Ghrelin

İnsanda ghrelin geni üçüncü kromozomdadır (3p25-26) ve 4 ekson ve 3 intron içermektedir (85). İnsan ghrelininin öncülü 117 aminoasit içeren pre-pro-ghrelindir. Bu molekülün 23 aminoasitlik kısmı sinyal peptidi, kalan 94 aminoasitlik kısmı ise pro-ghrelin olarak tanımlanır. Pro-hormon konvertaz enzimi ile bölünen pro-ghrelinden 28 aminoasitten oluşan ghrelin ile 66 aminoasitten oluşan ve C-ghrelin olarak adlandırılan kuyruk parçası meydana gelir. Biyolojik olarak aktif kısmı oluşturan ghrelin peptidinin moleküler ağırlığı 3314 daltondur (9, 27, 85).

Ghrelin ilk olarak 1999 yılında büyüme hormonu salgılatıcıları reseptörünün (GHS-R) doğal bir ligandı olarak tanımlanmıştır ve esas olarak mide mukozasındaki X/A benzeri nöroendokrin hücrelerden salındığı gösterilmiştir. Ghrelin, büyüme hormonu salınımını uyarır (4) ve bu etkisiyle vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol alır. Genel anlamda oreksijenik ve adipojenik bir maddedir. Yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakika gibi kısa bir süre olan ghrelin (74), midede öncül molekülü olan pro-ghrelin olarak sentezlenir. Pro-ghrelin endoproteolitik işleme ile üç ürüne dönüştürülür: ghrelin, deaçil ghrelin ve obestatin. Açillenmiş ghrelin, hormonun 3. pozisyondaki serin aminoasidinin n-oktanoik yağ asitleri ile açillenmesi sonucunda oluşur (85). Bu post translasyonel değişim, ghrelin molekülüne kazandırdığı hidrofobik özelliğiyle beyin dokusuna, özel olarak da hipotalamus ve hipofize geçişine olanak sağlamaktadır. Açıl grubu taşımayan ghrelin şekli olan des-oktanoil ghrelinin hipotalamik ve hipofizer reseptörlere bağlanmadığının görülmesi, n-oktanoil grubunun moleküle kazandırdığı hidrohüdrofobik özelliğin, ghrelinin GHS-R ile bağlanmasında da çok önemli bir faktör olabileceğini düşündürmektedir (15). Büyüme hormonu salgılatıcı reseptörü için endojen ligand olarak davranan ghrelin şekli açillenmiş olan bu şekildir. Deaçil ghrelin,

dolaşımdaki toplam ghrelinin yaklaşık % 70-80'ini oluşturmaktadır (17). Ghrelinin açillenmemiş şeklinin dolaşımda çok daha yüksek miktarda bulunmasına karşın, bu şeklin büyüme hormonu salgılatıcı reseptöre bağlanma özelliği yoktur. Dolayısı ile deaçil ghrelina inaktif ghrelin de denilmektedir. Açillenme ghrelinin merkezi sinir sistemine geçişinde de gereklidir ve yapılan çalışmalarda ghrelinin kan-beyin bariyerini geçtiği tespit edilmiştir (10).

Ghrelinin açillenmesinden sorumlu açil tranferaz enzimi ghrelin o-açil-transferaz (GOAT) olarak tanımlanmıştır. GOAT enzimi esasen mide ve sindirim kanalında bulunmaktadır ve farelerde mide ve duodenumda ghrelin anlatımı olan hücrelerde birlikte yerleşmiş olarak bulunmaktadır (5).

Ghrelin reseptörü G proteinine bağlı reseptör ailesindedir. İşlevsel tip 1a (GHS-R tip 1a) ve işlevsel olmayan tip 1b (GHS-R tip 1b) olarak adlandırılan iki tip ghrelin reseptörü vardır (72). Tip 1a reseptörü yedi adet transmembran kısım içerirken, Ghrelin tip 1b reseptörü beş adet transmembran kısım içermektedir (72). GHS-R tip 1a'nın başlıca hipofizde, arkuat çekirdekte ve VMN'daki bazı özgül hipotalamik nöronlarda anlatımı bulunmaktadır. Ayrıca hipokampusun dentat girusunda, substantiya nigra, ventral tegmental alanda, dorsal ve mediyan raphe çekirdeği gibi hipotalamus dışı alanlarda da anlatımı olduğu gösterilmiştir (42, 72). GHS-R tip 1b'nin anlatımı mide, yemek borusu, barsak, akciğer, karaciğer, dalak ve testis gibi daha geniş dokulara yayılmıştır.

Ghrelin reseptörünün hipotalamustaki ARC, VMN, PVN ve hipotalamus dışında area postrema, vagusun dorsal motor çekirdeğinde ve ayrıca parasempatik postganglionik motor nöronlarda anlatımı vardır (53, 75). GHS-R presinaptik sinir sonlanmalarında lokalizedir ve doğrudan nörotransmitter salınımını etkiler (53). G proteini bağlı olan ghrelin reseptörü, fosfolipaz C-protein kinaz C yolağını etkiler ve hücre içi Ca^{+2} seviyesini artırır. Ghrelinin merkezi veya periferik uygulanması hipotalamustaki AMP tarafından aktive edilen protein kinaz (AMPK) uyarılmasını sağlar. Beslenmenin düzenlenmesinde ghrelin AMPK molekülüne pozitif etki gösterir ve NPY'nin üretilmesini sağlar (53).

Sıçanlarda eksojen olarak verilen ghrelinin plazma yarılanma ömrünün yaklaşık 30 dakika olduğu gösterilmiştir (74). Ghrelinin salınımı gün boyunca artarak 13:00'de en yüksek seviyeye gelmekte, daha sonra gece boyu azalarak 06:00'da en düşük

seviyeye inmekte ve kahvaltı öncesi dönemde tekrar yükselmektedir. Ghrelin düzeyi yemek yemekle de ilişkili olup beslenmeden 1-2 saat önce yaklaşık % 78 oranında artmakta ve yemekten bir saat sonra da azalmaktadır. Bu durum ghrelinin yemek yemeyi başlatıcı bir sinyal olduğunu düşündürmektedir (25).

2.2.1. Ghrelin Peptidinin Dokulardaki Dağılımı

Ghrelin çoğunlukla mide mukozasındaki X/A benzeri hücreler tarafından üretilir (85). Bu hücreler sıçan ve insan sindirim sisteminde immünohistokimya ve in situ hibridizasyon yöntemi kullanılarak ışık ve elektron mikroskobu görüntülemeleri ile tanımlanabilmiştir (6, 55). Sindirim kanalı boyunca ghrelin mRNA'sının varlığı northern blot tekniği kullanılarak gösterilmiştir (6). Farklı çalışmalar ile plasenta (44), testis (11), pankreas (3, 41, 43, 81), böbrek (41) ve beyinde (2, 56, 72) de ghrelin varlığının gösterilmiş olması, onun birçok biyolojik aktivitede rol oynayan bir peptit olduğunu düşündürmektedir.

İnsanlarda ameliyatla veya otopsi ile alınan birçok organ ve dokuda ghrelin ve ghrelin reseptörü varlığı incelenmiştir. Bu çalışmalarda GHS-R tip 1a mRNA anlatımının hipofiz bezinde tiroit, pankreas, dalak, miyokart ve adrenal bezlere göre daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, antrum, atrium, kolon, duodenum, fallop tüpleri, fundus, safra kesesi, ileum, jejunum, böbrek, karaciğer, lenf düğümleri, lenfositler, kas, özofagus, yumurtalıklar, plasenta, prostat, deri, testis, yağ dokusu ve venlerde tip 1a reseptör anlatımı tespit edilememiştir (41). Buna karşın çalışılan tüm dokularda GHS-R tip 1b ve ghrelin gen anlatımı saptanmıştır. Ghrelin mRNA derişimi en çok midenin fundus kısmında, daha sonra sırası ile ince barsaklar, antrum, lenf düğümleri, pankreas, venler, safra kesesi, akciğer, yemek borusu, hipofiz, böbrek, yumurtalıklar, prostat, karaciğer, dalak, fallop tüpleri, lenfositler, testis, yağ dokusu, plasenta, kas, atrium, tiroit, deri ve miyokarda olduğu gösterilmiştir (41).

Ghrelin peptidinin sağlıklı bireylerde plazma düzeyleri farklı çalışmalarda değişik seviyelerde bulunmuştur ve bugüne kadar uluslararası plazma ghrelin standart düzeyi belirlenememiştir. Kan örneği alma ile beslenme zamanı arasındaki sürenin sabit olmaması, uygulamalardaki farklılıklar, peptidlerin plazma ömürlerinin kısa olması, kullanılan kitin uygun şartlarda tutulmaması, çalışma ortamının koşulları gibi birçok etken farklı çalışmalarda farklı ghrelin düzeylerinin bulunmasının nedenlerindedir.

Tablo 2-1’de farklı çalışmalarda bulunan açlık plazma ghrelin düzeyleri gösterilmiştir (54).

Tablo 2-1: Farklı çalışmalarda gösterilen açlık plazma ghrelin düzeyleri (54).

<i>Plazma Ghrelin Derişimleri (pg/ml)</i>	<i>Yazar</i>
514±63	Otto ve ark.
124±11	Caminos ve ark
109±24	DelParigi ve ark.
380,5	Bellone ve ark
1870±195	Riis ve ark.
125±110	Bergmann ve ark.
264±38	Morpurgo ve ark.
3127±397	Rojdmark ve ark.
561±32,1	Gimenez-Palop ve ark.
54,1±35,5	Altinova ve ark.
50,5±34,8	Altinova ve ark.
150,8±75,9	Ruchata
686±53,7	Gjedde ve ark.
275,5±47,9	Kosowich ve ark.
985±64,2	Xin ve ark.
453	Tanaka ve ark.
85	Malendowicz ve ark.
2345	Braclik ve ark

2.2.2. Ghrelin Peptidinin Dokular Üzerindeki Etkisi

Ghrelin iştah, yemek yeme, enerji metabolizması, mide hareketlerinin düzenlenmesi üzerine etkili bir peptiddir. Bu etkilerin yanı sıra ghrelin büyüme hormonu salınımını in vitro ve in vivo şartlarda doza bağlı olarak arttırmaktadır (17, 74, 75). Ayrıca ghrelin prolaktin ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortizol salınımını da uyarmaktadır (17, 71). NPY ve AgRP’nin lateral hipotalamusta

anlatımlarının düzenlenmesinde etkili olan ghrelin, sadece iştahın değil periferik lipid ve glikoz metabolizmasını da düzenlenmesinde etkilidir (53).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda insan plazma ghrelin derişiminin her öğün öncesinde arttığı, yemek yedikten yaklaşık 60 dk. sonra ise bazal değerine döndüğü gösterilmiştir (24, 25). Plazma ghrelin düzeyinin açlık durumunda artması ve yemek yedikten sonra normal düzeylere dönmesi gastrik ghrelin hücrelerinden salınan sitoplazmik ghrelinin plazma ghrelin seviyesinin artmasında rol oynadığını düşündürmektedir (68). Hayvanlarda yapılan çalışmalar ile ghrelinin santral ve periferik uygulanmasının besin alımını ve vücut ağırlığını artırdığı gösterilmiştir (76).

Ghrelin hormonunun yemek yemeyi ve mide hareketlerini uyardığı, ancak vücut kütle endeksi (BMI) ile ters orantılı olarak BMI arttıkça ghrelinin plazma düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (39). Ghrelin, kilo kaybı olanlarda ve kalori alımı kısıtlananlarda bazal değer üzerinde yüksek bulunmakta, buna karşın, gastrektomi geçirenlerde ghrelin seviyesi % 65 kadar azalmaktadır (2).

Anoreksia nervozalı ve kaşektik kişilerde plazma ghrelin düzeylerinin yüksek olduğu ancak obez kişilerde düşük olduğu görülmüştür (17, 47). Bu da başlangıçtaki iştahı düzenleyen plazma ghrelin miktarının değil, yemek sonrasındaki ghrelinin baskılanması ve açlık ilerledikçe ghrelin miktarının artması için geçen sürenin ve baskılanma şiddetinin etkili olduğunu düşündürmektedir (71). Diyet yapılarak kilo verilmesi plazma ghrelin düzeylerinde artmaya neden olmaktadır. Ghrelinin vücut ağırlığıyla olan bu ilişkisi olasılıkla insülin ile düzenlenmektedir ve vücuttaki yağ miktarı veya yağ dağılımından etkilenmemektedir. Kan insülin düzeyinin endojen veya eksojen nedenlerle yükselmesi ghrelin salınımını baskılamaktadır. Ayrıca ghrelin salınımının baskılanmasının düzenlenmesindeki bozukluk da insülin direnciyle ilişkilendirilmiştir (71). İnsülin ile ghrelin düzeyleri arasında negatif bir ilişki olduğunu ve insülinin ghrelin üzerine düzenleyici etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Eksojen glikoz verilmesi ghrelin düzeyini azaltırken eksojen deaçil ghrelin uygulanması açıl ghrelinin insülin salınımı ve glikoz seviyesi üzerindeki etkisini antagonize etmiştir (17, 71).

Ghrelinin hemodinamik etkilerini gösteren bir çalışmada gönüllü insan deneklerine ghrelin (i.v.) verildiğinde arterial basıncı azalttığı, kardiyak çıkışı arttırdığı

ancak kalp atım hızını arttırmadığı gösterilmiştir (57). Ghrelinin kemik dokusu üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda ghrelin reseptörünün (tip 1a) anlatımı, ters transkripsiyon-PCR, immunohistokimya ve western blot analizleri ile birçok osteoblast ve osteoblastik hücre serisinde gösterilmiştir. Ayrıca kemik iliğinde de GHS-R tip 1a anlatımı, zayıf bir sinyalle olsa da insan dokusunda gösterilmiştir (22).

Ghrelin salınımı ile vagus sinir arasında da bağlantı bulunmaktadır. Ghrelin salınımı kolinerjik, özellikle muskarinik kontrol altındadır. Antimuskarinik ilaç olan atropin uygulanması ile hayvanlarda plazma ghrelin derişimi azalmaktadır. Tok hayvanlara atropin uygulandığında ghrelin düzeyinde oluşan azalma anlamlı değilken, aç hayvanlarda ghrelin düzeyinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (47). Dorsal vagal komplekse yerleştirilen kanül ile uygulanan ghrelin NPY ve AgRP mRNA anlatımında artışa neden olmaktadır (46).

Yiyeceklerin yağ, protein ve karbonhidrat bileşimleri ghrelin baskılanmasının yanı sıra iştah ve doyunluk üzerinde farklı etkilere sahiptir. Yüksek yağ içerikli yiyeceklerin, eşit kalorili ancak karbonhidrattan zengin besinlere kıyasla yemekten 30 dk. sonra ghrelin düzeyinde daha az baskılanmaya neden olduğu gösterilmiştir. (71). Aynı çalışmada yemekten 30 dakika sonra yüksek yağ içerikli yiyeceklerin, yüksek karbonhidrat içerikli yiyeceklere oranla hem zayıf hem de obez kişilerin daha az doyunluk oluşturduğu saptanmıştır. Yüksek karbonhidratlı yiyeceklerin yüksek yağ içerikli yiyeceklere oranla daha etkin olarak ghrelin düzeyini ve iştahı baskıladığı, obez olmayan kadınlarda gösterilmiştir (71). Yağdan zengin bir öğünden sonra ghrelin düzeyinde ve iştahta oluşan azalmanın karbonhidrat ve protein alımından sonra oluşan baskılanmaya göre daha az olduğu görülmektedir. Tüm bu sonuçlar iştahı baskılamak için diyetle yüksek oranda yağ almanın uygun olmadığını göstermektedir (71).

2.2.3. Ghrelin Peptidinin Beslenme ile İlişkisi

Hipootalamusta bulunan paraventriküler ve mediyal çekirdekler iştahın düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Oreksinlerin yeme davranışının düzenlenmesinde önemli rol oynayan lateral hipotalamusta yer aldığı gösterilmiştir (77). Arkuat çekirdek, beslenme ve enerji dengesinde rol alan nöronların yoğun şekilde bulunduğu hipotalamik bir alandır. Hipotalamusun bu bölgesinde, beslenmeyi uyarıcı özelliği olan NPY ve AgRP salgılayan nöronlar ile beslenmeyi baskılayıcı özelliği olan proopiomelanokortin

(POMC) ve Kokain ve Amfetamin düzenleyici transkript (CART) salgılayan nöronların iç içe bulunduğu gösterilmiştir. İnsülin, leptin, ghrelin gibi hormonların bu nöronların işlevlerinin düzenlenmesinde etkili rolleri vardır. Arkuat çekirdekteki bu nöronlardan çıkan uyarılar paraventriküler (PVN), ventromedial (VMN) ve lateral hipotalamik (LH) çekirdeklere iletilir. Lateral hipotalamik alanın (LHA) lezyonlarının hipofaji ve kilo kaybına, ventral medial hipotalamus (VMH) lezyonlarının ise hiperfajik obeziteye yol açtığı bilinmektedir. Bu sonuçlar yeme merkezinin LHA'da, tokluk merkezinin de VMH'da var olduğunu düşündürmektedir. Bu merkezlerin birbirleri ile olduğu kadar beynin diğer bölgeleri ile de nöronal ilişkisi vardır. Periferden nukleus traktus soliterius (NTS) yolu ile iletilen uyarılar doğrudan merkezlerine ulaştırılabilir. Bu sahaların gelişmiş kortikal nöronlarla da ilişkisi vardır. Enerji dengesi, beslenmenin santral ve periferik kontrolünde rol alan birçok oreksijenik ve anoreksijenik etkili molekül vardır (50, 77).

Arkuat çekirdekteki oreksijenik nöronlar NPY ve AgRP ile anoreksijenik nöronlar POMC, alfa-MSH ve CART antımı vardır. ARC deki NPY/AgRP ve POMC nöronları yiyecek alımının düzenlenmesinde en önemli duysal nöronlardır. Bu nöronlar hormon, glikoz ve yağ asidi gibi faktörlerin değişimini algırlar, koordine ederler ve uygun cevap oluşmasını sağlarlar. Bu nöronların önemi delesyon çalışmaları ile gösterilmiştir. NPY/AgRP nöronlarında gen delesyonu olduğunda yemek ve kilo alımında azalma olduğu, POMC nöronlarında delesyon olduğunda ise yemek alımı ve vücut ağırlığında artma olduğu gösterilmiştir.

Farelerde, ghrelinin oluşturduğu güçlü beslenme uyarısının arkuat çekirdekte büyük ölçüde NPY ve AgRP ile ilişkili olduğu sanılmaktadır. Ghrelin, arkuat çekirdekte NPY ve AgRP gen anlatımını artırarak bu peptidlerin oreksijenik etkilerinin ortaya çıkmasını sağladığı düşünülmektedir (53). Ghrelinin NPY ve AgRP'yi uyararak yemek alımını sağladığı elektrofizyolojik ve fos immunreaktif çalışmalar ile gösterilmiştir (5).

Ghrelin ve deaçile ghrelin üreten nöronların aksonal sonlanmaları NPY üreten nöronlar ile doğrudan sinaptik bağlantı yapar. Bu da hipotalamik yeme düzenlenmesinde rol almalarını sağlar (75, 76). NPY/AgRP ve POMC doğrudan paraventriküler çekirdeğe bilgileri iletirler (5). İnaktif ghrelin olarak adlandırılan deaçil ghrelinin merkezi veya periferik uygulanması sonucu yiyecek alımının azaldığı

gösterilmiştir. Açıl ghrelinin i.p. enjeksiyonu ile arkuat çekirdekte PVN'de c-fos anlatımının arttığı gösterilmiştir. Deaçil ghrelinin enjeksiyonu ise sadece PVN'de c-fos artışına neden olmuştur. Ven içine enjeksiyon yapıldığında ise ghrelin formlarının mide barsak sisteminin (GİS) hareketlerine etkisi şu şekildedir; açıl ghrelin duodenumda aktiviteyi indüklerken, deaçil ghrelin ise antrumdaki aktiviteye engel olur. Yani ghrelinin 2 formu da GİS motilitesi üzerine zıt etkiye sahiptir. Bu da farklı yollar üzerinden etki ettiklerini düşündürür. Zaten c-fos ekspresyonuna etkileri göz önüne alındığında sadece açıl ghrelinin ARC'deki c-fos anlatımında etkili olduğu, bu şekilde de NPY nöronları üzerinden motor aktiviteyi arttırdığı düşünülebilir (39).

2.3. Ghrelin ve Epilepsi İlişkisi

Epileptik nöbetler ile hipotalamik ve hipofizer hormonların serum seviyeleri değişmektedir. Bu değişiklik nöbetten hemen sonra izlenebilir. Ayrıca AEİ kullanımı da hipotalamo-hipofizer işlevi etkilemektedir (14, 45). Çocuklar ile yapılan bir çalışmada AEİ kullanan epileptik çocukların boylarının daha kısa, BMI'lerinin ise sağlıklı çocuklara kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir (14).

Epileptik hastalarda da serum ghrelin düzeyleri sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca parsiyel epilepsili hastalardaki ghrelin düzeyinin, jeneralize epilepsili hastaların serum ghrelin düzeyine göre yüksek olduğu saptanmıştır (14). Sıçanlarda pentilentetrazolle oluşturulan nöbetlerden sonra ise kandaki ghrelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (8). Ghrelinin, pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel epilepsi modellerinde eksojen olarak uygulandığında antiepileptik etkisi olduğu ileri sürülmüştür (62).

Epileptik modellerde NPY mRNA'sının anlatımının arttığı gösterilmiştir (21, 29). Nöropeptid Y arkuat çekirdekten salınan, epilepsi ile ilişkilendirilen 36 aa.lık bir peptiddir ve GABA anlatımı olan internöronlarda anlatımı vardır. NPY'nin sıçan hipokampal kesitlerine uygulanması ile glutamat ile oluşan sinaptik eksitasyonun baskılandığı gösterilmiştir (21). İnsanlarda, NPY'nin dentat girustaki glutamaterjik eksitasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (64).

Sıçanlarda hipokampusun CA1 bölgesine NPY uygulanmasıyla pikrotoksin ile oluşturulan epileptik davranışın baskılandığı gözlemlenmiştir (21). Ayrıca kainik asitle

oluşturulan epilepsi modelinde lateral ventriküle NPY uygulanmasının motor nöbetleri baskılandığı, EEG' de görülen nöbet aktivitesinin süresinde azalma olduğu görülmüştür (21). Bu bulgular NPY'nin antiepileptik etkisi olduğunu göstermiştir.

İnsanlarda, NPY'nin dentat girustaki glutamaterjik eksitasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (65). Dentat girustaki ve internöronlardaki artmış NPY anlatımı epileptiform deşarjlar ile ilişkilendirilmiştir (21). Kindling ile oluşturulan epilepsi nöbetlerinde büyüme hormonu anlatımının arttığı in situ hibridizasyon yöntemi ile gösterilmiştir (30). Büyüme hormonu rekombinantı olan genotropinin hipokampusa uygulanmasının epileptogenezi anlamlı olarak artırdığı, büyüme hormonu salınımını baskılayan somataostatin analogunun uygulanmasının ise epileptogenez esnasındaki davranışsal değişiklikleri azaldığı görüldü (30).

Büyüme hormonu etkisini Jak2/stat sinyal yolağı ve hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz (ERK) üzerinden gerçekleştirmektedir. ERK fosforilasyonunun, epileptik nöbet oluşumuna neden olduğu ve nöbet oluşumu için de ERK aktivasyonunun gerekli olduğu gösterilmiştir (51). Ayrıca hipokampal ve kortikal kindling ile oluşturulan epileptik nöbetlerde stat5 fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir (51).

Hipotalamusun paraventriküler-mediya hipotalamik bölgesinde, beslenmeyi uyarıcı özelliğı olan NPY ve AgRP salgılayan nöronlar ile beslenmeyi baskılayıcı özelliğı olan POMC ve CART salgılayan nöronların iç içe bulunduğu gösterilmiştir. Ghrelin reseptörlerinin de ARC'de NPY eksprese eden nöronlar ile ko-lokalize olarak bulunmaktadır (26, 42, 53). Ghrelinin yem alımını NPY ve AgRP üzerinden uyardığı elektrofizyolojik ve fos immunreaktif çalışmalar ile gösterilmiştir (5). Ghrelin uygulanması sonrasında NPY ve AgRP mRNA'larının anlatımında artma olduğu görülmüştür (46).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın etik kurul ilkelerine uygun olduğu, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 29.04.2010 tarihli toplantısında 63 sayılı kararla onaylamıştır.

3.1. Kullanılan Malzemeler ve Laboratuvarlar

Balb/C fareler, Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Hayvanlarda konvulsiyon oluşturma aşamasında kullanılan Skopolamin Hidroklorid Sigma-Aldrich firmasından alındı.

İmmunohistokimyasal ghrelin boyaması yapmak için ABCAM (ab64261) markalı immunohistokimya (IHC) kiti kullanıldı. Kan ve doku örneklerinde ghrelin seviyesini belirlemek için Phoenix Ghrelin (Rat, Mouse) EIA Kit (EK-031-31) kullanıldı.

Tez çalışması İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı'nda yürütüldü.

Beyin dokularının takibi ve parafine gömülmesi işlemleri ile kesit alınarak dokuların lama geçirilmesi işlemleri İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

ELISA çalışmalarının son aşaması olan okuma kısmı İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Okuma cihazı olarak BioTek Instruments ELx800™ kullanıldı.

3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada 36 adet, 25-30 gr ağırlığında Balb/C erkek fare kullanıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar deney gününe kadar Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'nda standart laboratuvar koşullarında tutuldu.

Tüm fareler tartıldıktan sonra aç ve tok olacak şekilde iki gruba ayrılarak taze samanlı temiz kafeslere alındı. Tok gruplarda olacak hayvanlara yem verildi, aç

gruaplarda olan hayvanların ise yemleri alındı ve 24 saat boyunca aç bırakıldılar. Deney günü, skopolamin hidroklorid 3mg/kg ve 4ml/kg hacimde olacak şekilde serum fizyolojik (SF) içinde çözülerek hazırlandı. Tok ve aç tüm hayvanlar tartıldıktan sonra aşağıdaki şekilde deney gruplarına ayrıldı.

1.grup (Tok-SF) (n=6): Tok hayvanlara periton içine (i.p.) SF enjeksiyonu yapıldı.

2.grup (Tok-Skop) (n=6): Tok hayvanlara i.p. skopolamin enjeksiyonu yapıldı.

3.grup (Aç-SF) (n=6): 24 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu yapıldı.

4.grup (Aç-Skop) (n=6): 24 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. skopolamin enjeksiyonu yapıldı.

Tüm gruplardaki hayvanlar, enjeksiyon sonrasında izleme kafeslerine alındı ve 50 dakika boyunca konvulsiyon sıklığı ve konvulsiyon başlama süresi açısından izlendi.

5.grup (Aç-SF-Yem) (n=6): 24 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyondan 20 dakika sonra yem verildi.

6.grup (Aç-Skop-Yem) (n=6): 24 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. skopolamin enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyondan 20 dakika sonra yem verildi.

Yem verildikten sonra hayvanlar 30 dakika boyunca konvulsiyon sıklığı ve konvulsiyon başlama süresi açısından izlendi.

Konvulsiyon evreleri 0-5 arasında skor verilerek değerlendirildi. Evre 3 ve üstü konvulsiyon yanıtı olarak kabul edildi. Değerlendirme:

(0) fark yok;

(1) donma ve çene hareketleri;

(2) ön ayaklarda klonus;

- (3) şahlanma ile ön ayaklarda klonus;
- (4) şahlanma ile ön ayaklarda klonus ve düşme;
- (5) şahlanma ile jeneralize konvulsiyon, düşme ve sıçrama.

İzleme süresinin sonunda doku ve plazma ghrelin düzeylerini belirlemek için hayvanlardan intrakardiyak kan alındı ve beyinleri çıkarılarak uygun koşullarda saklandı.

3.3. Plazma ve Doku Ghrelin Düzeyinin Belirlenmesi

Dekapitasyon aşamasından önce farelerden intrakardiyak yolla enjektöre alınan kan hızla EDTA'lı tüplere konuldu ve soğutmalı santrifüj ile kandan plazma ayrıldı. Buz üzerinde çalışılarak beyin kafatasından çıkarıldı ve beyincikten ayrılarak kriyotüplere alındı. Toplanan plazma ve doku örnekleri çalışma gününe kadar saklanmak üzere hızla -80°C'ye kaldırıldı.

Çalışma günü beyin dokuları -80°C'den alındı ve buz içerisinde tutularak homojenize edildi. Homojenizasyon aşamasında tartılan doku hazırlanan homojenizasyon solüsyonuna koyuldu ve soğuk ortamda parçalandı. Buzda vortekslendi ve tam homojenizasyon için parçalama işlemine devam edildi. Tam bir homojenat elde edildikten sonra 20 dakika, 15.000 rpmde santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst sıvı (süpernatant) çalışma yapmak için alındı.

Homojenizasyon solüsyonu hazırlanırken, her gram doku için 1 ml PBS içinde proteaz inhibitörü olarak 4 µl aprotinin kullanıldı.

Plazmadan ve homojenizasyon aşamasından sonra süpernatant kısımları alınan örneklerden Phoenix fare "Ghrelin EIA Kit" kullanılarak, kit prosedürüne uygun şekilde plazma ve doku ghrelin düzeyleri belirlendi.

3.4. İmmunhistokimya Deneyleri

İmmunohistokimyasal inceleme için aynı deney gruplarına sahip önceki çalışmalarımızda kullanılan hayvanların parafine gömülerek saklanmış beyin dokuları kullanıldı.

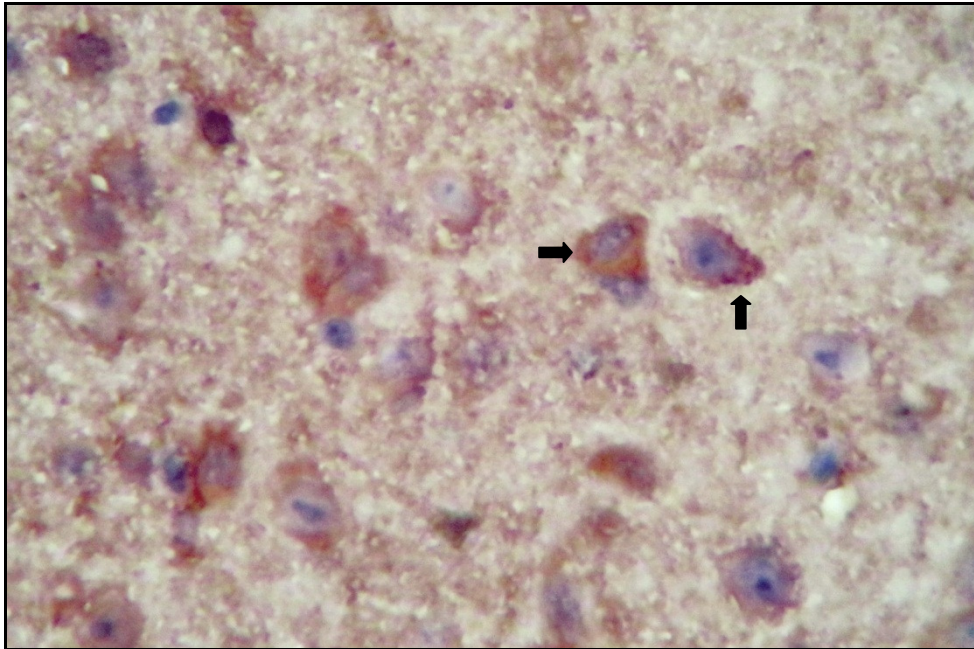
Hayvanlar giyotin ile dekapite edildikten sonra, çıkarılan beyinler % 10'luk formaldehit ile fikse edildi. Beyinler artan alkol serileri içinde 24 saat ve en son basamakta toluol içinde 1 saat bekletildi. Saf parafin içinde 58°C'lik etüvde 2 saat bekletilip sonra küp bloklar içinde parafine gömüldü. Bloklardan ghrelin boyaması yapmak amacıyla soğutmalı mikrotom kullanılarak kesitler alındı ve poly-L-lizinli lamlara aktarıldı.

Paraformaldehitte fikse edilmiş, parafine gömülü fare beyin dokularında deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemleri gerçekleştirildi. Parafinden kurtulmak için immunohistokimyasal boyama yapılacağı gün lamlar 56°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek parafinin yumuşaması sağlandı. Kesitlere suyunu geri kazandırmak üzere yüzdesi azalan alkol serilerinde bekletilip son olarak distile suya alındı. Bunun için ksilende 5 dakika tutulan kesitler, sırasıyla % 100, % 80, % 70 ve % 50'lik alkol serilerinde 5 dakika bekletildi. Daha sonra distile suda yaklaşık 1 dakika bekletilen preparatlar Fosfat tampon solüsyonu (1xPBS) içine alınarak 5 dakika tutuldu. Kesitlere mikrodalga fırında sitrat tampon solüsyonu içinde 20 dk. ısı uygulanarak antijenik bölgelerin açığa çıkarılması sağlandı. Epitoplara açılmasını sağlamak için 1 litre sitrat tampon solüsyonu içine 300µl tween 20 katıldı. Mikrodalga aşamasında şaleler kontrol edilerek buharlaşan tampon solüsyonun yerine yenisi eklendi ve böylece kesitlerin kuruması engellendi. Lamlar, oda ısısına kadar soğuması beklendikten sonra 1xPBS içine alınarak 5 dk. tutuldu. Tampondan çıkarılan lamlarda hidrofobik bariyer oluşturmak üzere kesitlerin etrafı immunopen ile çizildi.

Boyama kabı içine alınan kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek amacıyla boyama kitinin içinde bulunan % 0,3'lük H₂O₂ ile muamele edildi. Daha sonra sekonder antikordan kaynaklı yanlış boyanmayı engellemek üzere, protein blok kullanılarak spesifik olayın bağlanma yerleri kapatıldı. Ayrıca ara yıkamaların yapılacağı PBS tampon solüsyonu içine % 0,25 olacak şekilde triton X-100 katılarak zemin boyaması engellenmeye çalışıldı. Protein blok kaplı lamlar 20 dakika bekletildikten sonra PBS ile yıkandı. Ardından antikor dilüent solüsyonu kullanılarak uygun konsantrasyona getirilen ghrelin primer antikor (Abcam marka, keçi poliklonal ghrelin IgG) ile 2 saat bekletilip sonra primer antikora uygun ve biyotin bağlı sekonder antikor (Abcam marka, keçi IgG ile uyumlu tavşan poliklonal seconder antikoru) ile 30 dk inkübe edildi. Primer ve sekonder antikor aşamaları arasında PBS ile yıkama yapıldı.

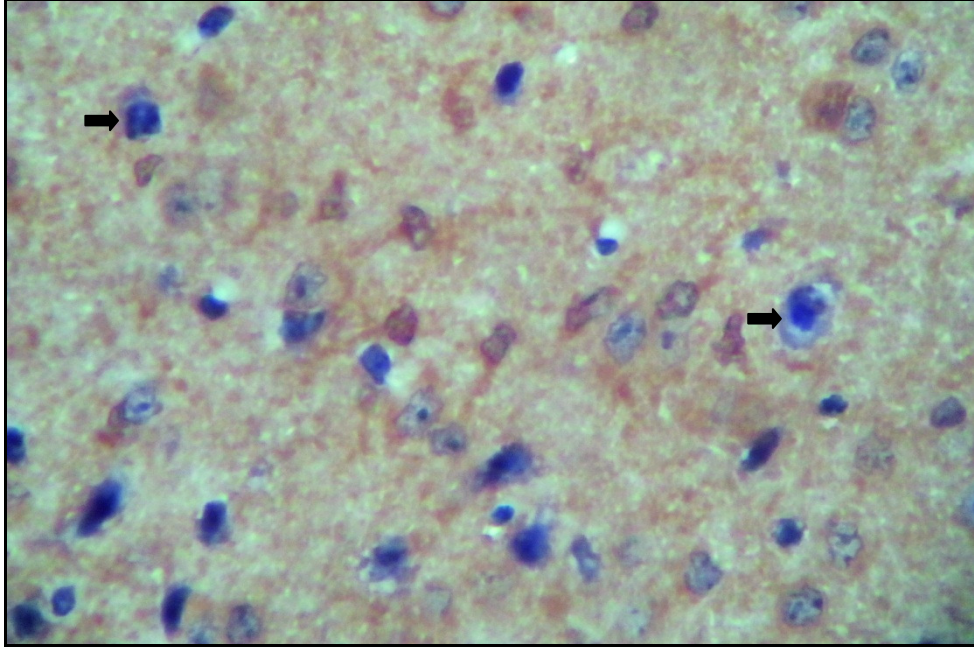
Ardından streptavidin-HRP solüsyonuyla 30 dk inkübasyon yapıldı. Bu aşamada beklenirken kit içeriğindeki (Abcam marka-ab64261) substrat buffer ve kromojen kullanılarak kit prosedürüne uygun şekilde DAB solüsyonu hazırlandı. PBS ile yıkama aşamasından sonra yaklaşık 10 dakika kahverengi renk oluşumu izlenerek kesitler DAB solüsyonu ile inkübe edildi. Tüm aşamaların arasında kesitler PBS tampon ile üçer kez yıkandı. Yıkama işleminin ardından kesitler Mayers marka hematoksilin ile boyandı. Preparatların üzerlerine DAB'la uyumlu organik bazlı bir kapatıcı (mounting medium) konularak lamelle kapatıldı.

İmmunohistokimyasal boyama sonrası fare beyin koronal kesitleri "Allen Mouse Brain Atlas" referans alınarak ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E100) incelendi. Kesitlerden uygun büyütmede fotoğraflar alınarak hipotalamus ve amigdala bölgesindeki hücreler incelendi. Sitoplazmanın kahverengi renkte boyanması (Şekil 3-1) ghrelin varlığını gösterdiğinden her mikroskop alanındaki bu boyalı hücreler sayılarak, alandaki toplam hücre sayısına göre yüzdeleri belirlendi. Kahverengi boyanmayan hücreler ghrelin negatif olarak kabul edildi (Şekil 3-2).



Şekil 3-1: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucu ghrelin pozitif olan hücreler.

Örnek olarak seçilen ve ok ile gösterilen hücrelerin sitoplazmaları kahverengi boyandığından ghrelin varlığını göstermektedir. Büyütme oranı: 3200x



Şekil 3-2: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucu ghrelin negatif olan hücreler.

Örnek olarak seçilen ve ok ile gösterilen hücrelerde ghrelin varlığı görülmemektedir. Büyütme oranı:1600x

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veriler toplandıktan sonra, bilgisayar yazılım programı SPSS® 15.0 kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı.

Vücut ağırlığı değişim yüzdeleri Student's t-test kullanılarak değerlendirildi. Konvulsiyon sıklığının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Fisher Exact test kullanıldı.

Plazma ghrelin düzeyleri ve beyin dokusu ghrelin düzeyleri tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ardından Tukey testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Plazma ve doku ghrelin düzeyleri ile konvulsiyon evreleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi.

4. BULGULAR

4.1. Konvulsiyonlar

Deney süresince hayvanlarda oluşan ağırlık değişimleri, konvulsiyonların evreleri ve oluşan konvulsiyonların sıklığı ile başlama süreleri aşağıda gösterilmiştir.

4.1.1. Ağırlık Değişimleri

Hayvanların vücut ağırlıkları 24 saatlik deney süresinin öncesinde ve sonrasında ölçüldü. Bir günlük deney süresinin sonunda, yem verilmeyen gruplarda bulunan hayvanların ağırlıklarının, tok gruplardaki hayvanların ağırlıklarından daha düşük olduğu saptandı. Aç hayvanlardaki ağırlık kaybının yüzdesi, tok hayvanlardakine oranla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,01$).

Tablo 4-1’de hayvanların deney öncesi ve 24 saat sonrasındaki vücut ağırlıkları ile yüzde değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Farelerin 24 saat içindeki vücut ağırlığı değişimi.

<i>Gruplar(n)</i>	<i>Vücut Ağırlığı (ort±SE)</i>		
	<i>Deney öncesi</i>	<i>24 saat sonra</i>	<i>Ağırlık değişimi (%)</i>
Tok hayvanlar (12)	29,17±0,79	29,12±0,74	0,06
Aç hayvanlar (24)	27,04±0,28	24,71±0,43	8,71 ^a

(n) hayvan sayısı

^a $p<0,01$, tok hayvanlardaki ağırlık değişimi yüzdesine göre.

4.1.2. Konvulsiyon Evreleri

Tablo 4-2’de konvulsiyon evreleri ve her gruptaki konvulsiyon geçiren hayvan sayısı görülmektedir. Otuz dakikalık izleme süresince sadece 24 saat açlık sonrasında skopolamin uygulanıp ardından yem verilen hayvanlarda (Aç-Skop-Yem) konvulsiyon olduğu gözlemlendi.

Tablo 4-2: Konvulsiyon geçiren hayvan sayıları ve evreleri.

<i>Gruplar (n)</i>	<i>Evre 0</i>	<i>Evre 1</i>	<i>Evre 2</i>	<i>Evre 3</i>	<i>Evre 4</i>	<i>Evre 5</i>
Tok-SF (6)	0	0	0	0	0	0
Tok-Skop (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-SF (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-Skop (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-SF-Yem (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-Skop-Yem (6)	0	0	1	2	2	1

(n) hayvan sayısı

4.1.3. Konvulsiyon Sıklığı ve Başlama Süreleri

Tablo 4-3'te tüm gruplardaki konvulsiyon sıklığı ve yem yedikten sonra konvulsiyonların başladığı zamana kadar geçen süre görülmektedir.

Çalışma sonucunda sadece Aç-Skop-Yem grubunda konvulsiyon oluştuğu görüldü. Konvulsiyon sıklığı % 83,3 olarak hesaplandı. Bu sonuç diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ($p<0,05$). Aç-Skop-Yem grubunda konvulsiyonların ortaya çıkma süresinin $6,3\pm 1,7$ dk. olduğu saptandı.

Tablo 4-3: Konvulsiyon başlama süresi ve sıklığı.

<i>Gruplar(n)</i>	<i>Konvulsiyonların</i>	
	<i>Sıklığı (%)</i>	<i>Başlama Süresi (dk)</i>
Tok-SF (6)	0	-
Tok-Skop (6)	0	-
Aç-SF (6)	0	-
Aç-Skop (6)	0	-
Aç-SF-Yem (6)	0	-
Aç-Skop-Yem (6)	83,3 ^a	6,3±1,7

(n) hayvan sayısı

^a $p<0,05$; Aç-SF-Yem grubuna göre.

4.2. Ghrelin Düzeyleri

Hayvanlardan toplanan plazma ve doku örneklerinde Phoenix Ghrelin (Rat, Mouse) EIA Kit (EK-031-31) kullanılarak toplam (açık ve deaçık) ghrelin miktarları belirlendi.

4.2.1. Plazma Ghrelin Düzeyleri

Plazma toplam ghrelin düzeyleri Şekil 4-1’de görülmektedir.

Plazma ghrelin düzeyleri incelendiğinde skopolamin uygulanan tok gruptaki hayvanlardaki toplam ghrelin düzeyinin ($4,1\pm 0,7$ nmol/ml), SF uygulanan tok gruptaki hayvanlara göre ($2,9\pm 0,3$ nmol/ml) daha yüksek olduğu saptandı. Açlık sonrasında skopolamin uygulanan gruptaki ($5,0\pm 0,6$ nmol/ml) plazma ghrelin düzeyi ise, 24 saat açlık sonrasında SF uygulanan gruba ($5,6\pm 0,5$ nmol/ml) kıyasla düşük bulundu. Gruplar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

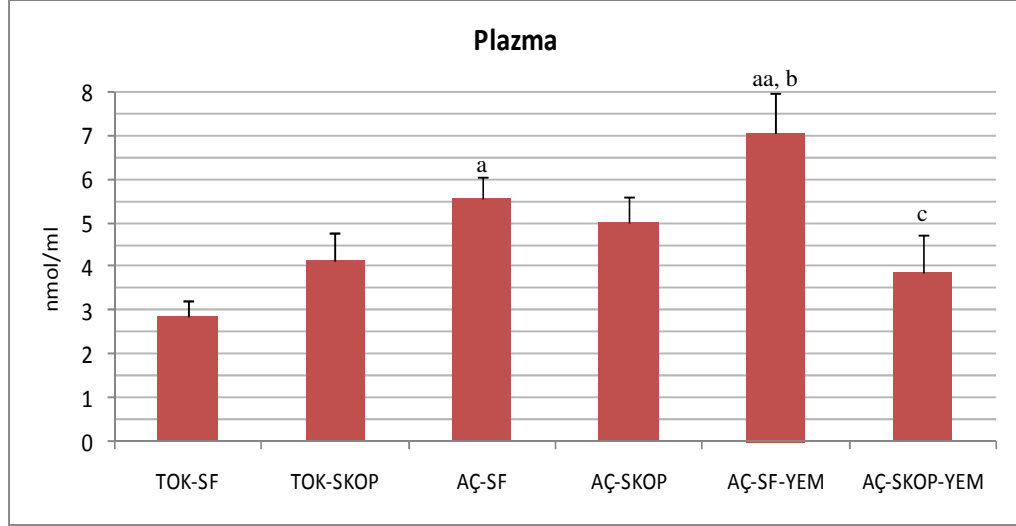
Toplam plazma ghrelin düzeyi 24 saat aç kalan ve SF enjeksiyonu yapılan grupta ($5,6\pm 0,5$ nmol/ml), SF enjeksiyonu yapılan tok gruba ($2,9\pm 0,3$ nmol/ml) oranla anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$). Açlık süresinin sonunda SF enjeksiyonu yapılan ve yem verilen gruptaki plazma ghrelin düzeyi ($7,0\pm 0,9$ nmol/ml) ise açlık sonrası SF enjeksiyonu yapılan ancak yem verilmeyen gruba ($5,6\pm 0,5$ nmol/ml) kıyasla yüksek olduğu belirlendi. Ghrelin seviyesindeki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Aç-SF-Yem grubundaki hayvanların plazma ghrelin düzeyi, SF enjeksiyonu yapılan tok hayvanlara göre ($p<0,01$) ve skopolamin enjeksiyonu yapılan tok hayvanlara göre ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.

Aç-SF-Yem grubundaki ($7,0\pm 0,9$ nmol/ml) ghrelin düzeyi ayrıca Aç-Skop-Yem grubundaki plazma ghrelin düzeyiyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Özetle skopolamin uygulanan tok gruptaki hayvanların plazma ghrelin düzeylerinin, 24 saatlik açlık sonrası skopolamin uygulanan gruptaki hayvanların ghrelin düzeyinden düşük ancak skopolamin uygulaması sonrası yem verilen aç hayvanlardan yüksek olduğu görüldü. Ghrelin düzeyindeki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. SF enjeksiyonu yapılan tok gruptaki hayvanların plazma

ghrelin düzeylerinin, 24 saatlik açlık sonrası SF enjeksiyonu yapılan gruptaki ($p<0,05$) ve SF enjeksiyonu sonrası yem verilen aç gruptaki hayvanlardan düşük olduğu görüldü ($p<0,01$).



Şekil 4-1: Plazma ghrelin düzeyleri.

^a $p<0,05$, ^{aa} $p<0,01$; Tok-SF grubuna göre

^b $p<0,05$, Tok-Skop grubuna göre

^c $p<0,05$, AÇ-SF-Yem grubuna göre

Barlar ortalama değerleri, hata çubukları standart hatayı (S.E.) göstermektedir

Aç-Skop-Yem grubundaki her hayvanda görülen konvulsiyon evresi ve plazma ghrelin seviyeleri Tablo 4-4'te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre konvulsiyon evreleri ile ghrelin seviyeleri arasında korelasyon açısından yapılan incelemede negatif yönde çok zayıf bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Spearman's rho= -0,23, $p=0,66$).

4.2.2. Doku Ghrelin Düzeyleri

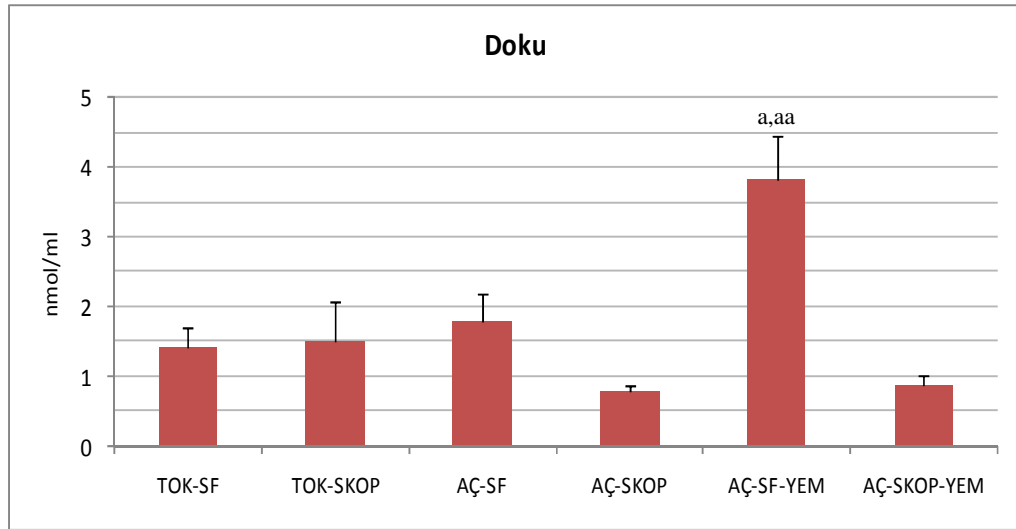
Beyin dokusundaki toplam ghrelin düzeyleri Şekil 4-2'de gösterilmiştir. Skopolamin uygulanan tok gruptaki hayvanlardaki toplam ghrelin düzeyinin ($1,5\pm0,6$ nmol/ml), SF uygulanantok gruptaki hayvanlara göre ($1,4\pm0,3$ nmol/ml) daha yüksek olduğu saptandı. Açlık sonrasında skopolamin enjeksiyonu yapılan gruptaki ($0,8\pm0,1$ nmol/ml) doku ghrelin düzeyi ise, 24 saat açlık sonrasında SF uygulanan gruba ($1,8\pm0,4$

nmol/ml) göre azalmış olduğu bulundu. Gruplar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Doku ghrelin düzeyi 24 saat aç kalan ve SF uygulanan grupta ($1,8 \pm 0,4$ nmol/ml), SF uygulanmayan gruba ($1,4 \pm 0,3$ nmol/ml) oranla daha yüksek bulundu. Açlık süresinin sonunda SF uygulanan ve yem verilen gruptaki doku ghrelin düzeyi ($3,8 \pm 0,6$ nmol/ml) ise açlık sonrası SF uygulanmayan ve yem verilmeyen gruba ($1,8 \pm 0,4$ nmol/ml) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Aç-SF-Yem grubundaki hayvanların doku ghrelin düzeyi, SF uygulanan tok hayvanlara göre ($p < 0,01$) ve 24 saat açlık sonrası SF uygulanan gruba göre ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu.

Açlık sonrasında SF uygulanan ve yem verilen gruptaki hayvanların doku ghrelin düzeyleri, Aç-Skop, Aç-Skop-Yem ve Tok-Skop gruplarına kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,01$).



Şekil 4-2: Beyin dokusundaki ghrelin düzeyleri

^a $p < 0,01$, Tok-SF, Tok-Skop, Aç-Skop, Aç-Skop-Yem gruplarına göre

^{aa} $p < 0,05$, Aç-SF grubuna göre

Barlar ortalama değerleri, hata çubukları S.E.'yi göstermektedir.

Aç-Skop-Yem grubundaki her hayvanda görülen konvülsiyon evresi ve doku ghrelin düzeyleri Tablo 4-4'te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre konvülsiyon evreleri ile

doku ghrelin seviyeleri arasında korelasyon açısından yapılan incelemede pozitif yönde zayıf bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Spearman's $\rho=0,29$, $p=0,58$).

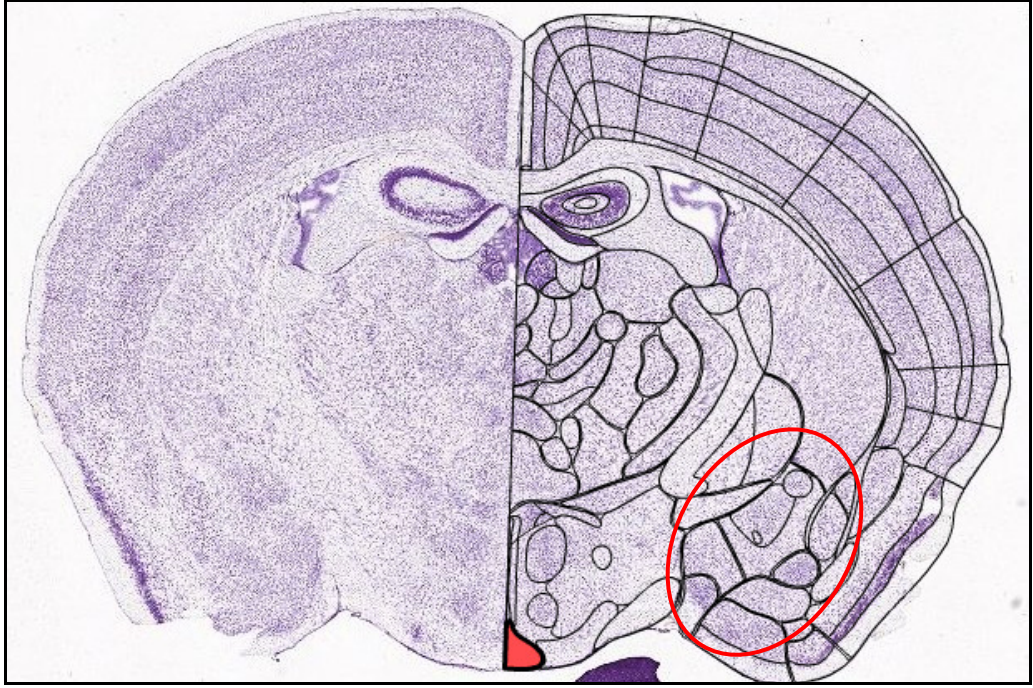
Tablo 4-4: Plazma ve doku ghrelin düzeyleri, konvülsiyon evreleri ve ortaya çıkma süreleri

<i>Plazma ghrelin düzeyleri (nmol/ml)</i>	<i>Doku ghrelin düzeyleri (nmol/ml)</i>	<i>Konvülsiyon Evresi</i>	<i>Başlama Süresi (dk)</i>
3,4	0,8	5	11
4,1	0,7	3	3
6,9	0,7	2	4
1,3	1,5	2,5	5
2,1	0,8	4	4
5,7	0,8	4	12

Tabloda plazma ve doku ghrelin düzeyleri ortalama değerleri verilmiştir.

4.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Beyin dokusundan alınan koronal kesitlerde Allen-Mouse Brain atlas referans alındı (Şekil 4-3). Hipotalamusun ARC bölgesindeki (Şekil 4-4) ghrelin pozitif boyanan hücreler sayılarak, her mikroskop alanındaki toplam hücre sayısına göre yüzdeleri belirlendi. Amigdala bölgesinde ghrelin pozitif hücre varlığı görülmedi.



Şekil 4-3: Allen Mouse Brain Atlas'tan alınan koronal fare beyin kesiti (1).

Kırmızı boyalı alan hipotalamik arkuat çekirdeği göstermektedir. Kırmızı çerçeve içindeki alanda amigdala çekirdekleri bulunmaktadır.



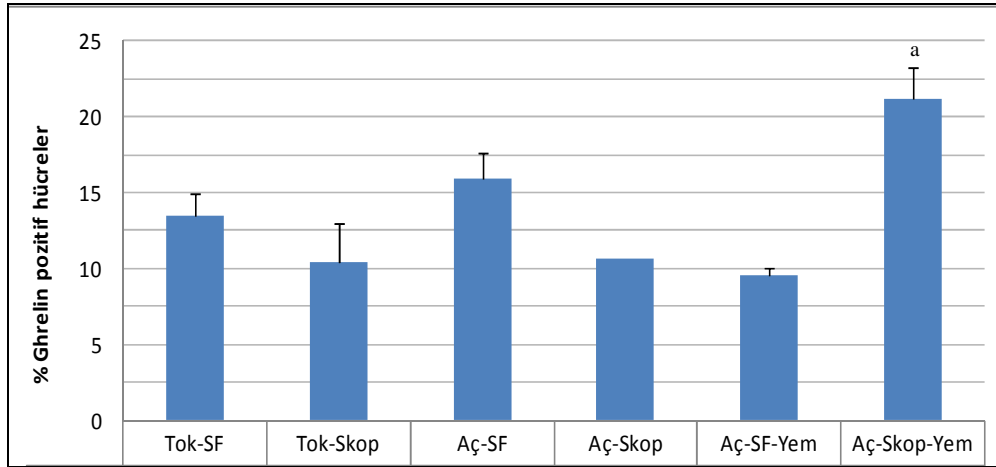
Şekil 4-4: İmmunohistokimyasal olarak ghrelin boyaması yapılmış koronal fare beyin kesiti.

Kırmızı çerçeve içindeki alan hipotalamik arkuat çekirdeği göstermektedir. Büyütme oranı: 200x

Şekil 4-5'te hipotalamus bölgesindeki ghrelin pozitif hücrelerin gruptaki yüzde dağılımları görülmektedir. Buna göre skopolamin uygulanan tok gruptaki hayvanlardaki ghrelin pozitif hücrelerin (10,4±2,6), SF uygulanan tok gruptaki hayvanlara göre (13,4±1,5) daha düşük yüzdeye sahip olduğu görüldü. Açlık sonrasında skopolamin uygulanan gruptaki (10,6±0,1) boyanan hücre yüzdesi ise, 24 saat açlık sonrasında SF enjeksiyonu yapılan gruba (15,9±1,7) kıyasla düşük bulundu. Gruplar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Hipotalamustaki ghrelin pozitif boyanan hücre yüzdesi, 24 saat aç kalan ve SF uygulanan grupta (15,9±1,7), SF uygulanan tok gruba (13,4±1,5) oranla daha yüksek bulundu. Açlık süresinin sonunda SF uygulanan ve yem verilen gruptaki ghrelin pozitif hücrelerin yüzdesinin (9,5±0,5) ise açlık sonrası SF uygulanan ancak yem verilmeyen gruba (15,9±1,7) kıyasla daha düşük olduğu görüldü.

Aç-Skop-Yem grubunun (21,1±2,1), diğer tüm gruplardan daha yüksek ghrelin pozitif hücre yüzdesine sahip olduğu görüldü. Aç-Skop-Yem grubunun sahip olduğu bu yüksek yüzdenin, Aç-Skop ve Aç-SF-Yem gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).



Şekil 4-5: Hipotalamusta immunohistokimyasal boyama sonucunda ghrelin pozitif boyanan hücre yüzdeleri

^a $p<0,05$, Aç-Skop ve Aç-SF-Yem gruplarına göre.

Barlar ortalama değerleri, hata çubukları S.E.'yi göstermektedir

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması ile antimuskarinik uygulanan ve yem verilen hayvanlarda oluşan konvulsiyonlar ile ghrelin peptidinin ilişkisi ilk kez araştırılmıştır. Ghrelin düzeyleri plazma ve beyin dokusunda ölçülmüş, ayrıca immunohistokimyasal boyama ile hipotalamusun arkuat çekirdeğinde ghrelin varlığı incelenmiştir.

Ghrelin plazma derişiminin açlık süresince arttığı, yemek yedikten sonra ise normal düzeylere indiği bilinmektedir (24, 25). Çalışmamızda 24 saat açlık sonrasında ölçülen plazma ghrelin düzeylerinin (Aç-SF), tok hayvanlara (Tok-SF) göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Antimuskarinik antagonistlerden atropin uygulandığında aç hayvanlarda plazma ghrelin seviyesinin anlamlı derecede düştüğü bildirilmiştir (47). Çalışmamızda da bu bulgu ile benzer olarak skopolamin uygulanan aç gruplarda plazma ghrelin derişiminin, SF uygulanan aç gruplara göre daha düşük olduğu bulunmuştur. İlginç olarak tok hayvanlarda, skopolamin uygulanan grubun plazma ghrelin seviyesinin SF uygulanan gruptan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu bulgular skopolamin uygulanmasının açlık ve tokluk durumlarında farklı etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan başka bir çalışma ile sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetlerden sonra kandaki ghrelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (9). Bu çalışmada da konvulsiyon geçiren tek grup olan Aç-Skop-Yem grubundaki hayvanların plazma ghrelin düzeyleri Aç-SF-Yem ve Aç-Skop gruplarına göre daha düşük olduğu görülmektedir.

Ghrelin derişimi yemek yedikten yaklaşık bir saat sonra normal düzeyine inmektedir (24, 25). Aç-SF grubu ile Aç-SF-Yem grubu karşılaştırıldığında yem yiyen grupta ghrelin düzeyinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Yem alan gruptaki ghrelin derişiminin düşmesi beklendiğinden bu bulgu ilginçtir. Aç bırakılan hayvanların yem bulduğunda yem yemeye hemen başlamadığı ve az miktarda yem yediği gözlenmiştir. Bu davranış göz önüne alındığında, hayvanların tokluk oluşturacak ve dolayısı ile ghrelin derişimini düşürmeye yetecek miktarda yememiş olabilecekleri düşünülebilir. Çalışmamızda alınan doku ve kan örneklerinin yem yedikten yarım saat sonra alınmış olması nedeniyle ghrelin düzeyi henüz normal değerlere inmeden ölçüm yapmış olabileceğimiz ileri sürülebilir. Bu nedenler, Aç-SF-Yem grubunda plazma ghrelin düzeyinin yüksek bulunmasını açıklayabilir.

Ghrelinin peptidi yemek yemeyi, mide hareketlerini, enerji kullanımını ve iştahı düzenlemektedir. Açlık halinde plazmada yüksek bulunan ghrelinin düzeyi, yemek yedikten sonra azalmaktadır. Yapılan bir çalışmada insanlarda 72 saat süreli uzun açlık dönemi sonrasında, plazma ghrelinin derişiminin tokluk döneminde ölçülen bazal derişime göre anlamlı olarak değişmediği görülmüştür (19). Yani uzun süreli açlık sonrasında ghrelinin derişimi açlık süresiyle doğru orantılı olarak zamanla artmamaktadır. Ghrelinin ve yemek alımındaki ilişki, yemekten önceki ghrelinin artışı ile değil, yemek yedikten sonraki ghrelinin azalması ile alakalı olabilir. Ayrıca, kısa süreli açlıklarda ghrelinin seviyelerinin artmasına rağmen uzun süreli açlıklarda adaptif durum gelişiyor olabilir. Ancak bizim çalışmamızda uzun süreli açlık sonunda aç hayvanlarda toklara göre daha yüksek ghrelinin seviyesi olduğu görülmüştür.

Önceki yıllarda yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak, 24 saat aç bırakılan farelere skopolamin uygulanması ve ardından yem verilmesi ile % 83,3 konvulsiyon oluştuğu görülmüştür. Yakın zamanda yapılan çalışmalar ile iki saat açlık sonrasında % 50 sıklıkla konvulsiyon oluştuğu gösterilmiştir. Bu durumda konvulsiyon oluşumunun açlık süresi ile, ve dolayısıyla ghrelinin peptidi ile ilgili olmadığı düşünülebilir. Ancak yemden yoksun kalma ve katı yeme yeniden kavuşmanın yaratmış olduğu stres nedeniyle de konvulsiyon oluşumu ghrelinin düzeyi ile ilişkilendirilebilir. Akut stres (tail pinch) oluşturulduğunda plazma ghrelinin mRNA anlatımının anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (28). Kalori kısıtlaması, uzun süreli enerji bozukluğu ve azalmış yem alımı (anoreksia gibi) durumlarında da plazma ghrelinin derişimi artmaktadır. Bu durumda uzun süre yemden yoksun kalma stresi nedeniyle aç gruplarda ghrelinin düzeyinin yüksek olması beklenebilir. Aç hayvanlara atropin uygulanması ile ghrelinin derişiminin anlamlı derecede düştüğü göz önüne alındığında, antimuskarinik bir ilaç olan skopolamin uygulanması ile aç hayvanlarda ghrelinin derişiminin düşmesi beklenebilir. Beklendiği gibi, hem plazmada hem de dokuda SF uygulanan aç gruplarda ghrelinin seviyesi yüksek, buna karşın skopolamin uygulanan aç hayvanlarda ghrelinin derişiminin bu gruplara göre düşük olduğu görülmektedir.

Aç-SF-Yem grubunda yemle tekrar buluşmanın stresi ile ghrelinin seviyeleri yüksek bulunmuş olabilir, ancak Aç-Skop-Yem grubu da açlık sonrası yemle buluştuğundan aynı etki beklenmektedir. Buna karşın Aç-Skop-Yem grubundaki hayvanların doku ve plazma ghrelinin seviyelerinin düşük olması skopolaminin ghrelinin salınımını baskılıyor olmasıyla açıklanabilir. Ghrelinin seviyelerinin eksojen ghrelinin

uygulanması ile yükselmesi sonucunda nöbetlerin ortaya çıkma süresi ve nöbet oluşumu azalmaktadır (62, 83). Aç-Skop-Yem grubunda ghrelin seviyesi düşük olduğundan ghrelinin nöbetlerden koruyucu etkisini gösteremediği konvulsiyonların ortaya çıktığı ileri sürülebilir.

Aç farelerdeki plazma ve doku ghrelin düzeylerinin, Aç-SF ve Aç-SF-Yem gruplarında Aç-Skop ve Aç-Skop-Yem gruplarında göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ghrelinin hipotalamik nöronlarda oksijen ve glikoz yokluğunda oluşan apoptozu baskıladığı, kainik asitin neden olduğu toksisiteyi ise azalttığı gösterilmiştir (37). İskemik durumlarda kortikal nöronları hücre ölümüne karşı koruduğu (20) ve diğer dokularda da iskemi/reperfüzyon hasarını azaltarak koruyucu etki gösterdiği (66) bulunmuştur. Ayrıca sıçanlarda pentilentetrazol uygulanması ile oluşturulan epileptik nöbetlerde görülen oksidatif stres belirteçlerinin, ghrelin uygulanması ile azaldığı gösterilmiştir (61). Yüksek ghrelin düzeyleri pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetleri baskılamaktadır. Tüm bu bulgular göz önüne alındığında ghrelinin nöbetlerin ortaya çıkmasına neden olan dejenerasyonları azaltarak nöbetlerin oluşmasını baskıladığı düşünülebilir. Bizim çalışmamızda ise skopolamin uygulanması sonucu ghrelin seviyesi düştüğünden ghrelinin koruyucu ve antiepileptik etkisini gösteremediği ileri sürülebilir. Farklı bir çalışmada sıçanlarda pentilentetrazolle oluşturulan nöbetlerden sonra kandaki ghrelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (8). Aç-Skop-Yem grubundaki farelerin tümünün konvulsiyon geçirdiği göz önüne alındığında, Aç-SF-Yem grubuna göre doku ve plazma ghrelin düzeylerindeki anlamlı azalmanın bu bulgu ile benzer olduğu görülmektedir. Sıçanlardaki ve bu çalışmadaki bulguya karşın, epilepsili hastalarda plazma ghrelin derişiminin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (14). Ancak bu hastaların tümü son dört ayda nöbet geçirmeyen, interiktal dönemde ghrelin seviyeleri ölçülen hastalardır. Antiepileptik ilaçlar hipotalamo-hipofizer işlevleri etkilediğinden (45), ghrelin seviyesinin yüksek olmasında kullanılan antiepileptik ilaçların etkili olduğu ileri sürülebilir.

Ghrelin GHS-R tip 1a üzerinden büyüme hormonu salınımını artırmaktadır. Kindling ile oluşturulan epilepsi nöbetlerinde büyüme hormonu anlatımının arttığı gösterilmiştir (30). Ayrıca büyüme hormonunun etkisini gerçekleştirdiği sırada oluşan ERK fosforilasyonunun, epileptik nöbet oluşumuna neden olduğu ve nöbet oluşumu için ERK aktivasyonunun gerekli olduğu gösterilmiştir (51). Epilepsili hastalarda da serum

ghrelin düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (14). Ghrelin peptidinin antiepileptik olduğunu gösteren çalışmalara karşın, yüksek ghrelin düzeylerinin büyüme hormonu salınımını arttıracığından, epileptik nöbetlerin oluşumunda etkili olduğu düşünülebilir. Hipotalamusun arkuat çekirdeğinde görülen yüksek boyanma oranı Aç-Skop-Yem grubunda konvulsiyonların oluşumuna neden olduğu ileri sürülebilir.

Yapılan farklı çalışmalar ile hipotalamus, medulla oblongata ve spinal cordda ghrelin varlığı immunhistokimyasal olarak gösterilememiş iken (40), ghrelin varlığını hipotalamusta gösteren çalışmalar da mevcuttur (23, 82). Kullanılan antikörlerin farklılığı sebebiyle bu sonuçlar oluşmuş olabilir. Bizim çalışmamızda da amigdala ve hipotalamus bölgeleri incelenmiş, ancak sadece hipotalamusta ghrelin pozitif boyanan hücreler gözlemlenmiştir.

Hipotalamustaki immunohistokimyasal inceleme sonucunda, skopolamin uygulanan aç ve tok gruplardaki hayvanlarda SF uygulanan gruplara göre daha düşük oranda ghrelin pozitif hücre olduğu görülmektedir. Bu gruplarda görülen düşük ghrelin oranları, antimuskarinik etki nedeniyle ghrelin salınımının baskılanması ile uyumludur. Doku ve plazma ghrelin değerleri incelendiğinde Aç-SF-Yem grubunda yüksek olduğu görülen ghrelin derişimine karşın ARC'de yapılan incelemede en düşük seviyede ghrelin pozitif hücrenin bu grupta olduğu görülmektedir. Ayrıca konvulsiyon geçiren hayvanlarda da aynı zıt sonuçlar görülmektedir. Bu grupta da plazma ve dokuda ghrelin derişimleri düşük iken, hipotalamusta ghrelin pozitif boyanan hücre yüzdesi yüksektir. Bu farklılıkların nedeni daha spesifik bir alan olan ARC seçilerek sadece bu bölgedeki hücrelerin incelenmesi olabilir.

Deaçil ghrelin inaktif ghrelin olarak tanımlansa da, kardiyomiyositler, adipositler ve myelositler üzerinde biyolojik aktivite göstermektedir. Bu hücreler ghrelin reseptörü anlatımı yapmazlar, ancak ghrelinin bu hücrelerin membranına bağlanarak etki ettiği düşünülmektedir (76). Ayrıca henüz tanımlanamayan bir reseptör üzerinden inaktif olan bu ghrelin varyantının yiyecek alımı ve adipogenezi etkilediği de düşünülmektedir (72). Ancak deaçil ghrelinin büyüme hormonu salınımı üzerine etkili olduğunu gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Ghrelinin iştah üzerine etkisi deneysel olarak gözlemlenmiştir. Merkezi veya periferik deaçil ghrelin injeksiyonu ile aç farelerde yiyecek alımının ve mide boşalımının da azaldığı gösterilmiştir. Sıçanlarda ise, periton içine deaçil ghrelin uygulanması ile aç sıçanlarda yem alımı azalmış, serbestçe beslenen sıçanlarda ise karanlık fazdaki yem alımı azalmış ancak aydınlık fazdaki yem alımı azalmamıştır (38). Ghrelin gastroduodenal hareketleri aç ve tok durumlarda uyarır, deaçil ghrelin ise mide motilitesini açlık durumunda baskılar.

NPY ve AgRP nöronlarında aktivasyon oluştuğunda yem alımı artmaktadır (76). Ghrelinin arkuat çekirdekte NPY ve AgRP nöronlarına etki ederek, bu peptidlerin mRNA anlatımlarında artışa neden olduğu, yiyecek alımı üzerine olan etkisini bu şekilde gösterdiği düşünülmektedir (46, 53, 76). Eksojen ghrelin uygulaması da açlık duygusu ve yemek yeme isteğini bu yolla artırmaktadır (25, 67, 76). NPY antiepileptik etkisi olduğu gösterilen bir peptiddir (21) ve epileptik modellerde NPY mRNA'sının anlatımının arttığı gösterilmiştir (21, 29).

Ghrelin ve deaçil ghrelin üreten nöronların aksonal sonlanmaları NPY üreten nöronlar ile doğrudan sinaptik bağlantı yapar. Bu da hipotalamik yeme düzenlenmesinde rol almalarını sağlar (75, 76). NPY/AgRP ve POMC doğrudan paraventriküler çekirdeğe bilgileri iletirler. (6). İnaktif ghrelin olarak adlandırılan deaçil ghrelinin merkezi veya periferik uygulanması sonucu yiyecek alımının azaldığı gösterilmiştir (39). Açık ghrelinin periton içine uygulanması ile arkuat çekirdekte PVN'de c-fos anlatımının arttığı gösterilmiştir. Deaçil ghrelinin uygulanması ise sadece PVN'de c-fos artışına neden olmuştur. Ven içine uygulamayıldığında ise ghrelin formlarının GİS hareketliliğine etkisi şu şekildedir; açık ghrelin duodenumda aktiviteyi indüklerken, deaçil ghrelin ise antrumdaki aktiviteye engel olur. Yani ghrelinin 2 formu da GİS hareketleri üzerine zıt etkiye sahiptir (39). Bu da farklı yollar üzerinden etki ettiklerini düşündürür. Ghrelinin, c-fos anlatımına etkileri göz önüne alındığında sadece açık ghrelinin ARC'deki c-fos anlatımında etkili olduğu, bu şekilde de NPY nöronları üzerinden motor aktiviteyi arttırdığı düşünülebilir.

Önceki çalışmalarımız ile elde ettiğimiz bulgulara göre (yayınlanmamış), aç hayvanlara skopolamin uygulandıktan sonra yem yemenin c-fos anlatımını baskıladığı gösterilmiştir. Bu bulgu, çalışmamızda ortaya konan plazma ve doku ghrelin derişimleri birlikte değerlendirildiğinde ghrelin düzeyleri ile c-fos anlatımlarında paralellik olduğu

görülmektedir. Ghrelin artışının, nöronal aktiviteyi arttırarak konvulsiyonların oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülebilir.

Ghrelinin yemek alımını NPY ve AgRP'yi uyardığı elektrofizyolojik ve fos immunreaktif çalışmalar ile gösterilmiştir (6). Ghrelin uygulanması ile hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki NPY ve AgRP gibi nöropeptidlerin anlatımı düzenlenmektedir (53). Dorsal vagal komplekse yerleştirilen kanül yardımı ile enjekte edilen açıl ghrelin NPY ve AgRP mRNA anlatımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (46). Sıçanlarda yapılan bir çalışma ile pikrotoksin ile oluşturulan epileptik nöbetlerin, hipokampuste CA1 bölgesine NPY uygulanması ile baskılandığı gösterilmiştir (21). NPY'nin epileptik insanlarda dentat girusta oluşan hipereksitabiliteyi inhibe ettiği gösterilmiştir (64). Sıçanlarda hipokampal kesitlere NPY uygulanması sonucunda ise glutamat salınmasıyla oluşan sinaptik eksitasyonun baskılandığı bulunmuştur (21). Tüm bu sonuçlara bakıldığında ghrelinin antiepileptik aktivitesini NPY üzerinden gösterdiği düşünülebilir.

Bu tez çalışmasında, aç hayvanlara antimuskarinik uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların ghrelin peptidi ile ilişkisi ilk kez araştırılmıştır. Beklendiği gibi ghrelin plazma derişimi aç hayvanlarda, toklara kıyasla daha yüksek düzeydedir. Skopolamin uygulanması ile ghrelin salınımı baskılandığından, doku ve plazmada ghrelin derişimi düşük bulunmuştur. Ghrelinin epileptik nöbetlerin oluşumunda koruyucu etkisi olduğu gösterildiğinden ve bu çalışmada konvulsiyon geçiren hayvanların ghrelin derişimlerinin düşük bulunmasından dolayı ghrelinin koruyucu etkisinin baskılanmış olduğu düşünülebilir.

Epileptik nöbet oluşumunda ve açlığın düzenlenmesinde etkili bir çok mekanizma bulunduğundan, aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların oluşum mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Allen Institute for Brain Sciences. *Mouse Brain Reference Atlas* (İnternette). Erişim: 12.01.2011. <http://atlas.brain-map.org/atlas?#plate=100960264&atlas=1&structure=223>.
2. Al-Massadi O, Crujeiras AB, González RC, Pardo M, Diéguez C, Casanueva FF, et al. Age, sex, and lactating status regulate ghrelin secretion and GOAT mRNA levels from isolated rat stomach. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; **299**: 341-50.
3. An W, Li Y, Xu G, Zhao J, Xiang X, Ding L, et al. Modulation of ghrelin o-acyltransferase expression in pancreatic islets. *Cell Physiol Biochem* 2010; **26**: 707-16.
4. Anderson LL, Scanes CG. Nanobiology and physiology of growth hormone secretion. *Exp Biol Med* 2012; **237**: 126-42.
5. Andrews ZB. Central mechanisms involved in the orexigenic actions of ghrelin. *Peptides* 2011, **32**: 2248-55.
6. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 4753-8.
7. Aslan K, Bozdemir H, Sezer C, Peköz T. Yemek Yeme Epilepsisi: Olgu Sunumu. *Epilepsi* 2011; **17**: 9-13.
8. Ataie Z, Golzar MG, Babri S, Ebrahimi H, Mohaddes G. Does ghrelin level change after epileptic seizure in rats? *Seizure* 2011; **20**: 34-9.
9. Aydın S, Özkan Y, Caylak E, Aydın S. Ghrelin ve biyokimyasal fonksiyonları. *J Med Sci* 2006; **26**: 272-83.

10. Banks WA, Tscho M, Robinson SM, Heiman ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood- brain barrier is determined by its unique primary structure. *JPET* 2002; **302**: 822-7.
11. Barreiro ML, Gaytan F, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, et al. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol of Reproduction* 2002; **67**: 1768-76.
12. Baykan B, Bebek N, Gürses C, Gökyiğit A. *Epilepsi* (İnternette). Erişim: 18.05.2012. <http://www.itfnoroloji.org/epilepsi/Epilepsi.htm>
13. Bek S, Gökçil Z. Epilepsi ve askerlik. *Epilepsi* 2007; **13**: 12-6.
14. Berilgen MS, Mungen B, Ustundag B, Demir C. Serum ghrelin levels are enhanced in patients with epilepsy. *Seizure* 2006; **15**: 106-11.
15. Bilgin HM. Ghrelin; Gündemdeki hormon. *Dicle Tip Dergisi* 2006; **33**: 268-72.
16. Bozdemir H, Aslan K. *Refleks Epilepsiler* (İnternette). Erişim Tarihi: 04.06.2012. <http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=19541>.
17. Broglio F, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Muccioli G, Papotti M, et al. Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 3062-5.
18. Brunton L, Parker K, Blumenthal D, Buxton I. *Goodman&Gillman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. USA, McGraw-Hill Companies; 2008.
19. Chan JL, Bullen J, Lee JH, Yiannakouris N, Mantzoros CS. Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 335-43.
20. Chung H, Chung HY, Bae CW, Kim CJ, Park S. Ghrelin suppresses tunicamycin- or thapsigargin-triggered endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in primary cultured rat cortical neuronal cells. *J Endocrinol* 2011; **58**: 409-20.
21. Colmers WS, El Bahh B. Neuropeptide Y and epilepsy. *Epilepsy Currents* 2003; **3**: 53-8.

22. Costa JL, Naot D, Lin JM, Watson M, Callon KE, Reid IR, et al. Ghrelin is an osteoblast mitogen and increases osteoclastic bone resorption in vitro. *Int J Peptides* 2011; **2011**: Article ID 605193, 1-7.
23. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tscho M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; **37**: 649-61.
24. Cummings DE, Frayo RS, Marmonier C, Aubert R, Chapelot D. Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; **287**: 297-304.
25. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; **50**: 1714-9.
26. Currie PJ, Mirza A, Fuld R, Park D, JR Vasselli. Ghrelin is an orexigenic and metabolic signaling peptide in the arcuate and paraventricular nuclei. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; **289**: 353-8.
27. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; **141**: 4255-61.
28. Diz-Chaves Y. Ghrelin, appetite regulation, and food reward: Interaction with chronic stress. *Int J Peptides* 2011; **2011**: Article ID 898450, 1-11.
29. Dube C. Neuropeptide Y: Potential role in recurrent developmental seizures. *Peptides* 2007; **28**: 441-6.
30. El-Khayat HA, Aly GS, Tomoum HY, Mamdouh RM, Al-Badani AK, Mohamed EI. Growth hormone levels in children and adolescents with epilepsy. *EJPN* 2010; **14**: 508-12.

31. Enginar N, Nurten A, Karamursel Y, Zengin A, Baran E. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Evaluation of the sedative effect in the suppression of convulsions. *Epilepsy Res* 2010; **89**: 2-6.
32. Enginar N, Nurten A, Ozunal ZG, Zengin A. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: the effect of duration of food deprivation. *Epilepsia* 2009; **50**: 143-6.
33. Enginar N, Nurten A, Yamanturk P, Koyuncuoglu H. Scopolamine-induced convulsions in food given fasted mice: Effects of physostigmine and MK-801. *Epilepsy Res* 1997; **28**: 137-42.
34. Enginar N, Nurten A, Yamanturk-Celik P, Acikmese B. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Effects of glucose intake, antimuscarinic activity and anticonvulsant drugs. *Neuropharmacology* 2005; **49**: 293-99.
35. Enginar N, Yamanturk P, Nurten A, Koyuncuoglu H. Scopolamine-induced convulsions in food given to fasted mice: Effects of clonidine and tizanidine. *Epilepsy Res* 1999; **35**: 155-60.
36. Enginar N, Yamanturk P, Nurten A, Nurten R, Koyuncuoglu H. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Determination of blood glucose levels, [3H] glutamate binding kinetics and antidopaminergic drug effects. *Neuropharmacology* 2003; **44**: 199-205.
37. Frago LM, Baquedano E, Argente J, Chowen JA. Neuroprotective actions of ghrelin and growth hormone secretagogues. *Frontiers in Mol Neurosci* 2011; **4**: 1-11.
38. Fujimiya M, Asakawa A, Ataka K, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin, and obestatin: Regulatory roles on the gastrointestinal motility. *Int J Peptides* 2010; **2010**: Article ID 305192, 1-8.

39. Fujimiya M, Asakawa A, Fujino K, Chen CY, Inui A. Acylated ghrelin and des-acyl ghrelin exert different effects on the gastrointestinal motility in conscious rats. *Int Congress Series* 2006; **1287**: 361-7.
40. Furness JB, Hunne B, Matsuda N, Yin L, Russo D, Kato I, et al. Investigation of the presence of ghrelin in the central nervous system of the rat and mouse. *Neuroscience* 2011; **193**: 1-9.
41. Ganapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 2988-91.
42. Ghersi MS, Casas SM, Escudero C, Carlini VP, Buteler F, Cabrera RJ, et al. Ghrelin inhibited serotonin release from hippocampal slices. *Peptides* 2011; **32**: 2367-71.
43. Grönberg M, Tsolakis AV, Magnusson L, Janson ET, Saras J. Distribution of obestatin and ghrelin in human tissues: Immunoreactive cells in the gastrointestinal tract, pancreas, and mammary glands. *J Histochem Cytochem* 2008; **56**: 793-801.
44. Gualillo O, Caminos JE, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001; **142**: 788-94.
45. Harden C. Interaction between epilepsy and endocrine hormones: Effect on the lifelong health of epileptic women. *Adv Stud Med* 2003; **3**: 720-5.
46. Hong-Zai G, Qing-Chun L, Zheng-Yao J. Ghrelin acts on rat dorsal vagal complex to stimulate feeding via arcuate neuropeptide Y/Agouti-related peptide neurons activation. *Acta Physiol Sinica* 2010; **62**: 357-64.
47. Hosoda H, Kangawa K. The autonomic nervous system regulates gastric ghrelin secretion in rats. *Reg Peptides* 2008; **146**: 12-8.
48. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Ders Notları. *Antiepileptik Drogalar* (İnternette). Erişim: 04.06.2012. http://www.istanbul.edu.tr/itf/itfогrenci/attachments/079_antiepileptik.drogalar.pdf

49. Kabay SC, Karaman HÖ, Çelikkaş E, Erdiñç O. Refleks epilepsiler: Gözden geçirme. *Epilepsi* 2008; **14**: 207-12.
50. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. New York, McGraw-Hill; 2000.
51. Kato K, Suzuki M, Kanno H, Sekino S, Kusakabe K, Okada T, et al. Distinct role of growth hormone on epilepsy progression in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurochem* 2009; **110**: 509-19.
52. Kaya Y. Febril ve afebril konvulsiyon geçiren olgularda serum prolaktin seviyesinin değerlendirilmesi. TC. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık tezi. İstanbul 2005.
53. Kola B, Korbonits M. Shedding light on the intricate puzzle of ghrelin's effects on appetite regulation. *J Endocrinol* 2009; **202**: 191-8.
54. Kosowicz J, Baumann-Antczak A, Zamysłowska H, Sowinski J. Technological difficulties in ghrelin and obestatin assays. *Polish J Endocrinol* 2011; **62**: 336-9.
55. Mizutani M, Atsuchi K, Asakawa A, Matsuda N, Fujimura M, Inui A, et al. Localization of acyl ghrelin and des-acyl ghrelin-immunoreactive cells in the rat stomach and their responses to intragastric pH. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; **297**: 974-80.
56. Morillo-Bernal J, Fernandez-Santos JM, De Miguel M, Garcia-Marin R, Gordillo-Martinez F, Diaz-Parrado E, et al. Ghrelin potentiates TSH-induced expression of the thyroid tissue-specific genes thyroglobulin, thyroperoxidase and sodium-iodine symporter, in rat PC-C13 Cells. *Peptides* 2011; **32**: 2333-9.
57. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2001; **280**: 1483-7.

58. Nurten A, Ozen I, Karamursel S, Kara I. Electroencephalographic characterization of scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake. *Seizure* 2006; **15**: 509-19.
59. Nurten A, Enginar N. The evaluation of antimuscarinic-induced convulsions in fasted rats after food intake. *Epilepsy Res* 2006; **72**: 171-7.
60. Nurten A, Ozerman B, Ozen I, Kara I. The role of solid food intake in antimuscarinic-induced convulsions in fasted mice. *Epilepsy Behav* 2009; **15**: 142-5.
61. Obay BD, Tasdemir E, Tumer C, Bilgin HM, Atmaca M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylentetrazole induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008; **29**: 448-55.
62. Obay BD, Tasdemir E, Tümer C, Bilgin HM, Sermet A. Antiepileptic effects of ghrelin on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Peptides* 2007; **28**: 1214-9.
63. Panayiotopoulos CP. Clinical Aspects of the Diagnosis of Epileptic Seizures and Epileptic Syndromes. In *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management* (Internet). Erişim: 14.05.2012, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2609/>
64. Patrylo PR, Van Den Pol AN, Spencer DD, Williamson A. NPY inhibits glutamatergic excitation in the epileptic human dentate gyrus. *J Neurophysiol* 1999; **82**: 478-83.
65. Portelli J, Michotte Y, Smolders I. Ghrelin: An emerging new anticonvulsant neuropeptide. *Epilepsia* 2012; **53**: 585-95.
66. Rajan D, Wu R, Shah KG, Jacob A, Coppa GF, Wang P. Human ghrelin protects animals from renal ischemia-reperfusion injury through the vagus nerve. *Surgery* 2012; **151**: 37-47.
67. Reimer RA, Maurer AD, Lau, DCW, Auer RN. Long-term dietary restriction influences plasma ghrelin and GOAT mRNA level in rats. *Physiol Behav* 2010; **99**: 605-10.

68. Sakata I, Sakai T. Ghrelin cells in the gastrointestinal tract. *Int. J Peptides* 2010; **2010**: Article ID 945056, 1-7.
69. Saltık S. *Akut Nöbet ve Tedavisi* (İnternette). Erişim: 18.05.2011. <http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/26/2613SS.pdf>.
70. Sander J, Shorvon SD. Incidence and prevalence studies in epilepsy and their methodological problems: A review. *JNNP* 1987; **50**: 829-39.
71. Schwarz NA, Rigby BR, Bounty PL, Shelmadine B, Bowden RG. A review of weight control strategies and their effects on the regulation of hormonal balance. *J Nutr Metab* 2011; **2011**: 1-15.
72. Szczepankiewicz D, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmerek E, Zimmermann D, Andrzejko K, Kaczmarek P, et al. Importance of ghrelin in hypothalamus – pituitary axis on growth hormone release during normal pregnancy in the rat. *J Physiol Pharmacol* 2010; **61**: 443-9.
73. Şenol MG, Gün İ, Toğrol E, Olgun N, Saraçoğlu M. Epilepsi hastalarında antiepileptik ilaç tedavisine uyumu etkileyen etmenler. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; **11**: 21-31.
74. Tolle V, Bassant MH, Zizzari P, Poindessous-Jazat F, Tomasetto C, Epelbaum J, et al. ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behavior, and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinol* 2002; **143**: 1353-61.
75. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MS, Shimbara T, et al. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinol* 2003; **144**: 1506-12.
76. Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y, Smith RG, Yamanaka A, Sakurai T, et al. Des-acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinol* 2006; **147**: 2306-14.
77. Tural Ü. Oreksinler ve yeme davranışının kontrolü. *Bull Clin Psychopharmacol* 2000; **10**: 160-5.

78. Türk Epilepsi ile Savaş Derneği, *Epilepsiyi sınıflandırma* (İnternette). Erişim: 06.06.2012. <http://www.turkepilepsi.org.tr/page.aspx?menu=626>.
79. Üzüm G. Epileptik nöbet oluşumunda hücrenel mekanizmalar. *İst Tıp Fak Mecmuası* 1998; **61**: 512-6.
80. Westerink BHC 1997, Kaynak: Enginar N, Nurten A. Seizures triggered by food intake in antimuscarinic treated fasted animals: Evaluation of the experimental findings in terms of similarities to eating-triggered epilepsy. *Epilepsia* 2010; **51**: 80-4.
81. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Reg Peptides* 2002; **107**: 63-9.
82. Wortley KE, Anderson KD, Garcia K, Murray JD, Malinova L, Liu R, et al. Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference. *PNAS* 2004; **101**: 8227-32.
83. Xu J, Wang S, Lin Y, Cao L, Wang R, Chi Z. Ghrelin protects against cell death of hippocampal neurons in pilocarpine-induced seizures in rats. *Neurosci Letters* 2009; **453**: 58-61.
84. Yiğit A. Epilepside Tedavi İlkeleri. İçinde Bora İ, Yeni SN, Gürses C. editor. *Epilepsi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2008. s. 613-26.
85. Zhang W, Majumder A, Wu X, Mulholland MW. Regulation of food intake and body weight by recombinant proghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; **297**: 1269-75.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 63

29/04/2010

Sn. Prof. Dr. Asiye Nurten
İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

Karar No: 63
Başvuru Tarihi: 21/04/2010

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Uz. Tıp. Bio. Aslı ZENGİN'e ait "Açlık sonrası skopolamin uygulanması ve ardından yem verilmesiyle oluşan konvulsiyonların ghrelin düzeyiyle ilişkisi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Prof. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

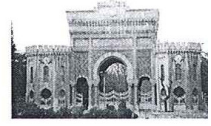
Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 8

Tarih: 29 / 07/2010


Konu: Proje Başlığının Değiştirilmesi

Sayın Prof. Dr. Asiye NURTEN

İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

Sinirbilim A.B.D.

18.06.2010 tarihli yazınız Etik Kurul'umuzun 24.06.2010 tarihli toplantısında görüşülmüş ve proje başlığı değişikliğiniz oy birliği ile kabul edilmiştir. Gereğini bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ. Ü. HADYEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Aslı	Soyadı	Zengin Türkmen
Doğ.Yeri	Bakırköy	Doğ.Tar.	02/02/1982
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	50401693110
Email	aslizenginn@yahoo.com	Tel	5356589478

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü/Sinirbilim Anabilim Dalı/ İleri Nörolojik Bilimler Programı	2012
Yük.Lis.	İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü/Sinirbilim Anabilim Dalı/ Sinirbilim Programı	2007
Lisans	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi/Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	2004
Lise	Pertevniyal Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Yeni Yüzyıl Üniversitesi	2011-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	iyi	68,75	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	87,87	88,43	88,46
(Diğer)Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office Word	İyi
MS Office Excel	İyi
MS Office Power Point	İyi
Adobe Photoshop	İyi
SPSS	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayımlar

1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

1. Enginar N, Nurten A, Özunal ZG, **Zengin A**. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: The effect of duration of food deprivation. *Epilepsia*, 50(1) : 143-6, 2009. *Atf Sayısı: 2*
2. Kucukali CI, Aydın M, Ozkok E, Bilge E, Orhan N, **Zengin A**, Kara I. Do schizophrenia and bipolar disorders share a common disease susceptibility variant at the MMP3 gene? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 33(3) : 557-61, 2009. *Atf Sayısı:2*
3. Kucukali CI, Aydın M, Ozkok E, Bilge E, **Zengin A**, Cakir U, Kara I. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in schizophrenia, bipolar disorders, and their first-degree relatives. *Psychiatr Genet*, 20(1) : 14-9, 2010. *Atf Sayısı:5*
4. Kilic G, Kucukali CI, Orhan N, Ozkok E, **Zengin A**, Aydın M, Kara I. Are GRIK3 (T928G) gene variants in schizophrenia patients different from those in their first-degree relatives? *Psychiatry Res*, 175(1-2) : 43-46, 2010.
5. Enginar N, Nurten A, Karamürsel Y, **Zengin A**, Baran E. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Evaluation of the sedative effect in the suppression of convulsions. *Epilepsy Res*, 89(1) : 2-6, 2010.

6. Emel E, Ergün SS, Parman YG, Gürsoy EB, Kotan D, **Zengin A**, Nurten A. Effects of IGF-I and platelet rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. Journal of Neurosurgery, 114: 522-8, 2011. *Atf Sayısı:3*

2. Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. Tok S, **Zengin A**, Nurten A, Nurten R. The effect of Diphtheria Toxin and antioxidants on neuromuscular junction of Guinea Pig. 15th National Biomedical Engineering Meeting (BIYOMUT), S:1- 4, 21-24 Nisan 2010.

3. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. Orhan N, Kucukali IC, **Zengin A**, Aydin M, Ozkok E, Kara I. Are angiotensin-converting enzyme gene variations risk factors for development of schizophrenia? International Journal of Medical Genetics vol 9, 3&4, Supplement 7th Balkan Journal of Human Genetics, 2006.

2. Orhan N, **Zengin A**, Ozkok E, Aydin M, Ozbek Z, Nurten A, Ozerman B, Kucukali CI, Kara I. Changes in complex I activity in hippocampus region of brain after ischemia. International Journal of Stroke vol 1, Supplement 1, p154, Nov 2006, Joint World Congress on Stroke: Int Stroke Soc, Med Stroke Soc and Southern African Found, 26-29 October 2006.

3. Ozkok E, Orhan N, **Zengin A**, Kucukali CI, Aydin M, Ozbek Z, Kara I. Association of paraoxonase1 55/192 gene variants with bipolar disorders. J Neurochem vol 101, supplement 1, Abstracts of the 17th ESN Meeting-3rd Conference on Advances in Molecular Mechanisms and Disorders, Salamanca, Spain, PS2-22, 19-22 May 2007.

4. Kara I, Kucukali CI, Orhan N, **Zengin A**, Ozkok E, Kılıc G, Aydin M. Grik3 polymorphism supporting glutamatergic dysfunction in schizophrenic patients and their first degree relatives. J Neurochem, vol 101, Supplement 1, Abstracts of the 17th ESN Meeting-3rd Conference on Advances in Molecular Mechanisms and Disorders, Salamanca, Spain, PS2-21, 19-22 May 2007.

5. **Zengin A**, Tekin D, Yildiz R.B, Kayacilar C, Nurten A, Kara I. Does resveratrol have protective effects on ca1 region after ischemia/reperfusion injury? International Journal of Stoke, vol 3, supplement 1, p172, Abstracts of the 6th World Stroke Congress, Vienna, Austria. PO01-308, 24-27 September 2008.
6. Tekin D, **Zengin A**, Kayacilar C, Yildiz RB, Nurten A, Kara I. The effect of melatonin on electrical activity of the hippocampal CA1 areas in rats subjected to cerebral ischemia/reperfusion. International Journal of Stoke, vol 3, Supplement 1, p172, Abstracts of the 6th World Stroke Congress, Vienna, Austria. PO01-307, 24-27 September 2008.
7. Tekin D, **Zengin A**, Yıldız RB, Kayacilar C, Nurten A, Kara I. Effects of L-Arginine on Electrical Activity in Rats Subjected to Cerebral Ischemia-Reperfusion. Xth international Conference on Cognitive Neuroscience Abstract Book, p183, Bodrum, Turkey. P003, 1-5 September 2008.
8. **Zengin A**, Tekin D, Kayacilar C, Yıldız RB, Nurten A, Kara I. The Electrical Activity of CA1 Areas in Acutely 7-Nitroindazole Treated Rats in Ischemia-Reperfusion. Xth international Conference on Cognitive Neuroscience Abstract Book, p184, Bodrum, Turkey. P004, 1-5 September 2008.
9. **Zengin A**, Nurten A. Effects of catechin and epicatechin on rat phrenic nerve hemidiaphragm preparation. The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology, Volume 19, Supplement 3, Page S277, 2009.
10. Kayacilar C, Tekin D, **Zengin A**, Nurten A, Kara I. Neuroprotective effect of timing for vinpocetine treatment on cerebral ischemia/reperfused rats. The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology Volume 19, Supplement 3, Page 274, 2009.
11. Nurten A, **Zengin A**, Ozunal Z.G, Ozturk E, Enginar N. The evaluation of the effect of food deprivation on the development of morphine dependence in rats. The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology Volume 19, Supplement 3, Page S664, 2009.

12. Nurten A, **Zengin A**, Kayacilar C, Kara I. How VEP responses change in Ischemia/Reperfusion induced rats with vinpocetine treatment. The 2nd international biophysics congress and biotechnology at GAP & 21st national biophysics congress. Diyarbakir, Turkey. P39, 5-9 October 2009.
13. Tok S, **Zengin A**, Nurten A, Nurten R. The effect of diphtheria toxin on different tissues of guinea pig and the role of antioxidants on this effect. The 2nd international biophysics congress and biotechnology at GAP & 21st national biophysics congress. P65, Diyarbakir, Turkey. 5-9 October 2009.
14. Emel E, Ergün SS, Parman YG, Gürsoy EB, Kotan D, **Zengin A**, Nurten A. Effects of IGF-I and platelet rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. 6th Black Sea Neurological Congress, OP49, Page 50, Harbiye Culturel Center, Istanbul, Turkey. 16-18 October 2009.
15. Aydin M, Ozkok E, Orhan N, Kucukali CI, **Zengin A**, Kayacilar C, Nurten A, Kara I. Effect of vinpocetine on mitochondrial complexes during ischemia/ reperfusion. 6th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, PO-01, International Conference room Taipei Medical University, Taiwan, 30 Oct-1 Nov, 2009.

4. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. **Zengin A**, Ozunal ZG, Nurten A, Enginar N. The effect of familiar enviroment on scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake. Neuroanatomy Vol 6, Supp 1, 6th National Congress of Neuroscience, Safranbolu/Karabük, P 45, 9-13 Nisan 2007.
2. Orhan N, Kucukali IC, Aydin M, **Zengin A**, Ozkok E, Kara I. Relationship between matrix metalloproteinase-3 and schizophrenia. Neuroanatomy Vol 6, Supp 1, 6th National Congress of Neuroscience, Safranbolu/Karabük, P 40, 9-13 Nisan 2007.
3. Karamürsel Y, **Zengin A**, Nurten A, Enginar N. Farelerde Açlık Sonrası Skopolamin Uygulanımı ve Yem Verilmesi ile Ortaya Çıkan Konvulsiyonlara Opioderjik ve Glutamaterjik Sistemlerin Etkisi. Turkish Journal of Neurology, 15 (1), p213-214,

Abstracts of the 8th Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, Bolu, Türkiye. P27- 18-22 Nisan 2009.

4. Emel E, Ergün SS, Parman YG, Gürsoy EB, Kotan D, **Zengin A**, Nurten N. Igf-I ve trombositin zengin plazmanın siyatik sinir “crush” yaralanmasına olan etkilerinin karşılaştırılması. 31. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ulusal Kongresi Bildiri özetleri, Hilton Otel, Adana, 255, 17-21 Ekim 2009.

5. **Zengin A**, Nurten A. Resveratrolün sıçan frenik sinir-hemidiyafram preparatına etkisi. Turkish Journal of Neurology, 16 (1), p243, Abstracts of the 9th Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, İstanbul, Türkiye. P-115, 13-17 Mart 2010.

6. Tok S, **Zengin A**, Nurten N, Nurten R. Kobay sinir-kas kavşağında difteri toksini ve antioksidanların etkisi. 15. Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı. Antalya, Türkiye. P-113, 21-24 Nisan 2010.

7. Aslankara M, Kayacılar C, **Zengin A**, Ocak H, Nurten A. Sıçanların farklı östral evrelerinde uygulanan akut kuyruk şoku stresinin teta dalgaları üzerine etkisi. 10. Ulusal Sinirbilim Kongresi, İstanbul, P78, 171, 9-12 Nisan 2011.

8. İnan B, Ergün SS, Nurten A, **Zengin A**, Bilgiç B, Seçkin Ş, Küçükgergin C, Erkalp K. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Giderilmesinde Silastozol ve Diltiazem Hidroklorürün Etkileri: Deneysel Çalışma. Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Derneği 33. Kurultayı, OP115, İzmir, 14-18 Eylül 2011.

9. Saygı M, **Zengin Türkmen A**, Nurten A, Solakoğlu S, Karabulut E, Bilge E, Allahverdiyev O, Güngör M. Rotenon Modeli ile Parkinson Oluşturulan Sıçanlarda Davranışsal Değişikliklerin Değerlendirilmesi ve Bu Modelde Yeşil Çay Polifenollerinin Etkililiğinin Araştırılması. Türk Farmakoloji Derneği 21.Ulusal Farmakoloji Kongresi, Eskişehir, P59, 221, 19-22 Ekim 2011.

5. Uluslararası atıflar

Web of Science değerlendirmesine göre: 12 atıf

6. Ulusal & Uluslararası Projeler

1. Aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların plazma ve doku ghrelin düzeyleri ile ilişkisinin araştırılması. İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Proje No: 7744.
2. Farelerde farklı açlık süreleri sonrası skopolamin uygulanımı ve yem verilmesi ile ortaya çıkan konvulsiyonların hipotalamusta c-fos anlatımına etkisi. TÜBİTAK Proje No: 108S037.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Sinema, seyahat, spor.