



T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farelerde Kafein ile Lokomotor Aktivite Duyarlılaşmasına  
Oreksin A'nın Etkisi**

**Elif SAKIZ**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY**

**İSTANBUL – 2017**

T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farelerde Kafein ile Lokomotor Aktivite Duyarlılaşmasına  
Oreksin A'nın Etkisi**

**Elif SAKIZ**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY**

**İSTANBUL – 2017**

**EK 1. TEZ ONAY**

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

Anabilim Dalı : Nörobilim Anabilim Dalı  
Program : Nörobilim Tezli Yüksek Lisans Programı  
Öğrenci No : 154202003  
Öğrenci Adı Soyadı : Elif SAKIZ

“Farelerde Kafein ile Lokomotor Aktivite Duyarlılaşmasına Oreksin A’nın Etkisi” isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından 07.09.2017 tarihinde yapılan sınavda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Muhsin Konuk  
(Üsküdar Üniversitesi)

Danışman : Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY  
(Üsküdar Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Korkut Ulucan  
(Marmara Üniversitesi)

**ONAY**

Bu tez, yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

**Prof.Dr.Nilgün SARP  
Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Bu çalışmada, hipotalamustan salıverilen yeni bir nöropeptid olan oreksin A'nın kafein ile indüklenen lokomotor duyarlılaşma üzerine etkisi araştırılmıştır. Locomotor duyarlılaşma psikofarmakoloji çalışmalarında deney hayvanlarında ilaç ve çeşitli kimyasalların stimulan veya sedatif etkilerini değerlendirmek için sıklıkla kullanılan bir davranış testi olan açık alanda lokomotor aktivite (LMA) ölçümleri ile değerlendirildi. Denek olarak erkek ve yetişkin Balb-c fareler (30-40 g) kullanıldı. Fareler rastgele yöntemle her bir grupta 7-8 denek olacak şekilde farklı gruplara ayrıldı. Locomotor duyarlılaşmayı gözlemlemek için farelere yirmi bir gün boyunca birer gün aralıklarla kafein (10 mg/kg) intraperitoneal (ip) yoldan uygulandı. Kontrol grubuna ise salin enjeksiyonu gerçekleştirildi. Enjeksiyonun ardından deneklerin lokomotor aktiviteleri kaydedildi. İstatiksel olarak anlamlı lokomotor duyarlılaşma görüldükten sonra oreksinin etkileri incelendi. Bunun için 10 µg/kg oreksin (ip) enjekte edildi. Oreksin enjeksiyonunun hemen ardından deneklerin lokomotor aktiviteleri 30 dakika boyunca kaydedildi. Kafein (10 mg/kg) dozunda farelerde kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde lokomotor duyarlılaşma oluşturdu. Kafein ile indüklenen lokomotor duyarlılaşma oreksin (10 µg/kg) verilmesiyle önemli ölçüde düştü, ancak kontrol grubu ve tek başına oreksin verilen gruba göre hala yüksekti. Sonuç olarak, bulgularımız beyinde önemli bir nöropeptid olarak kabul edilen oreksinin kafeinin psikostimulan etkilerini test edilen dozda bir miktar azalttığına ve kafeine duyarlılaşma ile oreksinerjik sistem arasında bir etkileşme olabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Oreksin, Kafein, Locomotor Aktivite, Duyarlılaşma, Fare

## ABSTRACT

### **The Influence of Orexins on Caffeine induced Locomotor Activity Sensitization**

The impact of Orexin A, a new neuropeptide that is released from hypothalamus, on locomotor sensitization induced with caffeine has been investigated in this study. It has been examined with locomotor activity (LMA) measurements in open area in order to assess the stimulant and sedative effects of drug and various chemicals in experimental animals in the studies of locomotor sensitization psychopharmacology often used as a behavioural test. Male and adult Balb-c mice (30-40 g) have been used as experimental animal. Mice have been categorized into different groups with up to 7-8 mice along with random methodology. (10 mg/kg) caffeine has been applied to the mice through the intraperitoneal (ip) every other day during 21 days of period in order to observe the locomotor sensitization. Saline injection has been applied to the control group. The locomotor activities of experimental animals after the injection have been recorded. The impacts of orexin have been examined after observing statistical meaningful locomotor sensitization. 10 µg/kg orexin (ip) has been injected in order to achieve this goal. Soon after the injection of orexin, the locomotor activities of experimental animals have been recorded for 30 minutes. The locomotor sensitization has occurred in the mice applied caffeine (10mg/kg) in a considerable level in comparison with the control group. The locomotor sensitization induced with caffeine has been dramatically dropped with the delivery of in orexin (10 µg/kg); however, it was still high compared to the control groups. As a conclusion, our findings indicate that orexin, accepted as significant neuropeptide in brain, decreases the caffeine psychostimulant impacts a little tested with 10 µg/kg and the study demonstrates that there is an interaction between caffeine sensitization and orexin energetic system.

**Key words:** Orexin-A, Caffeine, Locomotor Activity, Sensitization, Mice

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca, bilgisi, deneyimi, hoşgörüsü ve sabrıyla bana yol gösteren ve her türlü desteğini esirgemeyen, değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. İ. Tayfun Uzbay'a;

Tezimin başlangıcından sonuna kadar sabrı, güler yüzü ve yardımları için Yrd. Doç. Dr. Pınar Öz'e ve Vet. Hek. Burcu Çevreli'ye;

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, sevgili arkadaşım Fatmanur Akpunar'a ve kardeşim Edanur Sakız'a;

Yüksek lisans eğitimin boyunca, bilgi ve tecrübelerini paylaşan bütün hocalarıma;

Canım Anneme ve Babama;

Sonsuz sevgilerimi sunar, teşekkür ederim...

Elif SAKIZ



## EK 2. BEYAN FORMU

Bu çalışmanın kendi tez çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamada etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

07.09.2017

ELİF SAKIZ



## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY .....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
EK 2. BEYAN FORMU.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Kafein ve Metilksantinler .....	2
2.1.1. Metilksantinlerin Farmakolojik Etkileri .....	3
2.1.2. Metilksantin (Kafein) Bağımlılığı .....	5
2.2. Lokomotor Aktivite.....	6
2.3. Duyarlılaşma .....	7
2.4. Oreksinler.....	8
2.4.1. Oreksinlerin Keşfi.....	8
2.4.2. Oreksinlerin Yapısı ve Preprooreksin .....	9
2.4.3. Santral Oreksin .....	11
2.4.4. Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri .....	12
2.4.5. Açlık ve Oreksinler .....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	15
3.1. Deney Hayvanları ve Etik Koşullar .....	15
3.2. Laboratuvar .....	15
3.3 Kullanılan Kimyasallar .....	15
3.4 Lokomotor Aktivite Ölçümü.....	15
3.5. Sonuçların İstatistiksel Analizi .....	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. Kafeinin Lokomotor Aktivite Üzerine Etkileri.....	18
4.2. Salin ile Salin + Oreksin Grupları Arasında Karşılaştırma.....	19
4.3. Oreksin A'nın Lokomotor Aktiviteye etkisi .....	20
4.4. Tüm Gruplar Arası Karşılaştırma.....	20
5. TARTIŞMA.....	22



6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	25
ETİK KURUL KARARI .....	26
7. KAYNAKLAR .....	27
ÖZGEÇMİŞ .....	32



## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1:** Kafeinin kimyasal yapısı

**Şekil 2:** Oreksin-A ve Oreksin-B'nin Amino Asit Dizilimleri

**Şekil 3:** Oreksin-A'nın Santral ve Periferel Dokulardaki Fonksiyonları

**Şekil 4:** LMA ölçüm cihazı

**Şekil 5:** Kafeinin 10mg/kg dozunun LMA üzerine etkisi

**Şekil 6.** Salin ve Salin + Oreksine Grupları Arasında Karşılaştırma

**Şekil 7.** Grupların 23 gün boyunca LMA değişimleri



## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1:** Friedlieb Ferdinand Runge

**Resim 2:** Hermann Emil Fischer



## TABLÖLAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Kontrol Grupları LMA Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

**Tablo 2.** Kafein+ Oreksin İle Salin+ Oreksin LMA Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

**Tablo 3.** Tüm grupların günlere göre lokomotor aktivite değerleri ortalamaları



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**SN:** Substantia nigra

**GP:** Globus pallidus

**T:** Talamus

**S:** Striatum

**VTA:** Ventral tegmental alan

**H:** Hipokampus

**LSD:** Liserjik asid dietil esterinin

**PVN:** Paraventiküler Nükleus

**NPFUAM:** Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

**OXA:** Oreksin A

**OXB:** Oreksin B

**LMA:** Lokomotor Aktivite

**IR:** İmmunoreaktif

**MSH:** Melanin Uyarıcı Hormon

**CART:** Kokain Amfetamin ile Düzenlenen Transkript

**CSF:** Serebrospinal Sıvı

**POMC:** Proopiomelanokortin

**NPY:** Nöropeptit Y

**AGRP:** Aguti İlişkili Peptit

**MCH:** Melanin Konsantre Edici Hormon

**LHA:** Lateral Hipotalamik Alan

**EEG:** Elektroensefalografi

**HPCC:** Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

**cAMP:** Siklik Adenozin Monofosfat

**OX1R:** Oreksin Reseptör 1

**OX2R:** Oreksin Reseptör 2

**icv:** İntraserebro ventriküler

**ip:** İntraperitoneal

**mg:** Miligram

**µg:** Mikrogram

## 1. GİRİŞ

Kafein ksantin stimulanlar veya metilksantinler olarak bilinen ilaç grubunun en iyi tanınan üyesidir (Uzbay, 2015). Kafein gibi bağımlılık yapıcı maddelerin tekrarlı şekilde verilmeleri sonucunda, psikomotor aktivitelerde artış gözlenir (Domino, 2001). Özellikle lokomotor aktivite (LMA), dönme hareketi ve stereotipi gibi davranışlarda gözlenen bu artış, davranışsal duyarlılaşma gelişmesi olarak kabul edilir (Robinson, 1993).

Oreksinler, hipotalamustan salınan ve genleri iştah merkezi olarak bilinen lateral hipotalamusta eksprese edilen bir nöropeptid ailesidir. Oreksin-A, 33 amino asit içeren bir peptid olup, öncül formu olan, preprooreksinden meydana gelir (Siegel ve ark, 2001; Kirchgessner ve ark, 2002; Bülbül, 2008). Oreksinler besin tüketimi ve iştah ile ilgili olmakla birlikte, uyku/uyanıklık, dikkat, öğrenme, hafıza, ısı regülasyonu, kan basıncının düzenlenmesi üzerine de etkilidir (Samson ve ark, 2000; Kukkonen ve ark, 2002). Oreksin sentezinin en önemli uyarınının açlık olduğu bilinmektedir. Açlık uygulamalarının kemirgende hipotalamik alandaki oreksin-A, oreksin-B ve preprooreksin mRNA miktarını, oreksin immünoreaktif (IR) nöron sayısını, insanda ve sıçanda plazma oreksin-A seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (Kirchgessner ve Liu, 1999; Mondal ve ark, 1999).

Bu çalışmada 30-40 g erkek Balb-c fareler kullanıldı ve çalışma üç grup halinde gerçekleşti. Gruplardan birine kafeine duyarlılaşmanın gerçekleşmesi için 10 mg/kg dozda kafein intraperitoneal yolla ve gün aşırı verilerek lokomotor aktivite (LMA) ölçüldü. Kontrol grubundaki bir grup fareye ise salin enjeksiyonu gerçekleştirildi. Enjeksiyonun ardından deneklerin lokomotor aktiviteleri kaydedildi. Daha sonra gruplarda ikisine oreksin uygulaması yapıp, kafein duyarlılaşmasına etkisi kontrol gruplarıyla kıyaslama yapılarak incelendi.

## 2. GENEL BİLGİLER

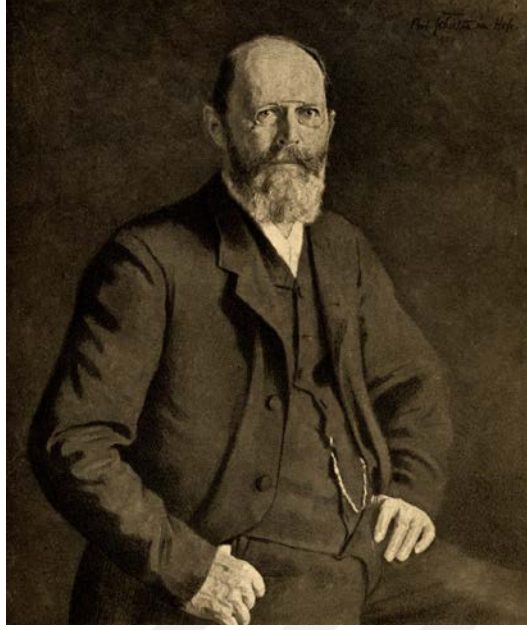
### 2.1. Kafein ve Metilksantinler

Kafein ilk olarak 1820 yılında Alman kimyager Friedlieb Ferdinand Runge (Resim 1) tarafından izole edilmiştir. Kafein isminin nereden geldiği hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte ilk kez 1823 yılında bir tıp sözlüğünde bu terim kullanılmıştır.



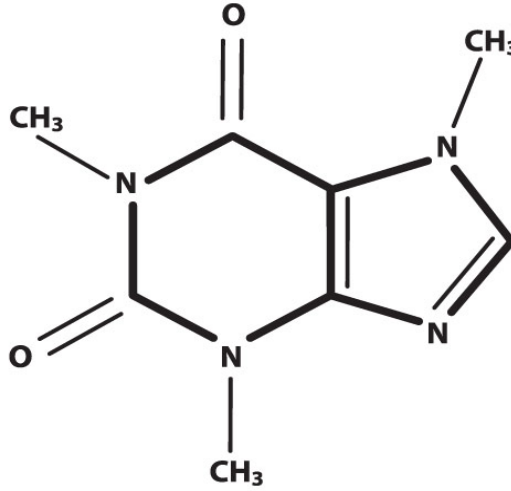
**Resim 1.** Friedlieb Ferdinand Runge

Kafein ksantin stimulanlar veya metilksantinler olarak bilinen ilaç grubunun en iyi bilinen üyesidir. Kafeinin yanı sıra birçok başka metilksantin de bulunmaktadır. Metilksantinlerin temel kimyası ile ilişkili bilgilerin çoğu 1907 yılında, Nobel ödüllü bir organik kimyacı olan Hermann Emil Fischer (Resim 2) tarafından yayımlanmıştır (McKim, 2000; Uzbay, 2015).



**Resim 2.** Hermann Emil Fischer

Kafein (1,3,7 trimetilksantin) bir pürin alkoloit olarak özellikle kahve, çay ve çikolata gibi birçok yiyecek ve içeceğin içerisinde bulunur (Kolaylı ve ark. 2004).



**Şekil 1.** Kafeinin kimyasal yapısı

### 2.1.1. Metilksantinlerin Farmakolojik Etkileri

Metilksantinler adrenal bezden adrenalini salıverilmesi ile sempatik stimülasyona neden



olurlar. Kafein santral sinir sistemi dışındaki etkilerinin çoğu kas sistemi ile ilişkilidir. Kafein düz kaslarda gevşemeye eğilimi artırırken çizgili kasları kuvvetlendirir (Uzby, 2015).

Kafeinin vücudun çeşitli yerlerindeki kan akımı üzerine farklı etkileri vardır. Kafein beyindeki kan damarlarında büzölmeye neden olurken, istirahat halindeki vücutta genel olarak gevşeme yapar. Bu özelliği nedeniyle baş ağrısı için kullanılan ilaçların birçoğunun içerisinde yer alır (Uzby, 2015).

Kafein 6.5mg/kg dozunda atletik performansı artırır. Bununla beraber kas gücü gerektiren sporlarda olumlu bir etkisi yoktur. Kafein genellikle uzun performans gerektiren sporlarda katkı sağlayıcı bir etkiye sahiptir (Nehlig ve ark, 1992, Uzby, 2015)

Metilksantinlerin sinir sisteminde nöronal ileti üzerine etkileri ve beyin işlevleri ile ilişkili etki mekanizmaları iyi bilinmektedir. Kafein beyindeki etkilerini adenozin reseptörleri ile etkileşerek oluşturur. Adenozin bir nöromodölatör olarak işlev görür ve presinaptik uçtan uyarıcı nitelikli birçok nörotransmitterin salıverilmesini inhibe eder. Beyindeki birçok nöronun spontan olarak ateşlenerek uyarılmalarını önler. Kafein başta olmak üzere metilksantinler adenozinin bu inhibe edici etkilerini bloke ederek nöronların kolayca uyarılmasına neden olur (Snyder, 1981; Uzby, 2015; Nelig ve ark, 1992; Fredholm, 1995).

Kafeinin uyku üzerine olumsuz etkileri vardır. Kafein uyanıklık süresini artırırken total uyku süresini azaltır. Ayrıca kafein kullananlarda uykunun derinliği de azalmakta ve uyku sırasında dış uyaranlara karşı duyarlılık artmaktadır.

Kafein verilmesi sonrasında kendini daha iyi hissetme, uyanıklık, dikkat, enerji, belli bir görevi yapmaya motivasyon ve özgüvende artış gibi olumlu etkiler ortaya çıkmaktadır. Yüksek dozlarda anksiyete, tremor ve sinirlilik gibi olumsuz etkiler ortaya çıkmaya başlar. Kafeinin pozitif pekiştirici özelliği olduğu motivasyon, enerji ve özgüveni artırıcı etkileri nedeniyle ortaya koymaktadır (Mumford ve ark, 1994; McKim, 2000; Uzby, 2015).

## **2.1.2. Metilksantin (Kafein) Bağımlılığı**

Başta kafein olmak üzere metilksantinlerin bağımlılık yaptığı geniş bilim çevrelerinde kabul edilen bir durumdur. Kafein bağımlılığı psikostimulan bağımlılığının bazı özelliklerini sergilemekle beraber kendine özgü bazı özellikleri de vardır.

### **2.1.2.1. Tolerans Gelişimi**

Kafeinin birçok etkisine tolerans geliştiği çok eskiden beri bilinmektedir. Kafeinin davranış üzerine etkilerine tolerans geliştiği sıçanlarda gösterilmiştir (Wayner ve ark, 1976).

Kafeinin 150-300 mg gibi nispeten yüksek dozlarında gözlenen sinirlilik, gerginlik ve mide bozukluğu gibi bazı istenmeyen etkiler sürekli kahve içenlerde seyrek veya çok az kahve içenlere göre oldukça hafiftir (Goldstein ve ark, 1969).

Kafeinin 400mg'ının neden olduğu uyku bozukluğu gelişen tolerans nedeniyle 7 gün içinde normale döner. 300mg'lık dozda gözlenen sübjektif etkilerine de 4 gün içinde tolerans gelişir. Spontan LMA'yi artırıcı ve konvulsiyonlara yatkınlığı artırıcı etkilere de kronik kullanım sırasında tolerans gelişmektedir (Evans ve Griffiths, 1992; McKim, 2000).

Kafein etkilerine tolerans gelişimi kronik kullananlarda bağımlılık geliştirme potansiyelinin önemli bir ögesini oluşturmaktadır. Kronik kafein tüketildiğinde beyin özgül bölgelerinde adenosin reseptörlerinin sayısında değişiklikler olduğu ve reseptör sayılarındaki bu değişikliklerin adenosin aracılı etkilerde bazı önemli değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Kafeinin neden olduğu bu değişikliklerin kafeinin birçok etkisine gelişen tolerans ile yakın bir ilişkisi olabilir. Özellikle adenosin A2a reseptör alt tipi ile adenosin deaminaz enzim polimorfizminin kafeinin etkilerinde gözlenen bireysel farklılıklar ve özellikle EEG, anksiyete ve uyku ile ilişkili farklı etkilerinde rolü olduğu ortaya konmuştur (Alsene ve ark, 2003; Cornelis ve ark, 2007; Retey ve ark, 2007; Uzbay, 2015).

### **2.1.2.2.Yoksunluk Sendromu**

İnsanlarda kafein yoksunluğunu tanımlayan birçok olgu bildirilmiştir ve en sık rapor edilen semptomların başında baş ağrısı gelmektedir. Buna ilave olarak uyuşukluk, enerji azlığı ve yorgunluk, iş motivasyonunda bozulma, özgüven ve kendini iyi hissetme duygusunda azalmanın yanı sıra sinirlilik, çabuk öfkelenme, bulantı, ekstremitelerde soğuk veya sıcak basmaları, kaslarda ağrı veya sertlik hissi gibi istenmeyen birçok etki doz, kullanım sıklığı ve kişinin bireysel özelliklerine bağlı olarak ortaya çıkar (McKim, 2000; Uzbay, 2015).

Günde 600 mg gibi yüksek doz kafeinin 6-14 gün arasında kullanılması kafeine fiziksel bağımlılık gelişimi için yeterli bir süredir. Bağımlılık gelişenlerde yoksunluk semptomları 12-24 saat içinde ortaya çıkmaya başlar ve 20-48 saatte en şiddetli seviyesine ulaşır. Yoksunluk belirtileri iki haftaya kadar devam edebilir (McKim, 2000; Uzbay, 2015).

### **2.2. Lokomotor Aktivite**

Kafein, kokain, etanol, benzodiazepinler ve nikotin gibi maddelerin psikomotor stimulan etkilerinin bağımlılık gelişimine önemli katkısı olan motivasyonel ve öforizan özellikleri ile yakından ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Uzbay, 2015; Wise ve Bozarth, 1987; Koob, 1992; Stoleran 1992). Bu nedenle psikostimulanların fare ve sıçanlarda lokomotor aktiviteyi ve motor koordinasyonu artırıcı etkilerine gelişen duyarlılaşma ve tolerans psikostimulan tipi bağımlılığın incelenmesinde kullanılmaktadır (Uzbay, 2015; Robinson ve Berridge, 1993; Steaward ve Badiani, 1993).

Lokomotor aktivite (LMA), psikofarmakoloji çalışmalarında ilaçların spontan davranışlarını değerlendirmede sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bunun yanında lokomotor etkinliğin ölçülmesi ile deneklerin anksiyete ve saldırganlık davranışları hakkında da bilgiler edinilebilmektedir (Uzbay ve ark., 1997; Uzbay, 2009).

LMA ölçümleri, hayvanların spontan etkinliklerindeki değişiklikleri kapsar. Yatay (horizontal), dikey (vertikal) ve yer değiştirme (ambulator) etkinliklerinden oluşmaktadır. Yatay etkinlik, deneklerin arka ayakları üzerinde dikilme ve yer değiştirme hareketi

yapmaksızın, oldukları yerde yaptıkları hareketlerdir. Dikey etkinlik, deneklerin arka ayakları üzerinde yaptıkları dikilme hareketidir. Yer değiştirme etkinliği ise deneklerin arka ayakları üzerinde yaptıkları dikilme hareketi dışında yapmış oldukları aktivite kafesi içindeki her türlü yer değiştirme/gezinme hareketidir. Yatay, dikey ve yer değiştirme etkinliklerinin ölçümleri ayrı ayrı değerlendirilebileceği gibi, üçünün toplamı “toplam LMA” olarak da değerlendirilebilir. LMA ölçümleri ile ilaçların psikostimülan ve depresan etkinlikleri nesnel olarak ölçülebilmektedir. Bağımlılık yapan maddelerin çoğunun bazı dozlarda lokomotor uyarıcı (psikostimülan), bazı dozlarda ise lokomotor baskılayıcı (depresan) etkilerinin bulunduğu göz önüne alınırsa LMA ölçümleri ile maddelerin bağımlılık yapıcı etkileri hakkında da bir fikir edilebilir (Uzbay ve ark, 1997; Uzbay, 2009).

### **2. 3. Duyarlılaşma**

Bazı durumlarda ilaç veya maddenin etkisi tekrarlayan dozlarda giderek artar veya güçlenir. Bu durum duyarlılaşma veya ters tolerans olarak adlandırılır. Duyarlılaşma toleransa göre daha az rastlanılan bir durumdur. Duyarlılaşma ile ilişkili bilgilerin çoğu kokain, nikotin, alkol, amfetamin ve morfin gibi bağımlılık yapan maddelerin deney hayvanlarının lokomotor performanslarını aktive edici etkilerinin incelenmesinden elde edilmiştir. Bu maddeler tekrarlayan düşük dozlarda verildiğinde deney hayvanlarında açık alanda ölçülen lokomotor aktiviteyi ve ayağa dikilme davranışını giderek artırır. Yüksek tek dozlarında koklama, yalanma ve taranma gibi stereotipik davranışların sürekli olarak yapılmasını artırır. Yüksek dozlarının sürekli olarak verilmesinde ise stereotipik hareketlerde, düşük dozlarda lokomotor aktiviteyi giderek artırıcı etkilerinin aksine, ilk dozda gözlenenden daha fazla artış yapamazlar (Uzbay, 2015; Robinson ve Berridge, 1993; McKim, 2000).

Yapılan çalışmalarda duyarlılaşma gelişimini prefrontal korteks ve bazolateral amigdalaadaki glutamat nöronları ile ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronlar gibi nukleus akumbensi uyarıcı nöronların artmış yanıtlar oluşturmasından kaynaklandığını gösterilmiştir (Pierce, 1997).

Duyarlılaşma toleransa göre daha sürekli ve tutarlı bir yanıttır. Çok uzun süreler devam edebilir ve bir maddenin veya ilacın tek bir dozu ile oluşabilir. Örneğin, farelerde etanolün tek bir lokomotor uyarıcı dozunun iki hafta sonra tekrarlanması lokomotor aktiviteyi anlamlı ölçüde artırmıştır (Kayır ve Uzbay, 2002). Duyarlılaşmanın tek bir dozu izleyen bir yıl sonra bile devam ettiği ve zaman içinde giderek güçlendiği bilinmektedir (Uzbay, 2015; Robinson

ve Berridge, 1993a; McKim, 2000).

Davranışsal uyancın duyarlılaşmasının beyindeki mekanizmalarını araştıran birçok çalışmada olayın tek bir nörondan kaynaklı basit bir mekanizması olmadığı, duyarlılaşma ile ilişkili olarak limbik sistem ile yerleşmiş olan beyin genel motivasyon kontrol sisteminin ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Duyarlılaşma uyanç ile yiyecek ve seks gibi doğal veya motivasyonel ödülleri ile ilişkilidir. Burada dopaminerjik sistemin önemli bir parçası olan mezolimbik yolda bir duyarlılaşma gelişmesi söz konusudur. Mezolimbik sistemde duyarlılaşma gelişmesi bağımlılık yapan maddelerin kötüye kullanımı ile ilişkili olarak ileri sürülen önemli hipotezlerden biridir (Uzby, 2015).

## **2.4. Oreksinler**

### **2.4.1. Oreksinlerin Keşfi**

Oreksinler ilk olarak 1998 yılında birbirinden bağımsız iki farklı grup tarafından tanımlanmıştır. The Scripps Araştırma Enstitüsü'nde çalışan bir grup hipotalamusta eksprese olan mRNA'lar üzerinde çalışırken; Teksas Üniversitesi'ndeki diğer bir grup ise G-protein bağılı yetim reseptörlerin endojen ligandları üzerinde yaptıkları araştırmalar sırasında oreksinleri keşfetmişlerdir (Nishino, 2007).

Teksas Üniversitesi'nden Sakurai ve ekibi, her biri farklı bir G-protein bağılı reseptörün cDNA'sını eksprese eden 50'den fazla hücre dizisini, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile sıçan beyninden elde edilen fraksiyonlar ile muamele etmişler ve sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonlarındaki artışları incelenmişlerdir. Kalsiyum konsantrasyonunda en fazla artışı sağlayan fraksiyon saflaştırılıp, 33 amino asit uzunluğunda bir peptid (OXA) ortaya çıkarılmıştır. Bu peptidin yanı sıra daha az düzeyde kalsiyum artışı sağlayan 28 amino asit uzunluğunda ilk peptide %46 homoloji gösteren ikinci bir peptid (OXB) daha tanımlanmıştır (Sakurai T ve ark, 1998; Bülbül, 2008).

Aynı zamanlarda Sakurai ve ekibinden bağımsız olarak The Scripps Araştırma Enstitüsü'nde Lecea ve arkadaşları hipotalamusa özgü, iki farklı ürün veren bir prepro-peptidin

mRNA'sını tanımlamışlardır. Bu yeni peptidlere, hipotalamustaki yerleşimleri ve sekretin peptidine olan sekans homolojilerinden ötürü hipokretinler adını vermişlerdir (Lecea L ve ark, 1998). Bu tarihten 6 hafta sonra yayınlanan çalışmalarında Sakurai ve arkadaşları söz konusu peptidlere hipotalamustan izole edilmeleri ve intraserebroventriküler yolla dışarıdan uygulandığında besin tüketimi üzerine uyarıcı etki göstermelerinden ötürü ve Yunanca'da iştah anlamına gelen "orexis" kelimesinden esinlenerek oreksinler adını vermişlerdir (Sakurai T ve ark, 1998; Bülbül, 2008).

Oreksinler, keşfinden günümüze kadar olan 10 yıllık süre içerisinde pek çok farklı araştırmaya konu olmuştur. Oreksinlerin ve reseptörlerinin merkezi sinir sistemi dışında farklı dokularda üretildiği ve birçok fizyolojik fonksiyona aracılık ettiği gösterilmiştir. Oreksinlerin organizmadaki rolleri konusunda araştırmalar artan oranda devam etmektedir.

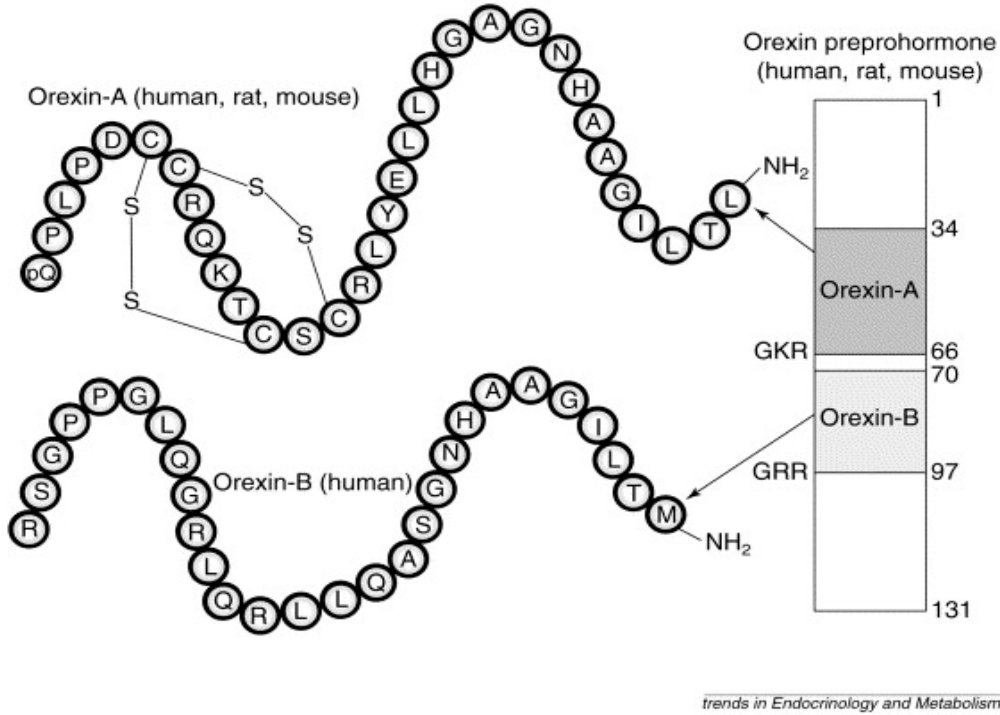
#### **2.4.2. Oreksinlerin Yapısı ve Preprooreksin**

Oreksinlerin her iki tipi de ortak öncül molekülleri olan 131 amino asit içeren preprooreksin'den meydana gelir (Kirchgeßner AL., 2002). Preprooreksin kemirgenlerde 130 amino asitten meydana gelir. İnsan ve fare preprooreksinleri sıçandaki molekül yapısına sırasıyla %83 ve %95 oranında homoloji gösterir (Samson WK ve Resch ZT, 2000). Preprooreksin en yoğun olarak lateral ve posterior hipotalamusta bulunmaktadır (Kirchgeßner, 2002; Smart D, 1999).

İnsan preprooreksin geni 17. kromozomda yer almakta olup 17q21 bölgesine yerleşmiştir ve iki ekzondan meydana gelir (Kukkonen JP ve ark 2002). Bu gen, nörodejeneratif hastalıklar gen grubu olarak bilinen "*chromosome 17-linked dementia*" grubuna dahil edilmiştir (Kirchgeßner, 2002).

Oreksin-A, 33 amino asit içeren, 3562 Da ağırlığında bir peptiddir. N-terminalinde bir piroglutamil kalıntısı, 2 adet zincir içi disülfid bağı ve C-terminalinde amidasyon oluşumu bulunmaktadır. Bu kimyasal yapı temel olarak insan, fare, sıçan, sığır ve domuz gibi memelilerde korunmaktadır (Samson WK ve Resch ZT, 2000; Kukkonen JP ve ark, 2002; Kilduff ve Peyron, 2000).

Oreksin-A'nın Oreksin-B'den farkı N-terminalinde 5 amino asitlik bir zincir içermesidir (Sakurai T, 1998; Dun NJ ve ark, 2000; Korczynski W ve ark, 2006). Cys6-Cys12 ve Cys7-Cys14 arasındaki iki adet disülfid köprüsü ve C-terminal yönündeki ilk 19 amino asidin varlığı oreksin-A'nın biyolojik etkinliği için gereklidir (Heinonen ve ark, 2008).



**Sekil 2.** Oreksin-A ve Oreksin-B'nin Amino Asit Dizilimleri (Samson ve ark., 2000).

Oreksin-A, oreksin-B'ye göre fizyolojik stabilitesi ve yağda çözünürlüğü yüksek olan bir moleküldür. Oreksin-A'nın yüksek lipofilik özelliği kan-beyin bariyerini geçmesini sağlar (Kastin ve Akerstrom, 2008). Serebrospinal sıvı (CSF)'da oreksin-B'nin gösterilememiş olmasına karşın oreksin-A, insanlarda, sıçanlarda ve köpeklerde saptanmıştır (Heier ve ark, 2007; Brundin ve ark, 2007). Plazmadaki oreksin-A'nın merkezi sinir sistemi kökenli olmayıp, periferik kaynaklardan köken aldığını gösteren bulgular vardır (Kirchgessner, 2002; Ehrström ve ark., 2003; Heinonen ve ark, 2008; Ehrström ve ark, 2005). Bir grup araştırmacı narkoleptik bireylerden toplanan CSF örneklerinde oreksin-A'nın çok düşük düzeylerde olmasına karşın, plazmada normal düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir (Dalal ve ark, 2001; Bülbül, 2008).

Oreksin-A ve preprooreksin mRNA konsantrasyonları sirkadien bir değişim gösterirken, hipotalamusta en yüksek seviyeleri aydınlık fazın başlangıcında, en düşük seviyesi ise

karanlık fazın başlangıcında tespit edilmiştir. Sıçanda hipotalamik oreksinerjik nöronlar ile SCN arasında nöral bağlantı ışık ve oreksin arasındaki düzenlemeyi açıklamaktadır (Kukkonen JP ve ark, 2002). Bununla beraber preprooreksin mRNA'sının sıçan beyinde açlık uygulaması ile arttığı da gösterilmiştir (Sakurai ve ark, 1998; Bülbül, 2008).

### 2.4.3. Santral Oreksin

İmmünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon çalışmaları oreksin üreten hücrelerin merkezi sinir sisteminde hipotalamusdaki az sayıda çekirdekte bulunduğunu göstermiştir. Bu çekirdekler perifornikal çekirdek, lateral hipotalamik alan (LHA) ve dorsomedyal hipotalamik çekirdektir (Sakurai ve ark. 1998; Peyron ve ark., 1998; Date ve ark., 1999; Lecaie ve ark., 1998; Elias ve ark., 1998; Nambu ve ark., 1999; Tan, 2011).

Oreksin içeren sinir lifleri oldukça sınırlı bir bölgede yerleşmiş olmalarına rağmen merkezi sinir sistemi boyunca geniş şekilde dallanırlar. Bu dallanmalar özellikle olfaktor bulb, serebral korteks, talamus, hipotalamus, beyin sapı ve omuriliğin hemen tüm seviyelerinde görülebilir (Peyron ve ark., 1998; Date ve ark., 1999; Mondal ve ark., 1999; Sutcliffe ve ark., 2000; Broberger ve ark., 1998; Horvath ve ark., 1999). Oreksin nöronlarının geniş projeksiyonu, oreksinlerin çok sayıda sistemi modüle ettiğini göstermektedir (Sutcliffe ve ark., 2000; Willie ve ark., 2001; Tan, 2011).

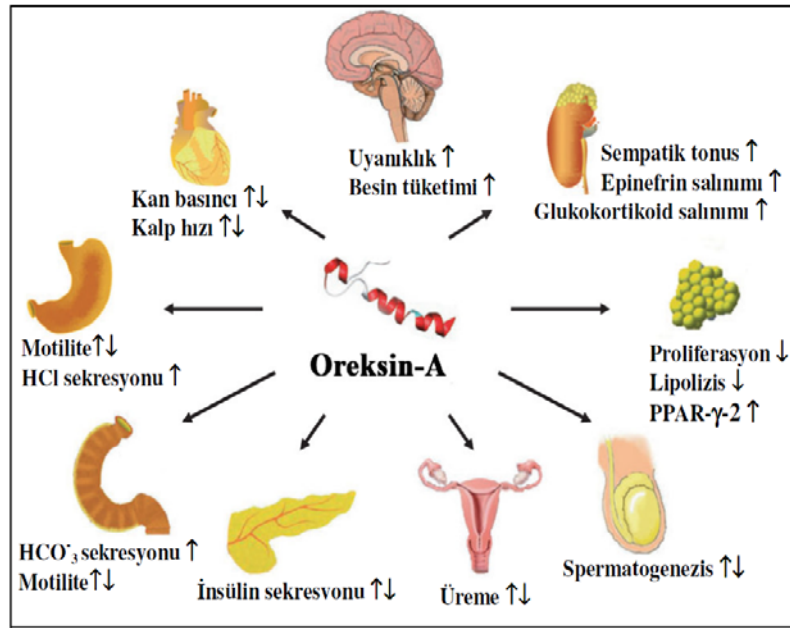
Oreksinlerin doğrudan akson terminalleri üzerine etki ederek eksitatör ya da inhibitör nörotransmitterlerin salınımını artırdığı bilinmektedir (Lecaie ve ark., 1998; Van den Pol ve ark., 1998). Hipotalamus içinde oreksin nöronları arkuat nukleusa projekte olur (Peyron ve ark., 1998; Date ve ark., 1999) ve özel olarak nöropeptid Y (NPY) içeren hücre gövdelerini innerve eder (Horvath ve ark., 1999). LHA içerisinde, NPY nöronları ve oreksin nöronları arasında karşılıklı bağlantılar bulunduğu gösterilmiştir (Elias ve ark., 1998 Broberger ve ark., 1998; Horvath ve ark., 1999). Ek olarak, oreksin içeren sinir lifleri, paraventriküler nukleus (PVN) içindeki NPY-immünoreaktif sinir terminallerine yakın bölgelerde sonlanırlar (Broberger ve ark., 1998; Horvath ve ark., 1999). NPY kuvvetli bir oreksijenik peptid olup besin alımını stimüle eder (Kalra ve ark., 1999). Arkuat NPY nöronları oreksinler tarafından uyarıldığı için (Willie ve ark., 2001; Van den Pol ve ark.,



1998), oreksinin stimüle ettiği besin alımının NPY yolları üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir (Tan, 2011; Date ve ark., 1999; Yamanaka ve ark., 2000).

#### 2.4.4. Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri

Öncelikli etkisi uyku-uyanıklığın düzenlenmesi ve beslenme üzerine olan oreksinlerin, enerji dengesi, nöroendokrin düzenleme, gastrointestinal ve kardiyovasküler kontrol, su dengesi ve ağrı iletiminde de etkili olduğu bildirilmiştir (Ebrahim ve ark, 2002). Oreksinlerjik hücrelerin yerleşimi, projeksiyonları ve diğer transmitter sistemlerle olan bağlantıları, farklı fizyolojik fonksiyonlar üzerine doğrudan ve dolaylı olarak düzenleyici etkilerinin olmasını sağlar. Bu karmaşık düzen oreksinlerin etki şekillerinin ayırt edilmesinde güçlük yaratmaktadır (Kukkonen JP ve ark, 2002, Tan, 2011).



**Sekil 3.** Oreksin-A'nın Santral ve Periferel Dokulardaki Fonksiyonları (Heinonen MV ve ark, 2008)

##### 2.4.4.1. Oreksinlerin Besin Tüketimine Etkileri

Oreksinlerin keşfi ile ilgili çıkan ilk araştırmada oreksin-A ve oreksin-B'nin intraserebroventriküler uygulamasının ardından sıçanlarda yem tüketiminin arttığı gözlenmiştir (Sakurai T ve ark, 1998). Oreksinlerin hipotalamusun farklı bölgelerine mikroenjeksiyon

ile uygulandığı çalışmalarda, oreksin-A'nın LHA ve perifornikal alan, oreksin-B'nin ise sadece ventriküler alanda etkili olduğu gösterilmiştir (Sweet ve ark, 1999). İntraperitoneal yolla uygulanan OX1R antagonisti SB-334867, bazal ve oreksin-A'nın hipotalamusa enjeksiyonu sonucu uyarılan beslenmeyi inhibe etmiştir (Haynes ve ark, 1999; Bülbül, 2008; Rodgers ve ark, 2001).

Oreksinler NPY, melanin konsantre edici hormon (MCH), agouti geni ile ilişkili protein (AGRP), galanin, proopiomelanokortin (POMC), kokain-amfetamin ile düzenlenen transkript (CART) ve dinorfin gibi peptidlerin de yer aldığı iştah ve besin alımını düzenleyen peptid ağının bir üyesidir (Kukkonen ve ark, 2002). Hipotalamustaki oreksinerjik nöronlar NPY reten ARC nronlarıyla sinaptik temas halindedir. ARC'deki bir diğer nöron topluluğu da POMC sentezlemektedir. POMC, iştah baskılayıcı etkisiyle bilinen alfa-melanin uyarıcı hormon (-MSH)'un nc maddesidir. POMC sentezleyen nöronlar da oreksinerjik nöronlarla çift yönlü bir ilişki içerisindedir (Cai ve ark, 2002; Bülbül, 2008).

Oreksin-A ile NPY arasında fonksiyonel bir ilişki olduğu, oreksin-A'nın NPY'nin oreksijenik etkisine aracılık ettiği ileri sürülmektedir (Kukkonen ve ark, 2002). NPY'nin Y1 ve Y5 reseptörlerinin antagonistlerinin oreksin-A ile uyarılan beslenmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (Dube ve ark, 2000; Jain ve ark, 2000).

#### **2.4.5. Açlık ve Oreksinler**

Açlığın oreksinerjik nöronlar üzerine olan etkisi açlığın süresiyle ilişkilidir. Park ve arkadaşları açlığın hipotalamik oreksinerjik nöronlara etkisini 24.- 84. saatler aralığında her 12 saatte bir incelemişler, 24 ve 72. saatler arasında artış gözlenirken 84. saatten itibaren azalma tespit etmişlerdir (Park ve ark, 2004; Bülbül, 2008).

Açlık durumunun oreksin sentezi üzerine olan etkisini araştırmak üzere 48 saat süreyle a bırakılan sıçanların hipotalamuslarında preprooreksin mRNA seviyeleri tok olan kontrol gurubuna göre 2.4 kat artış göstermiştir (Mondal ve ark, 1999; Sakurai ve ark, 1998; Wolf, 1998; Cai XJ ve ark, 1999). Lu ve arkadaşları ise 20 saat süreyle uygulanan yem

kısıtlamasının hipotalamustaki oreksin reseptörlerinin mRNA seviyelerini arttırdığını tespit etmişlerdir (Lu ve ark, 2000).

Komaki ve arkadaşları açlık terapisi uygulanan hastalarda 3 günlük açlığın plazma oreksin-A düzeylerinde önemli artışlara neden olduğunu, 7. günde artışın devam ettiğini göstermişlerdir (Komaki G ve ark, 2001).

Oreksinler hipotalamik ve enterik nöronlarda açlıkla birlikte eksprese olurlar, buna bağlı olarak uyanıklık, besin tüketimi, gastrointestinal motilite ve sekresyon artışı gözlenir. Beslenme, mide-bağırsak motilitesi ve uyku/uyanıklık paternleri arasında bir koordinasyon bulunmaktadır. Oreksinler bu fizyolojik aktivitelerin koordinasyonunda görev almaktadır (Kirchgessner AL., 2002).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Deneysel Hayvanlar ve Etik Koşullar**

Çalışmada deneysel hayvanı olarak yetişkin (8-10 haftalık), erkek Balb/c fareler kullanıldı. Deneklerin ağırlıkları 30-40 g arasında değişmektedir. Gruplardaki denek sayıları 7-8 arasındadır. Çalışmada toplam 23 adet fare kullanılmıştır.

Yapılan tüm uygulamalarda Helsinki Bildirgesi ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 1996 yılında yayınlamış olduğu kitaptaki etik kurallara uyulmuştur. Ek olarak Üsküdar Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan onay alınmıştır (Tarih: 25.04.2017; Sayı: 2017-08).

#### **3.2. Laboratuvar**

Çalışmalar İstanbul'da, Üsküdar Üniversitesi, Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (NPFUAM) yürütüldü ve tamamlandı.

Deneylerin gerçekleştirildiği NPFUAM Laboratuvarları 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyodunun sağlandığı (07:00-19:00, aydınlık), sıcaklığın  $22 \pm 3$  °C, bağıl nemin ise %60  $\pm 5$ 'te sabit tutulduğu, dış etkenlere karşı izole ve ilgili bakanlık izni ile akreditasyonu olan laboratuvarlardır.

#### **3.3 Kullanılan Kimyasallar**

Kafein (Sigma-Aldrich, USA) ve oreksin-A (Sigma-Aldrich, USA) serum fizyolojikte çözülerek, intraperitoneal olarak uygulandı.

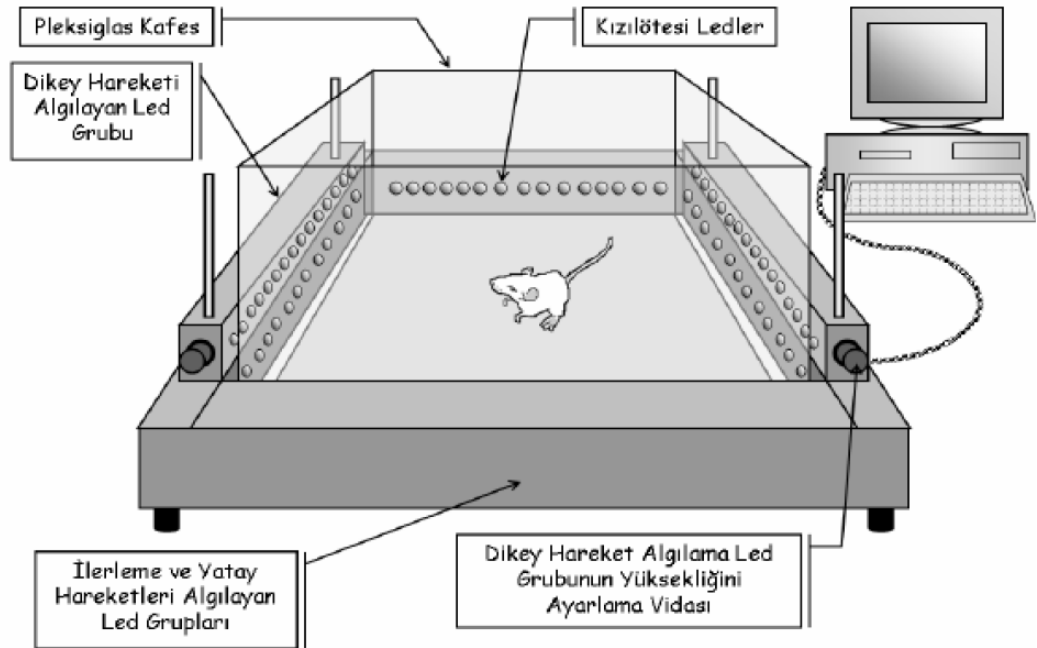
#### **3.4 Lokomotor Aktivite Ölçümü**

Lokomotor Aktivite Cihazı (MAY 9908 Model-Activity Monitoring System-Commat Ltd., TR) kullanıldı. Lokomotor aktivite cihazının ölçüm sistemi; her bir kenarı boyunca tabanına yakın mesafede kızılötesi (IR) ışık kaynakları içeren sensörlerin varlığına dayanmaktadır. Deneysel hayvanı, kafes içinde bir hareket yaptığında karşılıklı IR sensörleri

arasındaki iletişimi gövdesinin hareketi ile keser ve deneğin yaptığı hareketin şekline göre bu kesinti cihaza bağlı bir kaydedici tarafından aktivite olarak alınır ve kaydedilir. Böylece deney hayvanının spontan aktivitesindeki değişiklikler saptanabilir (Şekil 4).

LMA cihazı 40x42 cm boyutlarındaki kare şeklinde ölçüm tablası ve etrafında hayvanın çıkmasını önlemek amaçlı duvarlardan oluşmaktadır. Her bir kafesin tavanına yerleştirilmiş birer adet CCD kamera ile sıçanların hareketleri 30 dk süre ile kaydedilmiş, bu görüntüler daha sonra videolu takip cihazı (Noldus, EthoVision v3.1, Hollanda) ile sayısallaştırılmış ve çeşitli değişkenler açısından analiz edilmiştir. Temel olarak kullanılacak parametreler yürüme mesafesi, ayağa kalkma (vertikal hareket) sayısı ve yürüme hızıdır.

Lokomotor aktivite değerlendirmelerinde ilaçlar enjekte edildikten hemen sonra deneklerin lokomotor aktiviteleri 30 dakika süre ile ölçülmüştür.



Şekil 4. LMA ölçüm cihazı (Uzbay, 2009)

### 3.5. Sonuçların İstatistiksel Analizi

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS bilgisayar istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirli günlerde ilaçların LMA üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi ve farklılığın kontrol grubu ile karşılaştırılması için ANOVA testi (Tukey testi) ve t testi kullanılmıştır.

Elde edilen tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edilmiş ve  $p < 0.05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

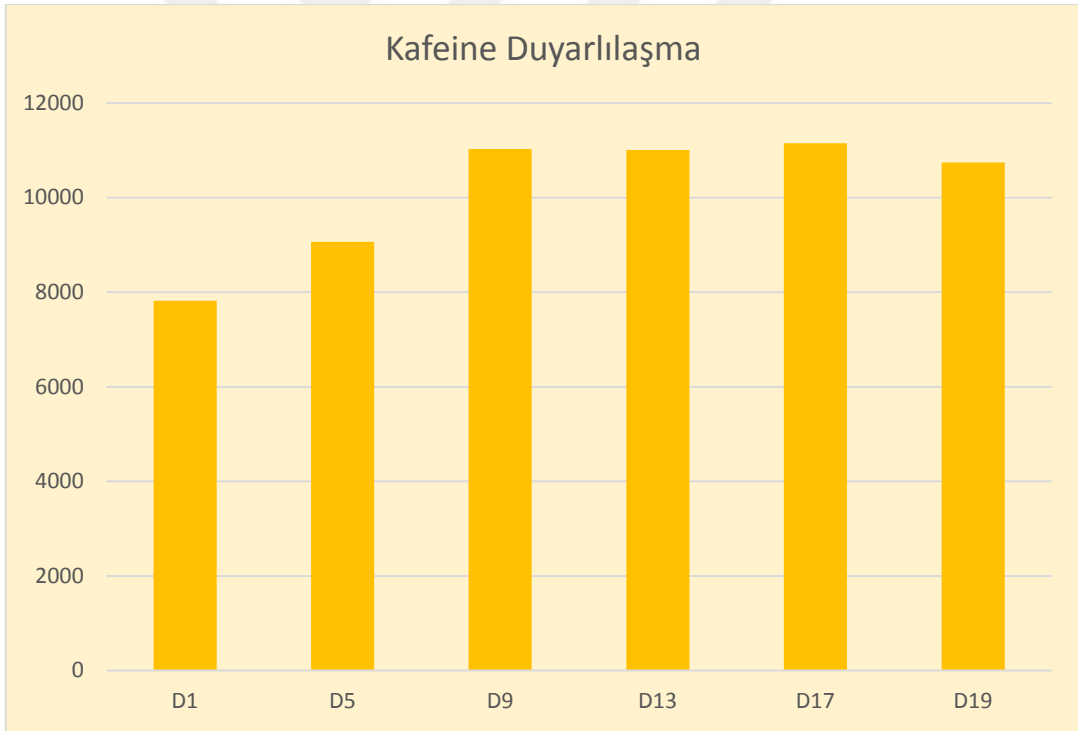


## 4. BULGULAR

### 4.1. Kafeinin Lokomotor Aktivite Üzerine Etkileri

Farelere duyarlılaşma için verdiğimiz etkin doz Üsküdar Üniversitesi'nde yapılan diğer çalışmalar sonucu belirlenmiştir.

Lokomotor aktivitede farelerin horizontal, vertikal ve ambulatuvar aktivitelerinin toplamı göz önüne alındığında kafeinin 10 mg/kg dozunun birer gün aralıklarla verilmesi sonucu 21. günde lokomotor aktivite verilerine göre duyarlılaşmanın meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.1).



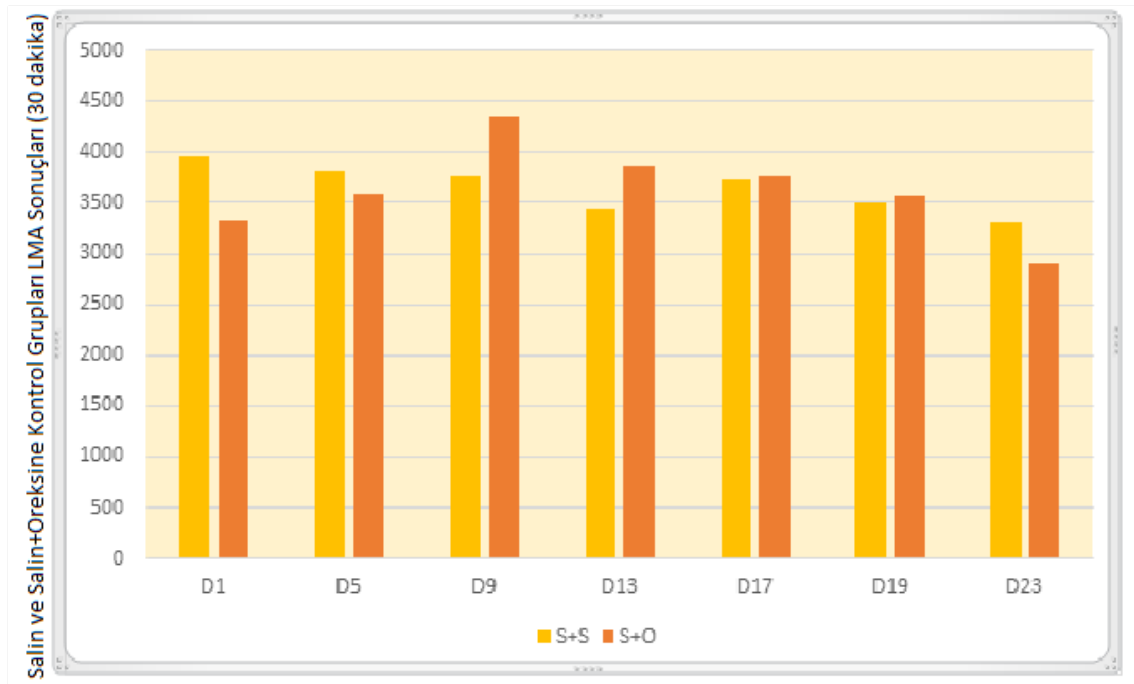
**Şekil 5:** Kafeinin 10mg/kg dozunun LMA üzerine etkisi

Yukarıdaki şekilde görüldüğü gibi kafeinin 10 mg/kg dozunun aralıklı uygulaması zamanla LMA'nın artışına yani duyarlılaşmaya neden olmuştur.

#### 4.2. Salin ile Salin + Oreksin Grupları Arasında Karşılaştırma

Her iki gruba da 21 gün boyunca salin verilmiştir, fakat 23. gün ilk gruba tekrar salin, ikinci gruba salin yerine oreksin verilmiştir. Oreksin verildikten sonra LMA'de çok ufak bir düşüş olmuştur. Fakat sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir ve anlamlı bulunmamışlardır.

Şekil 6. Salin ve Salin+Oreksine Grupları Arasında Karşılaştırma



Tablo 1. Kontrol Grupları LMA Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

Grup	N	X	SS	F	P	Anlamlı Fark
S+S	8	3492,792	2456,033	0,161	0,922	P:0,997
	8	3305,827	2613,47			
S+O	7	3565,044	971,025			P:0,922
	7	2905,302	891,839			

Tablo 1'de kontrol grupları 19 ve 23. günün LMA sonuçlarına göre analiz edilmiştir. İki grup arasındaki anlamlı fark 0,922 bulunmuş olup istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir.



### 4.3. Oreksin A'nın Lokomotor Aktiviteye etkisi

Kafeine duyarlı hale getirilen farelere uygulanacak oreksin dozu öncesinde yapılmış çalışmalar neticesinde 10 µg/kg olarak belirlenmiştir. 23. gün kafein grubundaki farelere kafein yerine oreksin verilmiştir ve ardında lokomotor aktivite ölçümü yapılmıştır. Kafein grubunda toplam lokomotor aktivitede azalma meydana gelmiştir.

**Tablo 2.** Kafein+ Oreksin İle Salin+ Oreksin LMA Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

Grup	N	X	SS	F	P	Anlamli Fark	
S+O	7	3565,044	971,025	30,415	0	P:0,922	
	7	2905,302	891,839			P:0,001	
K+O	8	10746,01	2671,668				
	8	6059,395	1768,372				

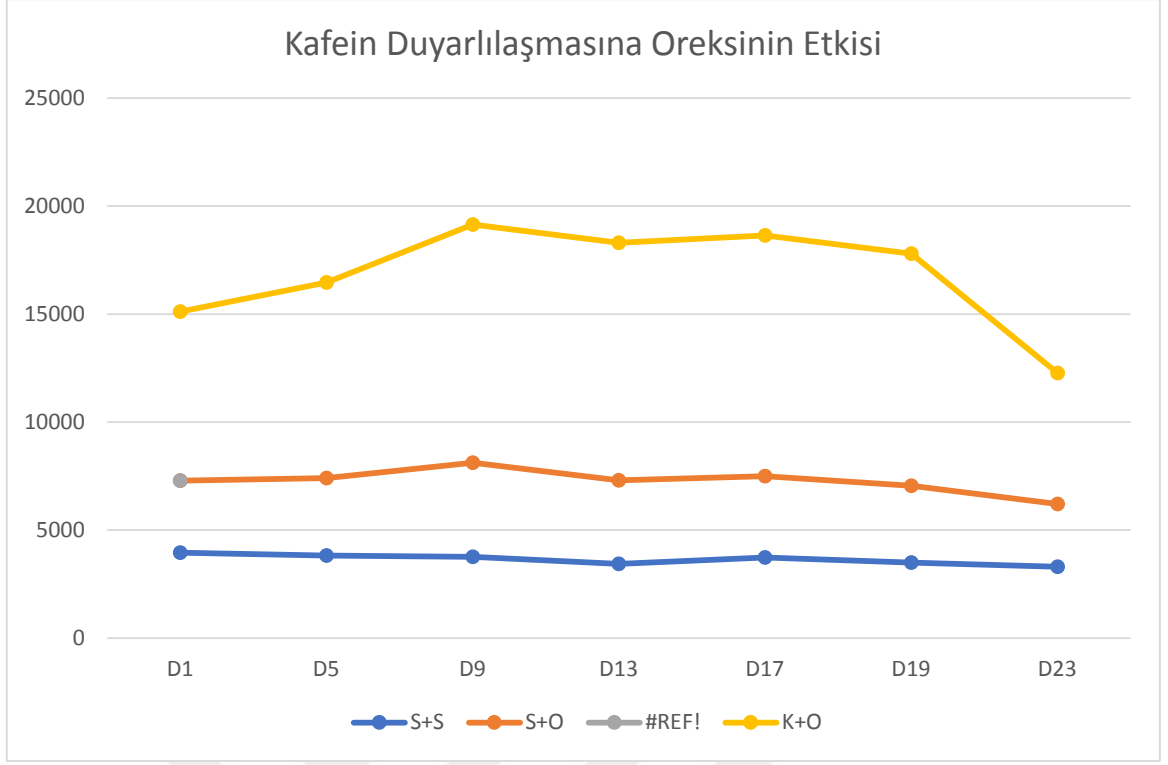
Yukarıdaki tablo 19. ve 23. gündeki LMA sonuçlarına göre yapılmış istatistiksel analizleri göstermektedir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak oreksinin kafeine duyarlılaşmayı anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur.

### 4.4. Tüm Gruplar Arası Karşılaştırma

**Tablo 3.** Tüm grupların günlere göre lokomotor aktivite değerleri ortalamaları

Ortalama	D1	D5	D9	D13	D17	D19	D23
S+S	3952,784	3820,744	3756,423	3434,714	3739,519	3492,793	3305,828
S+O	3338,746	3586,126	4356,614	3868,004	3752,31	3565,044	2905,303
K+O	7819,063	9063,111	11027,04	11004,35	11152,34	10746,01	6059,395

**Şekil 7.** Grupların 23 gün boyunca LMA değişimleri



Yukarıda da görüldüğü gibi kafeine duyarlı hale gelmiş farelere oreksin verilmesi sonucu LMA'de önemli ölçüde düşüş meydana gelmiştir. Bu düşüş 17 ve 19. günlerdeki değerlerden istatistikçe anlamlı ölçüde iken, kontrol gruplarında herhangi önemli bir etki görülmektedir. Bununla beraber, oreksinin neden olduğu düşüşe rağmen LMA değerleri kontrol gruplarına göre hala istatistikçe yüksek düzeydedir.

## 5.TARTIŞMA

Öncelikle yaptığımız çalışmada, daha önceki çalışmalarda duyarlılaşma için uygun doz olarak belirlenen 10 mg/kg doz intraperitonel olarak uygulanmış ve kafeinin aralıklı ve tekrarlı verilmesi sonucunda LMA üzerine duyarlılaşma belirtileri belirlenen süre zarfında gerçekleşmiştir. Bu daha önceki literatür bulguları ile de (Kayir ve Uzbay, 2004; Çelik ve ark., 2006; Uzbay ve ark., 2007) uyumludur.

Çalışmada kafeine duyarlı hale getirilen farelere oreksin-A'nın akut olarak verilmesi sonucu LMA'de meydana gelen değişim incelenmiş ve kontrol grupları ile istatistiksel olarak kıyaslama yapılmıştır. Sadece salin verilen kontrol grubu ile sadece oreksin grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,922$ ). Kafeine+ Oreksin ile Salin+ Oreksin gruplarını karşılaştırdığımızda ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kafein+Oreksin grubunun oreksin verilmeden önce ve verildikten sonra (19. ve 23. gün) LMA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,01$ ). Bu sonuçlardan yola çıkarak oreksinin kafeine duyarlılaşmayı azalttığını söyleyebiliriz. Bununla beraber, oreksinin lokomotor duyarlılaşmada neden olduğu düşüş salin ve sadece oreksin alan gruplara göre de hala istatistikçe yüksek düzeydi. Buradaki kastımız oreksini sadece tek dozda vermiş olmamızdır. Belki daha yüksek dozları test edilmiş olsa kafein ile indüklenen lokomotor duyarlılaşmayı tamamen bloke edebilirdi.

Kafein (1,3,7 trimetilksantin) bir pürin alkaloid olarak birçok yiyecek ve içeceklerin içeriğinde bulunur (Kolaylı, 2004). Kafein günümüzde her gün düzenli olarak tüketilen bir maddedir, merkezi sinir sistemini uyardığı ve kahve, çay, çikolata, kola ve bazı gazlı içeceklerin kafein ihtiva ettiği bilinmektedir (Son, 2003; Concas, 2000).

Metilksantinler adrenal bezden adrenal saliverilmesi ile sempatik stimulasyona neden olmaktadır (Beiras, 2004; Tan, 2011; Uzbay, 2015). Oreksinler ve reseptörleri vücutta birçok yerde bulunmakla birlikte, adrenal bezlerdeki medullar hücrelerinde de tanımlanmışlardır. Adrenal medullada üretilen tümör hücre kültürlerinde oreksin A ve B'nin epinefrin ve norepinefrin salınımını uyardığı (Samson ve ark., 2005; Lopez ve ark., 2005) ratlarda oreksin A enjeksiyonu aldesteron düzeyini arttığı gösterilmiştir (Karadağ

ve ark., 2009; Spinazzi ve ark., 2006).

Oreksin içeren nöronlar uyarılmada ve enerji düzenlenmesinde kritik bir rol oynamakta ve akut kafein uygulaması ile aktive olabilmektedirler. Lateral hipotalamik alanda oreksin nöronlarında, 10 mg/kg kafein uygulamasından sonra c-fos ekspresyonu %226 oranında arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak sistemik olarak uygulanan kafeinin, aynı alandaki oreksin olmayan nöronlar üzerinde oreksin nöronlarını tercihen aktive ettiğini ve bu aktivasyonun, oreksin nöronlarının en yoğun olduğu periferik bölgede belirginleştiğini göstermektedir. Oreksin nöronlarının aktivasyonu, kafeinin davranışsal aktivasyonunda rol oynayabilir (Mullett ve ark., 2000; Murphy ve ark., 2003).

Kafein beyindeki etkilerini adenozin reseptörleri ile etkileşerek oluştururlar. Adenozin bir nöromodülatör olarak işlev görür ve presinaptik uçtan uyarıcı nitelikli birçok nörotransmitterin salınmasını inhibe eder. Adenozin bir uyku artırıcıdır ve bazal önbeyinde rolü gösterilmiştir. Kafein adenozinin inhibe edici etkilerini bloke eder ve nöronların kolayca uyarılmasına neden olur (Snyder, 1981; Nelig ve ark., 1992; Fredholm, 1995; Uzbay, 2015). Yapılan bir çalışmada adenozinin, oreksin nöronlarının voltaj-bağımlı kalsiyum akımlarını inhibe ettiği ve oreksin nöronlarının inhibisyonu yoluyla LH'de uyku hızlandırıcı etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Liu, 2007). Oreksin/hipokretin sisteminde yetersizlikler aynı zamanda narkolepsiye de neden olabilmektedirler.

Oreksinin normal uyku sürecinin düzeni, iştah, nöroendokrin fonksiyon ve enerji metabolizması üzerine etkileri vardır. Oreksinlerin besin tüketimi üzerine uzun süreli etkileri konusunda tartışmalar bulunmakla birlikte sadece akut dönemde besin tüketimini arttırdığı ileri sürülmektedir. Bunun yanı sıra oreksinlerin hiperfajik etkisinin uyanıklık süresinin artışına bağlı olarak ortaya çıktığını savunan görüşler mevcuttur. Bu görüşe göre uyanık kalınan sürenin artışı enerji açığına neden olmakta ve organizma bu açığı kompanse etmek amacıyla besin alımını arttırmaktadır (Kukkonen ve ark, 2002; Bülbül, 2008).

Sıçanlarda uzun süreli kafein uygulaması (2-12 hafta) karaciğer glukojen depolarını azaltmış, vücut yağ ağırlığını ve serum leptin seviyelerini düşürmüştür (Martin, 2004; Tan,

2011). Oreksinlerin ise beslenme davranışı ve enerji dengesinin düzenlenmesinde rol oynayan leptin gibi anoreksijenik peptidlerle karşılıklı etkileşimi olduğu gösterilmiştir. Örneğin LHA'daki bazı oreksin sinirleri üzerinde leptin reseptörlerinin bulunduğu ve bu sinirlerin leptin reseptör ekspresyonu yaptığı bildirilmiştir (Smart, 2002). Enterik sistemdeki oreksin sinirlerinin de hipotalamustaki benzerleri gibi leptin reseptör ekspresyonu yaptığı gösterilmiştir (Cutler, 1999). Leptinin oreksinlere verilen cevabı değiştirebildiği ve dışardan verilen leptinin açlığa bağlı PPO (preprooreksin) mRNA ekspresyonu artışını baskıladığı gösterilmiştir. Böylece periferal uygulanan leptinin iştahı azaltmasında kısmen oreksin sistemini baskılamasının rol oynadığı iddia edilmiştir (Smart 2002; Gültekin H. 2005).

Oreksin peptitleri plazma katekolamin salınımını arttırmaktadırlar (Leibowitz ve ark., 2004; Schneider ve ark., 2004). Kronik uyku bozukluğu olan narkolepsili doberman türü köpeklerde ve insan beyninde dopamin düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Nishino, 2003; Baumann ve ark., 2005). Willie ve ark. (Willie ve ark., 2005) ekstrasellüler dopamin düzeylerini arttıran modafinil ilacının verilmesinden sonra narkolepsi oluşturulmuş ratlarda, oreksin nöronlarının aktive olduğunu ve uyanıklık sağlandığını saptamışlardır (Karadağ ve ark., 2009). Kafein adenozinin inhibe edici etkilerini bloke eder ve adenozin reseptörlerinin dopaminin postsinaptik etkileri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bazı nöronlarda transkripsiyon faktörleri ve gen ekspresyonunun aktivitesinde rolü olduğu bilinen dopamin D2 reseptörlerinin aktivitesini artırır (Fredholm, 1995; Garrett ve Griffiths, 1997; Uzbay, 2015).

Oreksinin bu çalışmada gözlenen kafeinin neden olduğu lokomotor duyarlılaşmayı azaltıcı etkisinin hangi mekanizma üzerinden gerçekleştiğini ise ortaya koyamadık. Bunun için ilave çalışmalar yapılması gerekir. Oreksin adenozin, dopamin veya başka nörotransmitter sistemleri ile etkileşerek bu düşüğe neden olabileceği gibi burada doğrudan bir etkiye de sahip olabilir. Kafeinin oreksin reseptörleri ile etkileşmesi veya oreksinin adenozin reseptörleri ile etkileşimi bu sonuca yol açabilir. Nitekim oreksinin özellikle uyku düzeyinde adenozin reseptörleri ile etkileştiğini gösteren raporlar yayımlanmıştır (Cun ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2014). Kafeinin stimulan dozlarının oreksin içeren nöronlarla etkileşimine dair kanıtlar da mevcuttur (Murphy ve ark., 2003).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, oreksin farelerde kafeinin psikostimülan etkileri ile ilişkili santral mekanizmalar üzerine etkiye sahip gibi görünmektedir ve çalışmamızın sonucunda kafeine duyarlılaşmanın oreksin verilmesi durumunda azaldığı bulunmuştur.

Oreksinler veya antagonistleri kafeine duyarlılaşma ve bağımlılığının tedavisinde terapötik bir potansiyele sahip olabilir. Çünkü psikostimülanların lokomotor aktiviteyi artırıcı etkileri ile öforizan ve bağımlılık yapıcı etkileri arasında bir ilişki olduğu kabul edilmektedir (Wise ve Bozarth, 1987). Bununla beraber, yaptığımız çalışmanın sonuçları, kafein ile oreksin ilişkisinin daha detaylı ve kapsamlı yeni projelerle incelenmeye devam edilmesinin gerekliliğine de işaret etmektedir. Oreksin stimülan tipi bağımlılık tedavisi için yeni ve ilginç bir hedef olabilir.

### EK 3. ETİK KURUL KARARI

T.C.

Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ( Ü.Ü- HADYEK)

Sayı: 2017-08

Konu: Ü.Ü-HADYEK

17. kurul toplantısı

25.04.2017

#### Sayın Elif SAKIZ

“Farelerde oreksinin kafein duyarlılaşmasına etkisinin incelenmesi” isimli projeniz üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof.Dr. İsmail Tayfun UZBAY  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

Prof.Dr. İsmail Tayfun UZBAY (Katılmadı)  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı  
MDBF / Dekan / Moleküler Biyoloji ve Genetik - Bölüm Başkanı

Prof Dr. Muhsin KONUK  
MDBF / Moleküler Biyoloji ve Genetik (İngilizce)  
/ Rektör Yrd.-Fen Bilimleri Enstitüsü Md., Sos.Bil. Ens. Md V

Burcu ÇEVRELİ  
Veteriner Hekim  
Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

Yrd. Doç.Dr. Emel Serdaroğlu KAŞIKÇI  
Biyokimya Uzmanı  
MDBF / Moleküler Biyoloji ve Genetik

Yrd.Doç.Dr. Mesut KARAHAN (İznilik)  
SHMYO / Biyomedikal Cihaz Teknolojisi

Fadime CANBOLAT  
Uzman Farmakolog  
SHMYO / Gıda Teknolojisi

Yelda İBADI  
Araştırma Görevlisi  
İTBF / Psikoloji (İngilizce)

Mustafa ALPER  
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Akif GÜZTOKLUSU  
Sivil Üye

## 7. KAYNAKLAR

- Alsene K, Deckert J, Sand P, de Wit H(2003) Association between A2a receptor gene polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *neuropharmacology* 28:1694-702
- Baumann CR, Bassetti CL. Hypocretins (Orexins) and Sleep-Wake Disorders. *Lancet Neurology* 2005; 4:673-82.
- Beiras-Fernandez A, Gallego R, Blanco M, Garcia-Caballero T, Dieguez C, Beiras A. Merkel cells, a new localization of prepro-orexin and orexin receptors. *J Anat* 2004, 204(2):117-122.
- Broberger C, De Lecea L, Sutcliffe JG, Hokfelt T. Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems. *J Comp Neurol* 1998, 402(4):460-474.
- Brundin L, Petersén A, Björkqvist M, Träskman-Bendz L. Orexin and psychiatric symptoms in suicide attempters. *J Affect Disord.* 2007 Jun;100(1- 3):259-63.
- Bülbül, M. (2008) Şıçanlarda mide motilitesi üzerine oreksin A'nın periferal etkisi. Tez (PhD), Akdeniz Üniversitesi
- Cai XJ, Liu XH, Evans M, Clapham JC, Wilson S, Arch JR, Morris R, Williams G. Orexins and feeding: special occasions or everyday occurrence? *Regul Pept.* 2002 Mar 15;104(1-3):1-9.
- Cai XJ, Widdowson PS, Harrold J, Wilson S, Buckingham RE, Arch JR, Tadayyon M, Clapham JC, Wilding J, Williams G. Hypothalamic orexin expression: modulation by blood glucose and feeding. *Diabetes.* 1999 Nov;48(11):2132-7.
- Concas A, Porcu P, Sogliano C, Serra M, Purdy PH, Biggio G. Caffeine-Induced Increases in Brain and Plasma Concentration of Neuroactive Steroids in the Rat. *Pharmacol Biochem Behavior* 2000; 66:No.1, 39-45.
- Cornelis MC, El-Sohehy A,Campos H (2007) Genetics polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. *Am J. Clin Nutr* 86:240-244.
- Cun Y, Tang L, Yan J, He C, Li Y, Hu Z, Xia J. Orexin A attenuates the sleep-promoting effect of adenosine in the lateral hypothalamus of rats. *Neurosci Bull.* 2014 30: 877-886.
- Cutler DJ, Morris R, Sheridhar V, Wattam TA, Holmes S, Patel S, et al. Differential distribution of orexin-A and orexin-B immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *Peptides* 1999;20:1455–70.
- Çelik E, Uzbay IT, Karakas S. Caffeine and amphetamine produce cross-sensitization to nicotine-induced locomotor activity in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006;30:50-55.
- Dalal MA, Schuld A, Haack M, Uhr M, Geisler P, Eisensehr I, Noachtar S, Pollmächer T. Normal plasma levels of orexin A (hypocretin-1) in narcoleptic patients. *Neurology.* 2001 Jun 26;56(12):1749-51.
- Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, Sakurai T, Yanagisawa M, Nakazato M. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999, 96(2):748-753.
- Domino EF. Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 2001; 25: 59-71.
- Dube MG, Horvath TL, Kalra PS, Kalra SP. Evidence of NPY Y5 receptor involvement in food intake elicited by orexin A in sated rats. *Peptides.* 2000 Oct;21(10):1557-60.



- Dun NJ, Le Dun S, Chen CT, Hwang LL, Kwok EH, Chang JK. Orexins: a role in medullary sympathetic outflow. *Regul Pept.* 2000 Dec 22;96(1-2):65-70.
- Ebrahim IO, Howard RS, Kopelman MD, Sharief MK, Williams AJ. The hypocretin/orexin system. *J R Soc Med.* 2002 May;95(5):227-30.
- Ehrström M, Näslund E, Ma J, Kirchgessner AL, Hellström PM. Physiological regulation and NO-dependent inhibition of migrating myoelectric complex in the rat small bowel by OXA. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003 Oct;285(4):G688-95.
- Ehrström M, Gustafsson T, Finn A, Kirchgessner A, Grybäck P, Jacobsson H, Hellström PM, Näslund E. Inhibitory effect of exogenous orexin a on gastric emptying, plasma leptin, and the distribution of orexin and orexin receptors in the gut and pancreas in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Apr;90(4):2370-7.
- Elias CF, Saper CB, Maratos-Flier E, Tritos NA, Lee C, Kelly J, Tatro JB, Hoffman GE, Ollmann MM, Barsh GS, Sakurai T, Yanagisawa M, Elmquist JK. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *J Comp Neurol* 1998, 402(4):442-459.
- Evans SM, Griffiths RR (1992) Caffeine tolerance and choice in humans. *Psychopharmacology* 108:51-59.
- Fredholm BB (1995) Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine. *Pharmacol Toxicol* 76:93-101.
- Garrett BE, Griffiths RR (1997) the role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and man. *Pharmacol Biochem Behav* 57:533-541.
- Gültekin H, Şahin S. Oreksinler (hipokretinler): Obezite tedavisinde yeni hedef moleküller, *Genel Tıp Dergisi* 2005;15(2):85-90
- Haynes AC, Jackson B, Overend P, Buckingham RE, Wilson S, Tadayyon M, Arch JR. Effects of single and chronic intracerebroventricular administration of the orexins on feeding in the rat. *Peptides.* 1999;20(9):1099-105.
- Heier MS, Evsiukova T, Vilming S, Gjerstad MD, Schrader H, Gautvik K. CSF hypocretin-1 levels and clinical profiles in narcolepsy and idiopathic CNS hypersomnia in Norway. *Sleep.* 2007 Aug 1;30(8):969-73.
- Heinonen MV, Purhonen AK, Mäkelä KA, Herzig KH. Functions of orexins in peripheral tissues. *Acta Physiol (Oxf).* 2008 Apr;192(4):471-85.
- Horvath TL, Diano S, van den Pol AN. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 1999, 19(3):1072-1087
- Jain MR, Horvath TL, Kalra PS, Kalra SP. Evidence that NPY Y1 receptors are involved in stimulation of feeding by orexins (hypocretins) in sated rats. *Regul Pept.* 2000 Feb 8;87(1-3):19-24.
- Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Interacting appetiteregulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 1999, 20(1):68-100.
- Karadağ MG, Aksoy M, New discovery neuropeptides: Orexin. *Med Med J.* 2009; 24(2): 79-87
- Kastin AJ, Akerstrom V. Orexin A but Not Orexin B Rapidly Enters Brain from Blood by Simple Diffusion. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 289(1): 219–223.
- Kayır H, Uzbay IT (2002) Investigation of a possible sensitization development to a challenge dose of ethanol after two weeks following the single injection in mice. *Pharmacol Biochem Behav*73:551-556.
- Kayır H, Uzbay IT. Evidence for the role of nitric oxide in caffeine-induced locomotor activity in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2004;172:11-15.

- Kilduff TS, Peyron C. The hypocretin/orexin ligand-receptor system: implications for sleep and sleep disorders. *Trends Neurosci.* 2000 Aug;23(8):359-65.
- Kirchgessner AL. Orexins in the brain-gut axis. *Endocr Rev.* 2002 Feb;23(1):1-15.
- Kolaylı S, Ocak M, Kucuk M, Abbasoglu R. Does caffeine bind to metal ions? *Food Chemistry* 2004; 84: 383–8.
- Kirchgessner AL, Liu M. Orexin synthesis and response in the gut. *Neuron.* 1999 Dec;24(4):941-51.
- Korczynski W, Ceregrzyn M, Matyjek R, Kato I, Kuwahara A, Wolinski J, Zabielski R. Central and local (enteric) action of orexins. *J Physiol Pharmacol.* 2006 Nov;57 Suppl 6:17-42.
- Komaki G, Matsumoto Y, Nishikata H, Kawai K, Nozaki T, Takii M, Sogawa H, Kubo C. Orexin-A and leptin change inversely in fasting nonobese subjects. *Eur J Endocrinol.* 2001 Jun;144(6):645-51.
- Kolaylı S, Ocak M, Kucuk M, Abbasoglu R. Does caffeine bind to metal ions? *Food Chemistry* 2004; 84: 383–8.
- Kukkonen JP, Holmqvist T, Ammoun S, Akerman KE. Functions of the orexinergic/hypocretinergic system. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002 Dec;283(6):C1567-91.
- Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg EL, Gautvik VT, Bartlett FS 2nd, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG. The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jan 6;95(1):322-7.
- Leibowitz SF, Wortley KE. Hypothalamic Control of Energy Balance: Different Peptides, Different Functions. *Peptides* 2004;25(3):473-504
- Liu, ZW, Gao, XB, Adenosine inhibits activity of hypocretin/orexin neurons via A1 receptor in the lateral hypothalamus: a possible sleep-promoting effect. *J Neurophysiol.* 2007 January ; 97(1): 837–848.
- Lopez M, Senaris R, Gallego R, et al. Orexin Receptors Are Expressed in the Adrenal Medulla of The Rat. *Endocrinology* 2005;140(12):5991-5994.
- Lu XY, Bagnol D, Burke S, Akil H, Watson SJ. Differential distribution and regulation of OX1 and OX2 orexin/hypocretin receptor messenger RNA in the brain upon fasting. *Horm Behav.* 2000 Jun;37(4):335-44.
- Martin JV, Nolan B, Wagner GC, Fisher H. Effects of dietary caffeine and alcohol on liver carbohydrate and fat metabolism in rats. *Med Sci Monit* 2004; 10(12): 455-61.
- McKim MW. *Drugs and Behavior. An Introduction to Behavioral Pharmacology.* Forth Edition, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 2000.
- Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Yanagisawa M, Matsukura S. Widespread distribution of orexin in rat brain and its regulation upon fasting. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Mar 24;256(3):495-9.
- Mullett MA, Billington CJ, Levine AS, Kotz CM. Hypocretin I in the lateral hypothalamus activates key feeding-regulatory brain sites. *Neuroreport.* 2000 Jan 17;11(1):103-8.
- Mumford GK, Evans SM, Kamiski BJ, Preston KL, Sannerud CA, Silverman K, Griffiths RR (1994) Discriminative stimulus and subjective effects of theobromine and caffeine in humans. *Psychopharmacology* 115:1-8.
- Murphy JA, Deurveilher S, Semba K. Stimulant doses of caffeine induce c-FOS activation in orexin/hypocretin-containing neurons in rat; *Neuroscience.* 2003;121(2):269-75.

- Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res* 1999, 827(1-2):243-260.
- Nehlig A, Daval JL, Derby G.(1992) Caffeine and the central nervous system: mechanism of action and, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Rev.* 17:139-170.
- Nishino S. The hypothalamic peptidergic system, hypocretin/orexin and vigilance control. *Neuropeptides.* 2007 Jun;41(3):117-33.
- Nishino S. The Hypocretin/Orexin System in Health and Disease. *Biological Psychiatry* 2003;54:87-95.
- Park ES, Yi SJ, Kim JS, Lee HS, Lee IS, Seong JK, Jin HK, Yoon YS. Changes in orexin-A and neuropeptide Y expression in the hypothalamus of the fasted and high-fat diet fed rats. *J Vet Sci.* 2004 Dec;5(4):295-302.
- Pierce RC, Kalivas PW. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Rev* 1997; 25: 192-216.
- Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 1998, 18(23):9996-10015.
- Retey JV, Adam M, Khatami R, Luhmann UF, Jung HH, Berger W, Landolt HP (2007) A genetic variation in the adenosine A2a receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. *Clin Pharmacol Ther* 81: 692-698.
- Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev* 1993; 18: 247-291.
- Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: An incentive sensitisation theory of drug addiction. *Brain Res Rev* 18: 274-291, 1993.
- Robinson TE, Berridge KC. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction* 95: 91-117, 1993.
- Rodgers RJ, Halford JC, Nunes de Souza RL, Canto de Souza AL, Piper DC, Arch JR, Upton N, Porter RA, Johns A, Blundell JE. SB-334867, a selective orexin-1 receptor antagonist, enhances behavioural satiety and blocks the hyperphagic effect of orexin-A in rats. *Eur J Neurosci.* 2001 Apr;13(7):1444- 52.
- Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 1998 Mar 6;92(5): 573-85.
- Samson WK, Resch ZT. The Hypocretin/Orexin Story. *Trends Endocrinol Metab.* 2000 Sep;11(7):257-62.
- Samsom WK Taylor MM, Ferguson AV. Non-Sleep Effects of Hypocretin/Orexin. *Sleep Medicine Review* 2005;1:10.
- Schneider JE. Energy Balance and Reproduction. *Physiology & Behavior* 2004;81:289-317.
- Sharma R, Sahota P, Thakkar MM. Role of adenosine and the orexinergic perifornical hypothalamus in sleep-promoting effects of ethanol. *Sleep* 2014;37: 525-533.
- Siegel JM, Moore R, Thannickal T, Nienhuis R. A brief history of hypocretin/orexin and narcolepsy. *Neuropsychopharmacology.* 2001 Nov;25(5 Suppl):S14-20.
- Smart D. Orexins: a new family of neuropeptides. *Br J Anaesth.* 1999 Nov;83(5):695-7.

- Smart D, Jerman JC. The physiology and pharmacology of the orexins. *Pharmacol Ther* 2002;94:51-61.
- Smart D, Haynes AC, Williams G, Arch JR. Orexins and the treatment of obesity. *Eur J Pharmacol* 2002 ;440:199-212.
- Snyder SH (1981) Adenosine receptors and the actions of methylxantines. *Trend Neuroscience* 4:242-244.
- Son HY, Nishikawa A, Kanki K, Okazaki K, Kitamura Y, Lee KY, Umemura T, Hirose M. Synergistic interaction between excess caffeine and deficient iodine on the promotion of thyroid carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Sci* 2003; 94: No. 4, 334–7.
- Spinazzi R, Andreis PG, Rossi GP, et al. Orexins in the Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Pharmacol Review* 2006;58(1):46-57.
- Stolerman I (1992) Drugs of abuse: Behavioral principles, methods and terms. *Trends Pharmacol Sci* 13: 170-176.
- Stewart J, Badiani A (1993) Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behav Pharmacol* 4: 289-312.
- Sutcliffe JG, de Lecea L. The hypocretins: excitatory neuromodulatory peptides for multiple homeostatic systems, including sleep and feeding. *J Neurosci Res* 2000, 62(2):161-168.
- Sweet DC, Levine AS, Billington CJ, Kotz CM. Feeding response to central orexins. *Brain Res.* 1999 March; 821(2): 535-538.
- Tan, R. (2011) Oreksin A'nın iskemi reperfüzyon ile oluşturulan mide hasarlarına karşı koruyucu etkisinde duysal afferent sinirlerin ve nitrik oksit'in rolü. Tez (PhD), Akdeniz Üniversitesi
- Uzbay IT, Erden BF, Tapanyığıt EE, Kayaalp SO. Nitric oxide synthase inhibition attenuates signs of ethanol withdrawal in rats. *Life Sci*, 61: 2197-2209, 1997.
- Uzbay IT, Coskun I, Kayir H, Ozturk N, Ozturk Y. Extract of *Hypericum perforatum* blocks caffeine-induced locomotor activity in mice: a possible role of nitric oxide. *Phytother Res.* 2007; 21: 415-419.
- Uzbay T (2015). Madde bağımlılığı: Tüm boyutlarıyla Bağımlılık ve Bağımlılık Yapan Maddeler, İstanbul Tıp Kitabevi, 1. baskı
- Van den Pol AN, Gao XB, Obrietan K, Kilduff TS, Belousov AB. Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin/orexin. *J Neurosci* 1998, 18(19):7962- 7971
- Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep? Orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Rev Neurosci* 2001, 24:429-458.
- Willie JT, Renthal W, Chemelli RM, et al. Modafinil More Effectively Induces Wakefulness in Orexin-Null Mice than in Wild-Type Littermates. *Neuroscience* 2005;130:983-995.
- Wise RA, Bozarth MA (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94: 469-492.
- Wolf G. Orexins: a newly discovered family of hypothalamic regulators of food intake. *Nutr Rev.* 1998 Jun;56(6):172-3.
- Yamanaka A, Kunii K, Nambu T, Tsujino N, Sakai A, Matsuzaki I, Miwa Y, Goto K, Sakurai T. Orexin-induced food intake involves neuropeptide Y pathway. *Brain Res* 2000, 859(2):404-409.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Elif Sakız

Doğum Tarihi: 06.11.1993

e-mail : elif\_sakiz@hotmail.com

### EĞİTİM

2015 - 2017 Üsküdar Üniversitesi, Nörobilim Yüksek Lisans

2011- 2015 İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

### İŞ DENEYİMİ

Şubat 2014 İstanbul Üniversitesi, Genetik Tanı Merkezi (GETAM), Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul

Haziran 2014 Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri

Temmuz 2014 İnönü Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Genetik Mühendisliği Laboratuvarı, Malatya

Temmuz 2016 Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri

### YABANCI DİL

İngilizce

## **KATILDIĞI KONGRELER ve TOPLANTILAR**

- 2014 İstanbul Üniversitesi, IUGEN Genetik Semineri
- 2014 Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Hafta sonu Semineri
- 2013 Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Hafta sonu Semineri
- 2013 İstanbul Üniversitesi, IUGEN Genetik Semineri
- 2013 Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri
- 2012 Yeni Yüzyıl Üniversitesi- Kanser Semineri

## **DİĞER FAALİYETLER**

Alınan Sertifikalar:

Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (ACUDEHAM), Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 10/2016

İstanbul Üniversitesi, Sinirbilim Kongresi, Hücre Kültürü ve Primer Nöron Kültürü Teknikleri Kursu, Nisan 2017

Kocaeli Üniversitesi, Kök Hücre ve Doku Mühendisliği Kursu, Temmuz 2017