

164561

T. C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİDE ASİT SEKRESYONU VE MÜKÜS MİKTARININ  
DÜZENLENMESİNDE GHRELİN'İN ROLÜ**

Arş. Gör. H. MURAT BİLGİN  
DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mustafa KELLE

DİYARBAKIR  
2005

## TEŐEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince ve tez çalışmam sırasında benden bilgisini, ilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa Kelle'ye,

Bilimsel deneyimlerinden her ortamda faydalandığım Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Abdurrahman Şermet'e,

Çalışmalarım sırasında bana her türlü konuda destek olan Sayın Prof. Dr. Hüda Diken Oflazoğlu'na,

Deneyisel deneyimlerinden yararlandığım ve bölüm içinde her zaman yardımını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Cemil Tümer'e,

Anabilim dalımızdaki diğer öğretim üyesi hocalarım ve asistan arkadaşlarıma,

Eğitimim ve tüm yaşamım boyunca bana her konuda destek olan aileme ve sabrı için de eşime,

Minnet ve şükran duygularıyla en içten teşekkürlerimi sunarım.

H.Murat BİLGİN

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

TABLO LİSTESİ	:	.....	I
GRAFİK VE ŞEKİL LİSTESİ	:	.....	II
KISALTMALAR	:	.....	III
ÖZET	:	.....	IV
ABSTRACT	:	.....	VI
GİRİŞ VE AMAÇ	:	.....	1
1.GENEL BİLGİLER	:	.....	3
2.GEREÇ VE YÖNTEMLER	:	.....	23
3.BULGULAR	:	.....	28
4.TARTIŞMA	:	.....	40
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	:	.....	44
6.KAYNAKLAR	:	.....	45
ÖZGEÇMİŞ	:	.....	57

**TABLO LİSTESİ****SAYFA**

<b>Tablo 1.</b> Mide sekresyon hacmi değerlerinin karşılaştırılması	<b>30</b>
<b>Tablo 2.</b> Mide asit düzeyi değerlerinin karşılaştırılması	<b>31</b>
<b>Tablo 3.</b> Plazma total nitrit düzeylerinin karşılaştırılması	<b>32</b>
<b>Tablo 4.</b> Plazma ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması	<b>33</b>
<b>Tablo 5.</b> Mide yapışkan müküs miktarının karşılaştırılması	<b>34</b>
<b>Tablo 6.</b> Mide sekresyon hacmi ortalama değerleri	<b>35</b>
<b>Tablo 7.</b> Mide asit düzeyi ortalama değerleri	<b>35</b>
<b>Tablo 8.</b> Plazma total nitrit düzeyi ortalama değerleri	<b>35</b>
<b>Tablo 9.</b> Plazma ghrelin düzeyi ortalama değerleri	<b>36</b>
<b>Tablo 10.</b> Mide yapışkan müküs ortalama değerleri	<b>36</b>

## GRAFİK VE ŞEKİL LİSTESİ

## SAYFA

<b>Şekil 1.</b> Ghrelin'in Çeşitli Yapısal Formları	4
<b>Şekil 2.</b> Ghrelin'in Moleküler Yapısı	5
<b>Şekil 3.</b> Ghrelin'in Salınımı ve Etkileri	9
<b>Şekil 4.</b> Ghrelin'in Günlük Düzeyleri	13
<b>Şekil 5.</b> Parietal hücreden asit salgı modelini	20
<b>Grafik 1.</b> Kontrol ve deney gruplarında mide asit salgı hacmi değerlerinin karşılaştırılması	37
<b>Grafik 2.</b> Kontrol ve deney gruplarında mide asit düzeyi değerlerinin karşılaştırılması	37
<b>Grafik 3.</b> Kontrol ve deney gruplarında total nitrit düzeylerinin karşılaştırılması	38
<b>Grafik 4.</b> Kontrol ve deney gruplarında plazma ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması	38
<b>Grafik 5.</b> Kontrol ve deney gruplarında mide yapışkan müküs miktarının karşılaştırılması	39

## KISALTMALAR

<b>TRH</b>	: Tirotropin salıcı hormon
<b>CART</b>	: Kokain ve amfetamin regüle edici transkript
<b>CRF</b>	: Kortikotropin serbestleştirici faktör
<b>GH</b>	: Büyüme hormonu
<b>GHS-R</b>	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
<b>GGDT</b>	: Ghrelin kökenli transkript
<b>GHS</b>	: Büyüme hormonu salgılatıcıları
<b>Pit-1</b>	: Transkripsiyon faktörü
<b>NPY</b>	: Nöropeptid Y
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentaz
<b>L-NAME</b>	: N-nitro-L-arjinin metil ester
<b>AgRP</b>	: Agouti –related protein
<b>DMNV</b>	: Vagus sinirinin dorsomotor çekirdeği
<b>GRP</b>	: Gastrin salıcı peptid
<b>ECL</b>	: Enterokromaffin benzeri hücre
<b>PACAP</b>	: Hipofiz adenilat siklaz aktive edici peptid
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Bikarbonat
<b>HCL</b>	: Hidroklorik asit
<b>SRIH</b>	: Somatotropin release inhibiting hormone (Somatostatin)
<b>MAP</b>	: Mitogen active edici protein
<b>POMC</b>	: Proopiomelanokortin

## ÖZET

**Mide asit sekresyonu ve müküs miktarının düzenlenmesinde ghrelin'in rolü. Bilgin M., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Diyarbakır 2005.**

**Amaç:** Ghrelin hormonunun mide asit sekresyonunda işlevi bulunmaktadır. Bu işlevini de gastrin veya vagal stimülasyon üzerinden gerçekleştirmektedir. Nitrik oksit (NO), vücutta besin alınımının düzenlenmesinde önemli görevler alır. Bir NO inhibitörü olan N-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)'in, ghrelinin besin alınımını indükleyen etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir. Biz de bu bilgileri araştırmak üzere, intravenöz yolla ghrelin ve ghrelin+L-NAME uyguladığımız sıçanlarda mide asit sekresyonu ve yapışkan müküs düzeylerini inceledik.

**Materyal ve Metod:** Bu çalışmada 200-300 gr. ağırlıklarında Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Deneylere başlamadan önce sıçanlar 24 saat süresince aç bırakıldı ancak su içmelerine izin verildi. Mide asit sekresyonu çalışmamızda pilor ligasyon metodunu kullandık. Hafif eter anestezisi altında, batın orta hattında küçük bir insizyon uygulanarak pilor bağlandı ve abdominal duvar kapatıldı. Pilor ligasyonu esnasında birinci gruba intravenöz yolla 20 µg/kg ghrelin enjeksiyonu uygulandı, ikinci gruba i.v. ghrelin'e ek olarak subkutan 70mg/kg L-NAME verildi ve hayvanlar 3 saat sonra feda edildi. Kontrol grubu sıçanlara 0.5 ml serum fizyolojik tek doz olarak pilor ligasyonundan hemen sonra intravenöz olarak verildi ve 3 saat sonra mide asit sekresyonu ile ilgili I. ve II. grubuna uygulanan işleme tabi tutuldu. Daha sonra hayvanların mideleri çıkarılarak mide sıvısı toplandı ve supernatant volümü ölçüldü. Alınan sıvı 0.01 N NaOH ile 1/20 titrasyonda ve 7 pH'da dilüe edildi.

**Bulgular:** Mide sekresyon hacmi açısından ghrelin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmezken, ghrelin+ L-NAME grubunda önemli bir azalma gözlemlendi ( $p<0.01$ ). Asit düzeyi açısından yapılan karşılaştırmada ghrelin grubunda önemli bir artış saptanırken ( $p<0.05$ ), ghrelin+L-NAME grubunda belirgin bir azalma görüldü ( $p<0.001$ ). Plazma total nitrit düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, ghrelin grubundaki artış diğer gruplara göre belirgindi ( $p<0.01$ ). Plazma ghrelin düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Ghrelin grubunda yapışkan müküs miktarında, kontrol

grubuna göre önemli bir artış gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Ghrelin+L-NAME grubunda yapışkan müküs miktarları açısından kontrol grubuna ve ghrelin grubuna göre belirgin bir azalma saptandı ( $p<0.01$ ).

**Sonuçlar:** Bu çalışma ghrelin uygulamanın mide asit salınımını arttırdığını ancak ghrelin+L-NAME uygulamanın ise azalttığını gösterdi. Ghrelin uygulamasıyla artan mide yapışkan müküs miktarı ise ghrelin+L-NAME uygulamasıyla azalma gösterdi.

**Anahtar Sözcükler:** asit sekresyonu, ghrelin, mide müküs miktarı





## ABSTRACT

**The role of ghrelin at the regulation of gastric acid secretion and mucus content. Bilgin M, Dicle University Medical Faculty, Department of Physiology. PhD Thesis, Diyarbakır, 2005.**

**Purpose:** Ghrelin has been proposed to stimulate gastric acid secretion. The postulated stimulatory effect of ghrelin on acid secretion has been proposed to be mediated by gastrin or by vagal stimulation. Nitric oxide is generally thought to play a role at the regulation of feeding. This activity of NO is inhibited by L-NAME (a NOS inhibitor). We tested this assumption by determining the gastric acid levels and mucus content in the rats that were taken ghrelin intravenously and the inhibitor of NO synthase activity (L-NAME) subcutaneously. So, the objective of the present study was to examine the possible effects of peripherally administered ghrelin and endogenous NO release on gastric acid secretion.

**Material and Methods:** In this study, we used Wistar albino rats weighing 200-300 g. Before the experiments all rats were starved for 24 h, but had free access to tap water. We performed acid secretion studies by using the pylorus ligation method. The stimulated acid output after pylorus ligation reflects vagal excitation. Under light ether anesthesia, the pyloric sphincter was ligated through a small midline incision and the abdominal wall was closed. 20 µg/kg dose of ghrelin (dissolved in 1ml of saline) was injected intravenously at the time of pyloric ligation to the first group. In addition to i.v. ghrelin, 70 mg/kg L-NAME was performed subcutaneously to the second group. Saline infusion was performed to the control group. The animals were euthanized 3 h after pylorus ligation, the stomachs were removed and the gastric fluid were collected. The volume of supernatant was measured and diluted appropriately (1:20) for titration with 0.01 N NaOH to pH 7.

**Results:** No statistical difference was determined between the control and the ghrelin group about gastric acid volume while there was a significant decrease at ghrelin+L-NAME group ( $p < 0.01$ ). The acid output was increased at ghrelin group ( $p < 0.05$ ) while it was decreased at ghrelin+L-NAME group ( $p < 0.01$ ). The increased plasma total nitrite levels at ghrelin group were significant against the other groups ( $p < 0.01$ ). There was no important statistical difference among the groups about plasma ghrelin

levels ( $p>0.05$ ). The mucus content was higher at ghrelin group than the control group ( $p<0.05$ ) while it was significantly lower at ghrelin+L-NAME group ( $p<0.01$ ).

**Conclusion :** In this study,we demonstrate that the gastric acid secretion was increased by administrating ghrelin while it was decreased by ghrelin+L-NAME infusion. Gastric mucus content was also increased by ghrelin infusion while it was decreased by ghrelin+L-NAME administration.

**Key Words:** acid secretion, ghrelin, gastric mucus content



## GİRİŞ ve AMAÇ

Ghreltin, ilk olarak Kojima ve arkadaşları tarafından büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün endojen bir ligandı olarak keşfedilmiş 28 aminoasitli bir hormondur(1). Başlıca midenin fundus mukozasında bulunan özelleşmiş enterokromaffin hücreleri tarafından üretilir.

Ghreltin güçlü bir büyüme hormonu endojen salgılatıcısı olmasının yanı sıra, büyüme hormonundan bağımsız etkilere de sahiptir. İştah açıcı bir hormondur ve besin alınımını uyarır. Ghreltin hormonunun birçok fonksiyonlara sahip olduğu, yapılan deneysel çalışmalardan anlaşılmış bulunmaktadır. Merkezi sinir sisteminde beslenme davranışı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol almaktadır (2). Enerji homeostazisini kontrol eden tirotropin salıcı hormon (TRH), orexin A, kokain ve amfetamin regüle edici transkript (CART) ve kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF) gibi hipotalamik peptidlerin mide asit salgısının düzenlenmesinde rol almalarından dolayı, mide işlevinin düzenlenmesinde ghreltin'in de bir rol alıp almadığını incelemek istedik.

Ghreltin'in mide fonksiyonları ile ilgili fizyolojik ve farmakolojik etkileri araştırılmakta ancak söz konusu hormonun mide asit yapımı ve salgılanması konusunda çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Bazı araştırmacılara göre ghreltin santral veya periferik olarak uygulandığında mide asit yapımını uyarmakta (3) ancak kimilerine göre de mide asit yapımını inhibe etmektedir (4). Dornonville ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise subkutan ve intravenöz ghreltin uygulanmasının mide asit yapımını etkilemediği gösterilmiştir (5).

Nitrik oksit'in mide asit salınımı üzerine etkilerinin bilinmesi ve eksojen ghreltin uygulaması ile nitrik oksit sentaz düzeylerinin artması, ghreltin'in nitrik oksit üzerinden etki gösterebileceğini düşündürmüştür.

Bugüne dek ghreltin konusunda ulaşılan bilgiler bu hormonun besin alımının düzenlenmesinde, mide fonksiyonları ve santral sinir sistemi arasındaki feed-back sinyallerin sağlanmasında görev yapan fizyolojik bir mediatör olabileceğini düşündürmektedir.

Mevcut literatür bilgilerinin çelişkili olması nedeniyle, ghrelin'in midede asit yapımı ve salgılanmasını hangi yönde etkilediği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Konunun aydınlatılmasına katkıda bulunmak için yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında, sıçanlarda periferik yolla ghrelin uygulamasının mide asit sekresyonuna etkisini, ghrelin ile nitrik oksit sistemi arasındaki muhtemel ilişkiyi, konuyla ilgili çelişkili bilgilerin nedenlerinin ortaya çıkarılması ve mide fizyolojisine katkıda bulunmayı amaçladık.

Bu araştırma sonuçlarının, ghrelinin mide asit sekresyonuna etkileri konusunda varolan çelişkili bilgilere kısmen açıklık getireceği inancını taşıyoruz. Ayrıca bu araştırma sonuçlarının mide asit sekresyonu ile ilgili patolojik durumlarda ghrelinin rolüne yönelik çalışmalara da temel oluşturabileceği kanaatindeyiz.



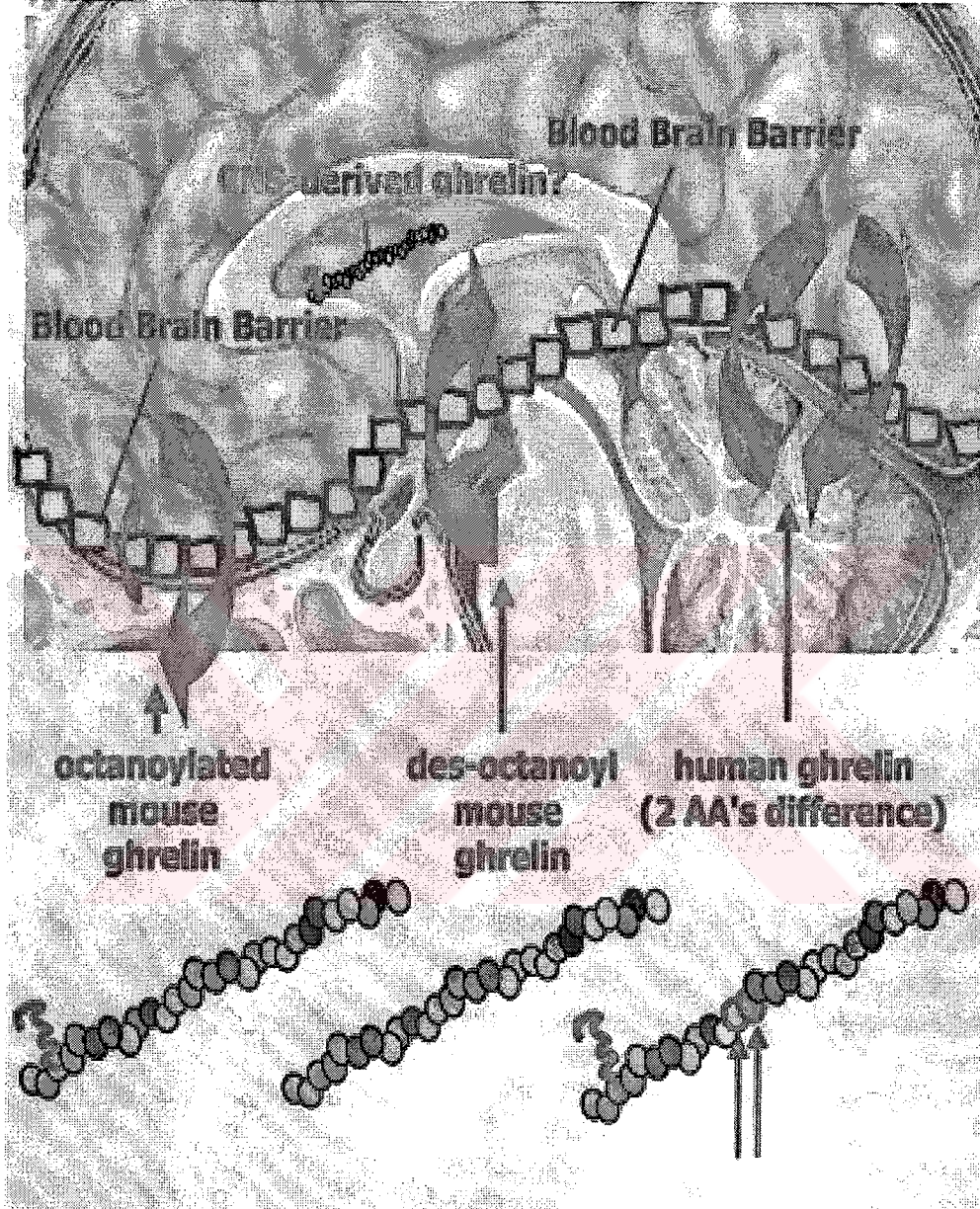
## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Ghrelin'in İzolasyonu ve Yapısı

Ghrelin, in vivo ve in vitro olarak GH (büyüme hormonu) sekresyonunu stimule eden GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) için spesifik endojen bir ligand olarak rat mide dokusundan izole edilmiş ve 28 aminoasitli, açillenmiş peptid şeklinde karakterize edilmiştir (1). Başlıca salınım yeri mide oksintik mukozasındaki A- benzeri hücrelerdir (1). Ghrelin ismi Hint-Avrupa dillerindeki "grow" kelimesinden köken almıştır (6).

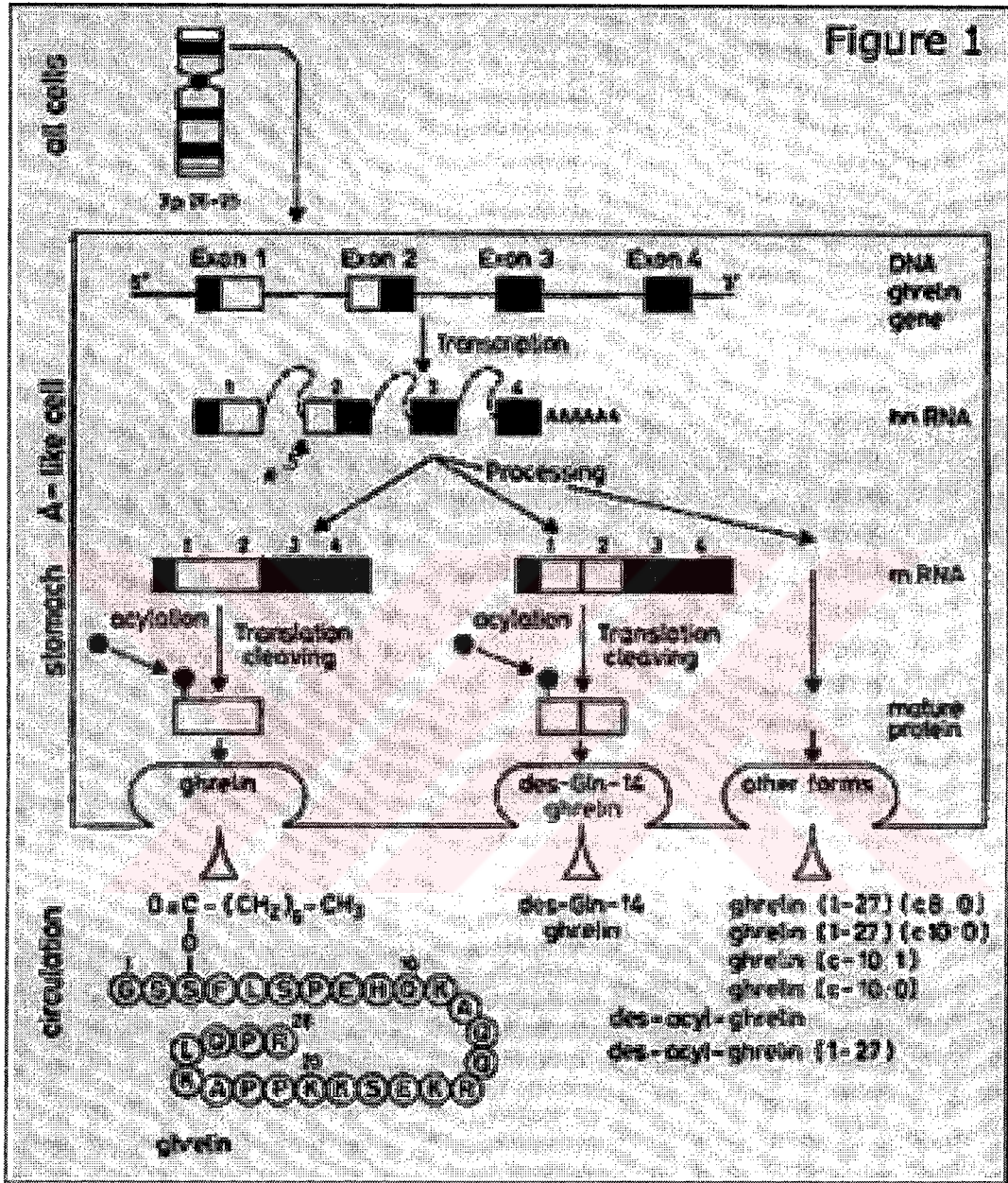
Ghrelin prokürsörü (preproghrelin) 117 aminoasit'den oluşur. Salınmadan önce sitoplazmada enzimatik bir süreçte uğrar, üçüncü pozisyonundaki serin'e n-octanoyl eklenir ki bu da ghrelin'in GH salgılatıcı etkinliği için gereklidir. Bu post translasyonel modifikasyon, ghrelin molekülüne kazandırdığı hidrofobik özelliğiyle beyin dokusuna, spesifik olarak da hipotalamus ve hipofiz'e geçişine imkan sağlamaktadır. Hücre biyolojisinde ilk defa, salınan bir proteinde açılasyon gözlenmiş olmaktadır. Bu orijinal sentezin sonunda matür ghrelin oluşur. Açıl grubu taşımayan ghrelin formu olan des-octanoyl-ghrelin'in hipotalamik ve hipofizer reseptörlere bağlanamadığının görülmesi, n-octanoyl grubunun moleküle kazandırdığı hidrofobik özelliğin, ghrelin'in GHS-R ile bağlanmasında da çok önemli bir faktör olabileceğini düşündürmektedir (2). Yani, 3. pozisyonundaki serin'in OH- grubunun n-octanoid asit ile açillenmesi, molekülün kan-beyin bariyerini geçmesi ve endokrin fonksiyonu için gereklidir (7). 14. pozisyonundaki glutamin'in olmadığı bir analog peptid daha vardır ve des-Gln(14)-ghrelin adını alır (8). Burada CAG kodonunda bir delesyon söz konusudur. Bu arada testis'e spesifik bir ghrelin kökenli transkript (GGDT) bulunmuştur. Bu molekül 12 aminoasit büyüklüğündedir (9).





**Şekil 1: Ghrelin'in çeşitli yapısal formları(Phoenix Pharmeutics).**





**Şekil 2:** Ghrelinin moleküler yapısı (Casamueva F, Dieguez C, Rev Endocrine Metab Dia 2002, 3: 325 -338.)

GHS-R'leri için endojen ligand'ın tespitine yönelik çalışmalarda GHS-R eksprese eden kültür hücre dizileri kullanılmış ve doku ekstratları ile muamele edilerek, hücre içi  $Ca^{++}$  düzeylerindeki değişiklikler gözlenmiştir. En belirgin hücre içi  $Ca^{++}$  düzeyi artışı mide ekstratlarıyla elde edilmiştir. Mide ekstratlarından jel filtrasyonu, iyon değişimi ve HPLC ile aktif doğal peptid saflaştırılmıştır. Sonradan yapılan sentetik bileşikler etkinlikleri bakımından endojen ghrelin ile karşılaştırılmış; bunun sonucunda sentetik ghrelin'in doğal ghrelin'e göre hücre içi  $Ca^{++}$  düzeyini yükseltmediği, HPLC ölçümlerinde daha kısa ömürlü olduğu, molekül büyüklüğünün daha küçük olduğu görülmüştür (1).

## **1.2. Ghrelin ve Büyüme Hormonu (GH) Salınımı**

Ghrelin güçlü bir büyüme hormonu endojen salıcısıdır (10,11). Büyüme hormonuna ait yolakların bileşenleri, büyüme hormonu salınımını ve etkilerini kontrol etmek suretiyle postnatal dönemdeki büyümeyi ve gelişmeyi düzenlerler. Hipofizer büyüme hormonu salınımı hipotalamik büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) ve somatostatin ile düzenlenir. GH salgılatıcılar (GHS) olarak bilinen sentetik moleküllerin de hipofizer GH salınımına yol açtığı gösterilmiştir (12, 13). Bu durum büyüme hormonu salınımında düzenleyici rol oynayan GHRH ve somatostatin gibi hipotalamik hormonların dışında başka bir takım maddelerle de büyüme hormonu salınımının gerçekleştiğini düşündürür (14,15). GHS'lar farklı bir reseptör üzerinden GH salınımına yol açar. GH Salgılatıcı Reseptör (GHS-R) ilk kez 1996'da tanımlanmıştır ancak bu reseptöre bağlanan ligand, ghrelin bulunana kadar tanımlanamamıştı. Bu reseptörler için ghrelin olarak adlandırılan endojen ligand'ın GH salıverdirmek (16) dışında, iştahın düzenlenmesinde de rol oynadığı anlaşılmıştır (2,17). Ayrıca son dönemde yapılan çalışmalar, ghrelin/GHS-R ekseninde bazı kanser tiplerinde çok önemli otokrin/parakrin etkileşimlerin görülebileceğine işaret etmektedir.

## **1.3. Büyüme Hormonu Salgılatıcıları ve Reseptörü**

Büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS), büyüme hormonu salgılamasını tetikleme yeteneğine sahip olan ve bunu spesifik reseptörleri vasıtasıyla gerçekleştiren bir grup sentetik bileşiklerdir. GHS'nın gelişimi, morfin reseptörleri



için sentetik ligandlar olan enkefalinlerin peptik analoglarının senteziyle birlikte başlamıştır. Sentezlenen sentetik enkefalin analoglarından bazılarının aynı zamanda zayıf derecede GH salgılandırma yeteneğinde olduğu bulunmuştur. Bu analogların yapısal değişikliğe uğratılması ile heptapeptid GHRP-1 ve heksapeptid GHRP-2 ve GHRP-6 olarak bilinen bir dizi küçük peptidler geliştirilmiştir (6). Bunlardan GHRP-6, ilk in vitro GH salgılatma yeteneğindeki GHRP'dir (18). Zaman içerisinde bu peptid hexarelin gibi yeni peptid analoglarının geliştirilmesine ışık tutmuştur(19). GHRP'lerin yüksek etki gücüne ve kararlılığına karşın, GİS'ten az miktarda emildiklerinden biyoyararlanımları çok düşüktür (%1'in altında).

Ayrıca spesifiteleri düşük olduğundan, GH salınımının yanı sıra sıklıkla PRL, ACTH ve kortizol salınımına da yol açarlar.

İnsan GHS-R'ü, Howard ve arkadaşlarınca tanımlanmış ve klonlanmıştır (14). GHS-R geni insan 3q26 kromozumunda lokalizedir ve 7 transmembranal kısımdan oluşan bir proteindir. GHS-R mRNA'sının tip 1a ve 1b olarak tanımlanan iki izoformu vardır (20). Bu iki tip reseptör de beyin ve periferik organlarda yaygın bir şekilde bulunmaktadır. İnsan GHS-R tip 1a 366 aminoasitlik bir polipeptittir ve reseptörün fonksiyonel formudur. Tip1a reseptörünün 7 transmembranal kısmından üçüncüsü ligandla bağlanmadan sorumlu olan kısımdır (21).

Sentetik GH salgılatıcılar GHS-R1a ile doğrudan bağlanarak, hipofiz bezi somatotrop hücrelerinden GH salınımına yol açarlar. Uyarılan GHS-R1a, G proteini ile kenetli bir reseptördür, aktiflenen Gα11 proteinkinaz C sinyal ileti sistemini harekete geçirerek, hücre içerisinde Ca<sup>+2</sup> düzeylerinin yükselmesine neden olur (22). Sentetik GHS'lar için tanımlanan bu GH salınım süreci, muhtemelen endojen ghrelin için de hemen hemen aynı şekilde gelişmektedir. Hipofiz bezinde GH geni transkripsiyonu, hipofize spesifik transkripsiyon faktörü-1 (pit-1)'e bağlıdır. Ghrelin infant sıçan ön hipofiz hücrelerinde pit-1 ekspresyonunu uyararak, vücutta GH üretiminde artışa yol açar(23). Transkripsiyon faktör pit-1 aynı zamanda somatotrop hücre farklılaşması ve çoğalmasında önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla ghrelin, GH salgılatıcı etkisinin yanı sıra pit-1 düzeylerini etkilemek suretiyle somatotrop

hücrelerin fizyolojik aktiviteleri ve fizyopatolojik değişiklikleri üzerinde de kontrol edici bir etkinlik gösterir (24, 25).

GHS-R1b 289 aminoasitli,sadece ilk beş transmembranal kısımlardan oluşan ve ek olarak yapısında 24 aminoasitlik bir kuyruk taşıyan,daha küçük yapıli bir protein molekülüdür.

GHS-R'ın birçok periferik doku ve beyin alanlarında bulunması, ghrelin'in birçok endokrin ve non-endokrin biyolojik aktivitelerinin olabileceğini düşündürmüştür. Ghrelin'in etkisini GHS-R1a üzerinden gösterdiği bilinmektedir (26). Des-acyl ghrelin, ghrelinden daha yaygın olarak bulunmasına rağmen, GHS-R1a'ya bağlanmaz ve endokrin aktivitesi yoktur.

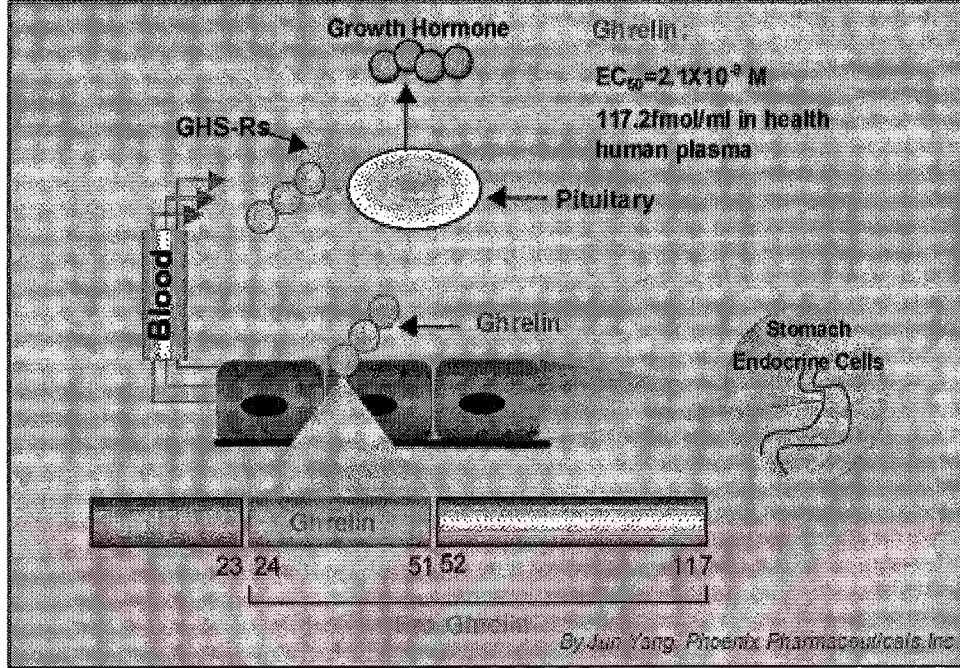
#### **1.4. Ghrelin Hormonunun Dokulardaki Dağılımı**

Vücutta ghrelin üretimi ile ilişkili iki hücreli alan bulunmaktadır. Birincisi oksintik bez; ikincisi ise nöronal hücre gruplarının sinaptik ileti ile ghrelin salınımı yaptığı santral sinir sistemi. Ghrelin çoğunlukla mide fundus mukozası oksintik bezleri içerisindeki X/A-benzeri hücreler tarafından üretilir (1). Bu hücreler rat ve insan sindirim sisteminde ışık ve elektron mikroskopisi immünohistokimyasal yöntemi ile, ayrıca in situ hibridizasyon metoduyla tanımlanmıştır (14). Ghrelin mRNA'sının ekspresyonu revers transkripsiyonu PCR yöntemiyle az miktarda da plasenta (7), testis (27), böbrek (28), hipofiz (7), prostat (9,29), ince barsak (7), pankreas (30), lenfositler (31), beyin (7), akciğer (32) ve over (33)'de de gösterilmiş olması, onun birçok biyolojik aktivitede düzenleyici rol oynayan bir peptid olduğunu göstermektedir.

#### **1.5. Ghrelin Sekresyon Mekanizması**

Ghrelin pozitif hücreler kapillerlere yakın yerleşimlidir ve oksintik bez lümeni ile irtibatı yoktur. Bu da salınımın gastrointestinal kanala değil, gastrik damarlara olduğunu göstermektedir. Böylelikle de tüm vücudu dolaşır (8).

Gastrik ghrelin sekresyonu lokal veya santral stimülasyon ile düzenlenebilir. Bu da mekanik stimulus, gastrik lümendeki sindirim ürünlerinin hareketi, sistemik dolaşımdaki maddeler ve merkezi sinir sisteminden gelen uyarıları kapsar.



Şekil 3 : Ghrelin'in Salınımı ve Etkileri

Hipofiz bezindeki somatotrof hücrelerde ghrelin için GHS-R'leri bulunmaktadır. Dolayısıyla ghrelin'in asıl olarak hipofiz bezine etki ettiği düşünülebilir. Ancak hipotalamus ve hipofiz bezi arasındaki iletişimin çeşitli nedenlerle bozulduğu hastalarda ghrelin düzeylerinin azalması, ghrelin için asıl hedef noktasının hipotalamus olduğuna işaret eder. Ghrelin'in yoğun olarak bulunduğu hipotalamus'un arkuat çekirdeği GHRH nöronlarından zengindir.

Ghrelin aynı zamanda hipotalamusda henüz tiplendirilmemiş birtakım nöronlardan da salınır. Bu nöronlar lateral, arkuat (besin alınımının düzenlendiği merkez), ventromedial, dorsomedial ve paraventriküler hipotalamik çekirdekler arasında bulunur (34). Arkuat çekirdek hipotalamus'un tabanında ve 3. ventrikülün her iki yanına yerleşmiştir. Beynin bu bölgesinde kan-beyin bariyerinin zayıf olmasından dolayı, periferik uyarılara açıktır. Kendilerini çevreleyen bu nükleuslara olduğu gibi hipotalamus dışına da dallar gönderir.

Hipotalamusdaki bu bölge, suprakiazmatik nukleusdan gelen uzantılarla iç içe girer (35). Liflerin bu şekilde karışmasının ghrelin'in sirkadyen ritminden sorumlu olduğu düşünülür.

Hipotalamik ghrelin nöronları nöropeptid Y (NPY) salıveren sinir uçlarına uzanarak, presinaptik bir etkiyle NPY nöronlarının aktivitesini arttırarak ve POMC (proopiomelanokortin)nöronlarını hiperpolarize ederek, NPY ve GABA salınımına yol açar (36). NPY gıda alımını nitrik oksit (NO) yolağı aracılığıyla düzenler (37).

Ghrelin'in hiperfaji oluşturacak dozda icv enjeksiyonu, beslenme kontrolünde yeralan hipotalamik çekirdekler ve area postrema'da c-fos immünoreaktivitesini başlatır (c-fos, bir nöronal aktivite marker'ıdır)(38,39). C-fos gen indüksiyonu, gastrik distansiyon sonrasında vagal kompleks nöronlarında artış göstermektedir(40). Intravenöz olarak verilen ghrelin, C-fos ekspresyonunu yalnızca arcuat nukleus'da oluştururken (38), merkezi olarak uygulanan ghrelin ise arcuat nukleus'un yanı sıra serebral korteks, hipokampus, dentat gyrus ve çeşitli hipotalamik çekirdeklerde de c-fos'u eksprese eder (39). Bu bulgular da periferik ghrelin ile merkezi ghrelin 'in farklı nöronal yolları yönlendirebileceğini düşündürür. Aynı aktivite soliter yol ve n.vagus'un dorsomotor çekirdeklerinde de gözlenir ki bunlar mide asit salınımının düzenlenmesinde önemli bölgelerdir (3). Soliter yol çekirdeği baroreseptör ve kemoreseptör afferentlerinin sonlandığı yerdir ve sempatik sinir sistemi ile kan basıncının düzenlendiği beyin bölgelerinin en önemlilerinden biridir.

Ghrelin'in yarı ömrü 60 dakikadan kısadır (41) çünkü plazma esteraz'ı tarafından kolayca yıkılır ve des-octanoyl-ghrelin'e dönüşür ki bu molekül inaktiftir (7). Plazma konsantrasyonu 200-600 ng/L'dir fakat %80'i deamide ghrelin'dir, yani biyolojik aktiviteden yoksundur.

## **1.6. Ghrelin ve Nitrik Oksit (NO)**

Nitrik oksit vücutta sinir, kardiyovasküler, renal, pulmoner ve diğer sistemlerde ikincil haberci gibi davranır (42). NO, mitokondri iç membranında NOS(Nitrik oksit sentaz) aracılığıyla L-arginin'den sentezlenir. Sentezlenen NO; hemoglobin,



metilen mavisi ve superoksit iyonu tarafından nötralize edilir veya 10 saniye içinde nitrat/nitritlere dönüştürülür. NOS enzimi sitokrom P450 protein ailesindedir ve L-NAME gibi bazı arginin analogları ile inhibe olur. NOS tiplerinden nNOS (NOS1,nöronal NOS) ve eNOS (NOS3, endotelial NOS) hücre içinde bulunurlar, kısa ömürlüdürler ve fonksiyonları için  $Ca^{+2}$ 'a ihtiyaç duyarlar. iNOS (NOS2, indüklenebilen NOS) immün sistem ile ilişkilidir ve uzun ömürlü etkiye sahiptir.

Konturek ve arkadaşları endojen NO'nun insanlarda postprandial asit salınımı artışında rol oynadığını belirtmişlerdir (43). Bilski ve arkadaşları NO donörlerinin ECL hücrelerinden salınan histamin vasıtasıyla mide asit salınımını arttırdığını belirtirken (98), bir başka çalışmada ise parietal hücre fonksiyonlarını inhibe etmek suretiyle de asit salınımını azaltabildikleri bildirilmiştir (44).

NO'nun besin alımının önemli bir düzenleyicisi olduğu bilinmektedir (45). Ghrelin ile uyarılan beslenmeyi L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester) bloke eder (46). Intraserebroventriküler (icv) ghrelin uygulaması hipotalamustaki NOS seviyelerini artırır. Ghrelin'in gıda alımını artırıcı etkisinin L-NAME uygulanımı ile inhibe olduğu gözlenmiştir(46). Bu durum bize ghrelin'in en azından bir kısım etkilerini NO üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.

## **1.7. Ghrelin'in Periferik Etkileri**

### **1.7.1. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri:**

Ghrelin'in, primer sekresyon yeri olan gastrointestinal sistem üzerine bir takım etkileri vardır. Ghrelin, kemirgenlerde yapılan çalışmalarda yağ dokusunun enerji kaynağı olarak kullanılmasını azaltırken, gıda alımında ve beslenmede artışa neden olmuştur.Yani enerji dengesinin düzenlenmesinde rol almaktadır(2,47). Oreksijenik(iştah açıcı) ve adipojenik etkileri vardır(48). İştah açıcı etkisini hipotalamusun arcuate çekirdeğinde bulunan NPY ve AgRP (Agouti-related protein) üzerinden yapar; ghrelin'in intraserebroventriküler enjeksiyonu ile NPY içeren nöral hücrelerde c-Fos proteini ekspresyonu indüklenir ve arkuat çekirdekdeki NPY mRNA miktarı artar (34). Ancak gerek kemirgenlerde gerekse insanlarda, diğer periferik etkili iştah açıcı peptidlerden farklı olarak hem santral

hem de periferik yolla etki oluşturur (49). Ghrelin, enerji gereksinimde bir artış olduğunda yoğun olarak bulunduğu mideden hipotalamusu uyararak, iştah stimulatörü gibi davranır (50).

Santral (NPY,AgRP) ve/veya periferik (vagal) yolla verilen ghrelin sıçan ve/veya farelerde mide motilitesini, boşalma hızını ve asit sekresyonunu artırır (51, 52). Bu durum vagotomi uygulaması ile ortadan kalkar. Gastrik vagal afferentlerin blokajının ghrelinle uyarılan GH salınımını ve beslenmeyi önleyebileceği bilinmektedir (53). Ghrelin reseptörü vagal afferent sinir uçlarına taşınmaktadır.

Bu sonuçlar, gastrik vagal afferentlerin, ghrelinin GH salınımı ve açlık durumlarında beslenme yönündeki uyarıları için başlıca sinyal yolağı olduklarını düşündürmektedir. Gastrektomi sonrası ghrelin salınımında %70 oranında azalma gözlenmiştir (34).

Hayvan modellerinde ghrelinin açlık,hipoglisemi ve leptin verilmesi esnasında up-regüle olduğu gösterilmiştir (54). Fakat gebelikte ghrelin düzeylerinde bir artış gözlenmemiştir. Bu da, gebelikte artmış besin alımının ghrelinden bağımsız olduğunu düşündürmüştür.

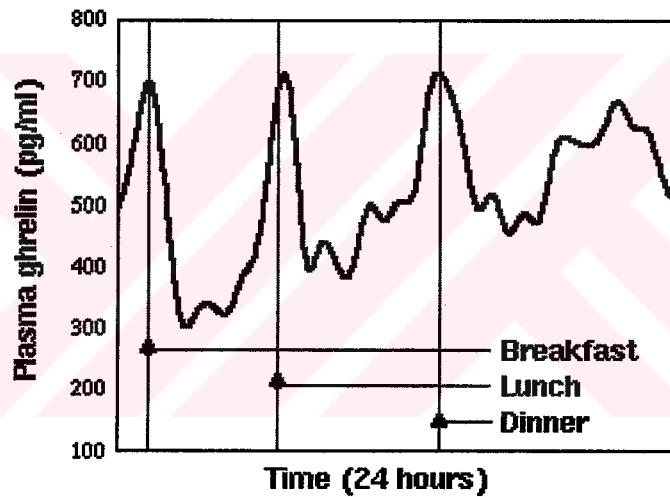
Fakat gebelerde açlık oluşturulmasıyla ghrelin düzeyi artmıştır (55). Ghrelin düzeyleri obezlerde düşük iken (56), anorexia'lı şahıslarda yüksek bulunmuştur (7).

Ghrelin'in 48 saat açlık sonrası yükseldiği ve %50'lik glukoz verilmesi ile düştüğu ancak bu düşüşün aynı oranda su verilmesi ile gözlenemediği bildirilmiştir (57).

Leptin, obez fare (ob) geninin pozisyonel klonlanmasıyla keşfedilmiş, adiposit kökenli anoreksijenik bir hormondur. Leptin'in periferik veya santral uygulanımı sonucu enerji harcanımı artar ve iştah azalır. Ghrelin, leptin'in bu anoreksijenik etkisini hipotalamik nöropeptid YY1 reseptör yoluyla antagonize eder(58). Dolayısıyla ghrelin ve leptin arasında, vücuttaki işlevleri açısından metabolik bir antagonizma bulunmaktadır.

Yemekten 1 saat önce ve yemekten 1 saat sonra ghrelin düzeyleri insanlarda ve kemirgenlerde yüksek bulunmuştur (1). Postprandial ghrelin konsantrasyonlarının baskılandığını gösteren bir çalışmada, immünoreaktivitesinin yemekten hemen sonra %22 azaldığı gösterilmiştir (56). Ghrelinin preprandial yükseliş ve postprandial düşüşü insanlarda insulin ve kan şekeri düzeylerinden bağımsızdır.

Son zamanlarda kısa barsak sendromundan kaynaklanan malnütrisyonlu bazı hastalarda subnormal ghrelin düzeylerinin varlığı saptanmıştır. Bu durum muhtemelen ghrelin salgılayıcı barsak dokusunun eksikliğinden kaynaklanmaktadır(59).



*Adapted from Cummings et al. Diabetes 50:1714, 2001.*

**Şekil 4 : Ghrelin'in Günlük Düzeyleri**

### **1.7.2. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri:**

Ghrelin kardiyak output'u arttırmaktadır ve bu etkisi sistemik vasküler direnci azaltmasına bağlı olduğu saptanmıştır (60). Ghrelin'in endotelial hücreler ve kardiyomyositlerde apoptozis'i inhibe ettiği, bunu da ERK1/2 ve PI 3-kinaz yoluyla yaptığı gösterilmiştir (61). Hipotansif etkileri vardır (62). Wiley ve Davenport'a göre

ghrelin, endotelden-bağımsız bir direkt vazodilatatör ajandır (63). Ghrelin'in pozitif inotrop etkisi yoktur. Ghrelin infüzyonu idrar hacmi, idrar  $\text{Na}^+$  atılımı ve kreatinin klirensini değiştirmez. Yani ghrelin kalp yetmezliği olan hastalarda böbrekler üzerinde etki oluşturmaksızın, hemodinamik bozukluğu düzeltebilmektedir (64).

### **1.7.3. Genitoüriner Sistem Üzerine Etkileri:**

Ghrelin'in testiküler steroidogenez ve Leydig hücrelerinden testosteron salınımını regüle ettiği gösterilmiştir (65). Rat seminifer tubüllerinde kök hücre faktörü ekspresyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. Son zamanlarda endometrial stromal hücrelerinin desidualizasyonunda da görev aldığı gösterilmiştir (66).

Böbrek üzerinden adrenalin düzeyini arttırdığı bulunmuştur (67).

### **1.7.4. Ghrelin ve Kanser:**

Ghrelin neoplastik hücrelerin büyümesine etki edebilmektedir. İnsanlar üzerindeki çalışmalarda, tümoral doku kesitlerinde GHR proteini ekspresyonunun tümör dokusuna komşu meme dokusuna göre artmış olduğu bulunmuştur. Bazı meme Ca'lı dokularda ghrelin bağlanma alanları gösterilmiştir (68). Bazı meme Ca'lı hastalarda da eksojen ghrelin uygulamasının büyümeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (22).

Prostat bezi normal gelişimi ve fonksiyonları için GH ve IGF'leri de kapsayan çeşitli hormonların ve büyüme faktörlerinin etkisi altındadır. Ghrelin prostat dokusunda endojen GH salınımını uyararak, otokrin IGF-1 üretimini ve salınımını artırır. Ayrıca GHS-R ve ilişkili oldukları sinyal iletim sistemlerinin aktivasyonu ile, prostatik hücre çoğalmasına katkıda bulunur (69). GHSR1a prostat ve pankreatik tümörlerde saptanmıştır (70).

GHRH geninin aşırı miktarda eksprese edilmesinin, hipofizer somatotrop adenomlarının sıklığında artışla birlikte olduğu gösterilmiştir. GHRH'nın hipotalamus dışı pek çok tümör dokusunda da eksprese olduğunun bulunması, bu hormonun diğer dokulardaki tümöral gelişimlerle ilişkili olabileceğini düşündürmüştür (71). GHRH antagonistlerinin GH ve IGF'ye duyarlı kanser hücre



dizilerinde proliferasyonu baskıladığı gösterilmiştir. GHRH antagonistlerinin anti-proliferatif etkilerinin bir kısmı hipofizer GHRH reseptörünü bloke ederek GH ile IGF-1 sentez ve salınımını azaltmalarından kaynaklanır (72). Bu antagonistler aynı zamanda hücre büyümesini de tümör hücrelerine doğrudan bağlanarak inhibe ederler.

Ghrelın ve sentetik GHS'u olan heksarelin, kardiyomyozit hücre serilerinde hücre içi timidin ekspresyonunu arttırmaktadır (61). Ghrelın,hepatoma hücre serilerinde de çoğalmayı uyarır.

Ghrelın'e bağlı artmış hücre çoğalması durumu, bir MAP kinaz inhibitörü olan PD98059'un varlığında ortadan kalkar. Çünkü ghrelın ve GHS-R'ın eksprese olduğu tümörlerde MAP kinazların aktive olduğu bilinmektedir (73).

Ghrelın hipofiz ve ACTH salgılayan tümörleri de içeren diğer nöroendokrin tümörlerde gösterilmiştir. Adenomatöz insan hipofiz dokusunda gösterilmesi ile, burada GH salınımında düzenleyici görevinin olabileceği söylenmiştir(74,75). GHS-R1a ve 1b mRNA izoformları çeşitli adenom ve adeno Ca'larda gösterilmiştir (76).

Gastrik karsinoid'li hastalarda da ghrelın'in üretildiği bulunduğundan, ghrelın düzeyi gastrointestinal tümör tanısında faydalı olabilir (76). Des-n octanoyl ghrelın düzeylerinin tiroid Ca'lı hastalarda belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (77).

Neoplazi durumunda anti-proliferatif etkisinin olduğu da belirtilmiştir (78).

#### **1.7.5. Ghrelın ve Prader Willi Sendromu (PWS)**

PWS en sık görülen genetik obesite sendromlarından birisidir. Bu sendromda hipotalamik disfonksiyona bağlı olarak doyurulamayan açlık hissi, hipotoni ve büyüme hormonu salınım yetersizliği görülür. PWS'de ghrelın seviyeleri, zayıf ve obez kontrol gruplarına göre 3-4 kat daha yüksek bulunmuştur (79).

#### **1.7.6. Diğer Bilinen Etkileri**

Ghrelın'in uyku üzerine etkileri bulunmaktadır (80). Prolaktin ve ACTH salınımını stimüle eder (81,82). Somatotrofik hücre fonksiyonu regülasyonunda

görev alır(83). Glikoz metabolizması ve insulin sekresyonu gibi endokrin pankreatik fonksiyonuyla ilgili etkileri vardır (84). Saad ve arkadaşlarına göre (85), insulin direkt olarak ghrelin salgılayan hücrelere etki ederek ya da diğer hüneral ve nöral mekanizmaları etkileyerek, ghrelin salınmasını azaltabilmektedir.

### **1 .8. Mide Asit Sekresyonunun Regülasyonu**

Mide; gastrik lümen, vasküler alan ve interstisium'a birçok ürün salgılayabilme kapasitesinde bir kompleks organdır. Hidroklorik asit (HCl) primer mide sekresyonu olmakla birlikte; pepsinojen, mukus, bikarbonat, intrinsik faktör, prostaglandin, düzenleyici peptidler ve diğer kimyasal haberciler de salınmaktadır.

Çoğu mide bezleri (%75) oksintik mukozadadır ve asit sekresyonundan sorumludur. Bunlar parietal, ana (şef), müköz boyun, endokrin ve enterokromaffin hücreleri içerirler (86). Pilorik bezler mide antrumunu ve pilor'u kaplar; G hücreleri ve müköz hücreleri içerir. Parietal veya oksintik hücre, mukozadaki en yaygın hücrelerdir. Ana hücreler, oksintik bezlerin fundusunda bulunan ve pepsinojen salgılayan ekzokrin hücrelerdir. Pepsinojen, HCl'nin etkisiyle pepsin'e dönüşür.

İntestinal lümende asit veya besinlerin varlığı, barsak duvarı düz kasının gerilmesi intrinsik (enterik) ve ekstrinsik nöronların aktivasyonunu sağlar. Gastrointestinal sistemdeki enterik sinir sistemi, merkezi sinir sisteminden bağımsız çalışabilen refleks yolları içerir. Bir nöral refleks, stimulusu alan duysal nöronlardan oluşur. Enterik sinir sisitemi kanal duvarına gömülü sinir hücresi gövdelerinden oluşur. Bunlar küçük agregatlar halinde enterik ganglionda bulunurlar ve sinir lifleri vasıtasıyla iki ana ganglion fleksusu oluştururlar; Myenterik (Auerbach) ve submukozal (Meissner) fleksuslar.

Mide asit salınımı peptiderjik ve kimyasal faktörler tarafından yönlendirilen parakrin, nörokrin ve endokrin mekanizmaları içeren periferik ve merkezi yollarla düzenlenmektedir. Bu salınımın merkezi yolu besinin görülmesi, koklanması, tadılması ve düşünülmesi ile aktive olurken, periferik yolu ise mekanik (distansiyon) ve kimyasal ajanlar tarafından aktive olmaktadır (87).

Asit sekresyonunun nöral kontrolü iki formda olmaktadır; sefalovagal ark ve lokal intragastrik refleks arkları. Diğer bir kontrol yolu da hümorale maddelerin endokrin etkisi (gastrin) veya parakrin etkisi (histamin) ile olmaktadır. Somatostatin ise hem endokrin hem de parakrin faktör olarak fonksiyon görmektedir. Başka bir regülasyon yolu da kimyasal faktörlerin direkt etkisi ile olmaktadır. Burada da aminoasitler ve aminlerin gastrin salınımını stimule etmesi tipiktir.

Vagal sinir, merkezi sinir sisteminden gastrointestinal kanala doğru uzanır ve mide, vagal inervasyonun en yoğun olduğu bölgedir. Vagus'un kolinerjik uçları mide oksintik bezleri etrafında sonlanmaktadır. N.vagus'un yaklaşık %75-90'ı afferent lifler şeklindedir (88). Neredeyse tüm gastrik myenterik ganglionlar vagal afferent sinir lifleri ile ilişkidir (89). Vagal etkiyle asit salınımının asetilkolin ve diğer muskarinik reseptör agonistleri vasıtasıyla gerçekleştiği bilinmektedir (90). Eğer n. vagus'da bir hasarlanma olursa, asit sekresyonu azalır ancak tamamen bitmez. Bu sonuçlar intrinsik nöral reflekslerin de salgılatıcı yanıtı yönlendirebildiğini göstermiştir. Aksine somatostatin salınımı G hücrelerine etkiyerek, asit sekresyonunu azaltır. Yine parasempatik stimülasyon genelde sekretuar ve motor aktivitede artışa neden olurken; sempatik efferentler T5-T9 spinal segmentlerden köken alır ve mide sekresyonunu inhibe edici yönde etki eder. Gastrik sekresyonun düzenlenmesinde merkezi sinir sisteminin komponentleri vagus'un dorsomotor çekirdeği (DMNV), nukleus traktus solitarius ve hipotalamus'dur. DMNV, n.vagus vasıtasıyla mideye stimulatör efferent lifler sağlamaktadır (91).

### 1.8.1. Parietal Hücreden Salgı Yapımını Uyarıcı Maddeler

**Gastrin:** Mide antrumundaki endokrin yapıdaki G hücrelerinden salınmaktadır. İki tipte gastrin oluşur; G17 (17 aminoasitli bir peptid) ve G34. Bu salınım parakrin, lümenal, endokrin ve nöral stimüluslar tarafından regüle edilir. Özellikle besin alımı kuvvetli bir stimülandır. Burada küçük peptidler ve aromatik aminoasitler karbonhidrat ve yağlara göre daha kuvvetli stimülandır. Gastrin parietal hücrelere etkiyerek HCl salınımını sağlar. Gastrin tarafından yönlendirilen H<sup>+</sup> sekresyonuna bağlı olarak mide lümeni pH'sı 3'ün altına düştüğünde, gastrin

salınımı negatif feedback olarak inhibe edilir. Duodenumdaki aminoasitler ve yağ asitleri kolesistokininin salınımına neden olur, bu da indirekt olarak gastrin salınımını inhibe eder.

**Asetilkolin(Ach):**Parietal hücrelerin sekresyonu postganglionik parasempatik sinirlerden salınan nörotransmitterler tarafından sağlanmaktadır.Asetilkolin enterik sistemde nikotinik reseptörlere bağlanır. N.vagus etkisini büyük oranda asetilkolin üzerinden gerçekleştirirken, gastrin-salıcı peptid (GRP) üzerinden de etkiği bilinmektedir.Mide duvarındaki gerilme reseptörlerinin aktivasyonu veya n.vagus'un efferent aktivitesi sonucu parasempatik aktivasyonda artış gözlenir. Ve bu aktivasyon en güçlü asit sekresyonu stimulanıdır. Böylelikle vagal aktivite asit sekresyonunu şu yollarla arttırmaktadır;

- Direkt olarak parietal hücreye etkiyerek,
- Indirekt olarak enterokromaffin benzeri hücre (ECL)'yi stimule ederek,
- Pilorik antrumdaki GRP salınımını sağlayarak ki bu da G hücrelerinden gastrin salınımını sağlamaktadır.

**Histamin:** Histamin oksintik mukozada iki farklı hücreden salınır: lamina propria'daki mast hücreleri ve ECL(entero kromaffin benzeri hücreler) hücreleri. Fakat mast hücrelerinin asit salgılatıcı rolü bulunmamaktadır (92). ECL hücreleri histamin oluşturan enzim histidin dekarboksilaz'dan zengindir. ECL hücreleri oksintik bezle sınırlı, kapalı tip hücrelerdir yani lümene açılmazlar. Histamin ekstrasellüler sıvıya difüze olur ve parietal hücreye etkir. Dolayısıyla lokal bir mediatör, bir parakrin madde özelliği gösterir. ECL gastrin ve Ach tarafından stimule olabilmektedir (93,94,95). ECL'nin kolinerjik nöronlar veya antral G hücrelerinden salınan gastrin tarafından uyarılması ile histamin salınımı gerçekleşir. H<sub>2</sub> reseptör antagonistlerinin yalnızca histamin'e bağlı değil, aynı zamanda gastrin ve vagal asit sekresyonunu da inhibe etmesi, histamin'in mide asit yanıtının oluşumunda rolünün olduğunu düşündürmüştür (96).

Gastrin'in yanı sıra, adrenerjik agonistlerinin de ECL'den histamin salınımını  $\beta$  reseptörü vasıtasıyla sağladığı bildirilmiştir (97). Somatostatin'in ise histamin salınımını somastatin reseptör subtip 2'ye etkiyerek inhibe ettiği gösterilmiştir (98).

Ach (99), gastrin ve histamin'in yanı sıra son zamanlarda hipofiz adenilat siklaz aktive edici peptid (PACAP)'in de mide asit stimulasyonunda önemli olduğu gösterilmiştir (100). Bu nöropeptid, mide mukozasındaki sinir liflerinde bulunur ve ECL'ye etkiyerek, histamin salınımını sağlar (101). PACAP injeksiyonunun gastrin stimulasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (102).

### **1.8.2. Reseptörler, İntrasellüler Stimülatör Haberciler**

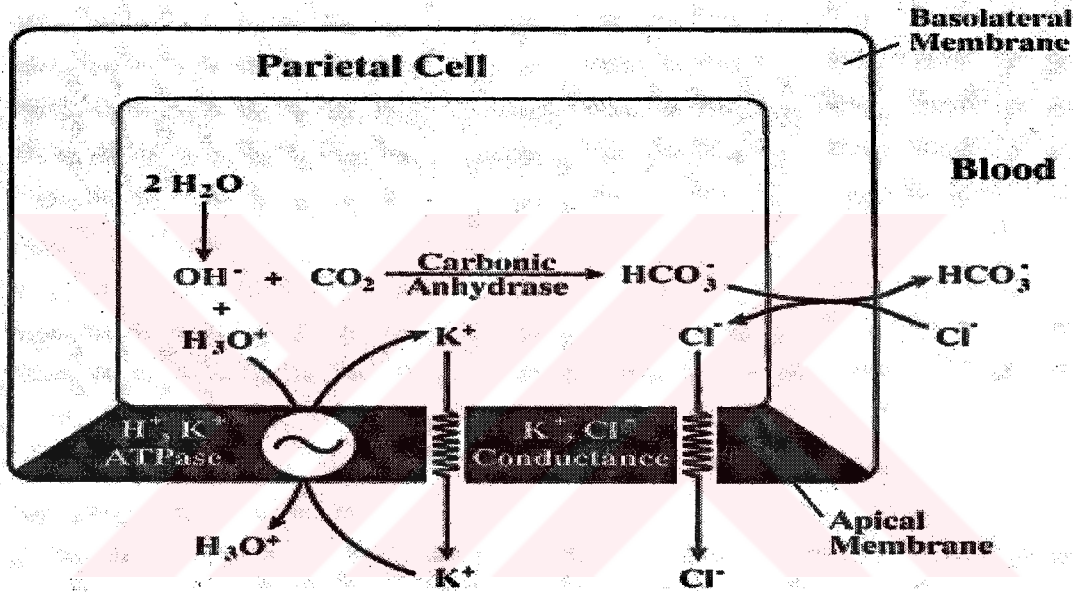
Mide asit sekresyonuna etkiyen intrasellüler mekanizmalar ikincil haberciler tarafından etkilenir ki bunlar da parietal hücre basolateral membrandaki yüzey reseptörlerine agonistlerin bağlanması ile salınır. Temel intrasellüler haberci  $Ca^{+2}$  iyonudur. Sitozolik  $Ca^{+2}$  düzeyinin artmasıyla protein kinazlar aktive olur, kanaliküler  $H^+/K^+$  değişim pompasının aktivitesi de artar ve daha fazla asit sekrete edilir.  $Ca^{+2}$  düzeyindeki artış inositol 1,4,5-trifosfat tarafından tetiklenir.

Üç tip reseptörün stimulasyonu asit sekresyonuna neden olmaktadır (94);

- Polipeptid bir hormon olan gastrin için CCK-B (veya CCK-2) reseptörü (103). ECL, CCK-B reseptörlerinden zengindir(104). Gastrin'e bağlı ECL aktivasyonu CCK-B üzerinden gerçekleşmektedir (105).
- Bir nörotransmitter olan asetilkolin için muskarinik  $M_3$  reseptörü (106).
- Histamin için  $H_2$  reseptörü. ECL'den mobilize olan histamin, HCL'yi oluşturmak üzere  $H_2$  reseptörü üzerinden parietal hücreleri stimule eder (107).  $H_2$  reseptörünün aktive olmasıyla adenilat siklaz enzimi stimule olur ve intrasellüler cAMP düzeyleri artar.

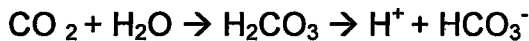
## 1.9. Asit Sekresyon Mekanizması

Asit, oksintik bezdeki parietal hücreler tarafından çeşitli periferik ve santral etkilere yanıt olarak oluşturulur. Parietal hücre yüzeyindeki reseptörlere ligandların bağlanmasıyla ikincil habercilerde değişiklikler meydana gelir ki bu da mide proton pompasının ( $H^+/K^+$ -ATPaz) aktivasyonunu belirler. Santral regülasyonda kortikal ve spinal kord yapılarının mide duvarındaki myenterik fleksuslardaki parasempatik akışı etkilemesi söz konusudur; periferik regülasyonda ise midedeki nöral, endokrin veya parakrin yollar rol almaktadır (102).



Şekil 5 : Parietal hücreden asit salınım modeli

Biraz alkalın olan vücut sıvılarından asit üretimi için aktif transportla  $H^+$  sekresyonu gerekmektedir. Bu da şu denklemlerle gerçekleşmektedir:



Bu reaksiyonda karbonik anhidraz enzimi görev alır.  $H^+$  iyonları  $H^+/K^+$  ATPaz pompasıyla sekrete edilir. Burada  $H^+$  hücre dışına çıkarılırken,  $K^+$  içeri alınır.

Gerekli enerji ise ATP'nin hidrolizinden elde edilir. Bu basamakların sonunda  $HCO_3^-$  ve  $K^+$  düzeyleri yükselir.  $HCO_3^-$  hücre dışına doğru hareket eder ve



karşılığında Cl<sup>-</sup> içeri alınır. Sonuçta yüksek konsantrasyonda H<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> lümende HCl şeklinde birikir (108).

### **1.10. Besin Alımı İle Uyarılmış Mide Sekresyonu Kontrolü**

Bazal asit sekresyonu en az sabah, en fazla da akşam saatlerinde gerçekleşmektedir (109). Bu salınımın ana bileşenleri n.vagus'un kolinerjik yolu ve lokal histamin salınımıdır (histaminerjik yol). Asit üretimi artışının temel stimülanı besindir. Buradaki asit salınımı üç fazda olmaktadır; sefalik, gastrik ve intestinal. Sefalik fazın temel bileşenleri görme, koklama ve besinin tadıdır ki bunlar n.vagus vasıtasıyla kolinerjik yol ile mide asit sekresyonunu stimule eder. Gastrik fazda besin mideye girer girmez mide asit sekresyonu aktive olur. Özellikle aminoasitler ve aminler gastrin salınımını stimule eder ve sekretuar yanıtın oluşmasını artırırlar. Besinler barsağa geçtiğinde son safha olan intestinal faz başlar. Bu safhanın stimülanları da distansiyon, proteinler ve yıkım ürünleridir.

### **1.11. Mide Asit Sekresyonu İnhibisyonu**

Somatostatin ve prostaglandinler inhibitör G proteinleri vasıtasıyla parietal hücre sekresyonunu down regüle ederler. Somatostatin ECL hücrelerinden histamin salınımını da inhibe eder. Pylorik D hücrelerinden somatostatin salınımı lüminal asit ve dolaşan CCK tarafından stimüle edilir. Prostaglandin E analogları asit sekresyonunu azaltır.

Sekretin gastrik asit sekresyonunu muhtemelen PG'ler üzerinden suprese etmektedir. Sekretin uzun zincirli yağ asitleri ve luminal asite yanıt olarak duodenal S hücrelerinden salınır.

### **1.12. Mide Asit Sekresyonu ve Ghrelin**

Intravenöz olarak ghrelin uygulaması sonucu n.vagus aktive olur ve mide asit sekresyonu ile mide motilitesi uyarılır (110). Dolayısıyla, ghrelin ile indüklenen mide asit sekresyonu vagotomi uygulaması ile ortadan kaldırılabilir. Ayrıca, c-fos ekspresyonu ile ilgili çalışmalar göstermiştir ki, ghrelin'in intraserebroventriküler yolla uygulanması medulla oblongata'daki DMNV(n.vagus'un dorsomotor

çekirdeği) ve NTS(nukleus solitarius) nöronlarıyla ilişkilidir. Bu çekirdekler beyinde mide asit sekresyonunun düzenlenmesinde anahtar bölgelerdir (3).

### **1.13. Müküs Sekresyonu**

Mide kendini mekanik hasar ve sindirimden iki maddenin fundal ve antral salgınımıyla korur; müküs ve alkali. Alkali ;  $\text{HCO}_3^-$  (bikarbonat ) formundadır. Bu iki madde, midenin proteolitik enzimlerden korumak ve pH'yı yüksek tutmak amacıyla mide mukozasında yapışkan ve tamponlayıcı bir tabaka oluştururlar. Bu tabaka  $\text{H}^+$  iyonunun mukozaya difüzyonunu yavaşlatır.

Mide mukozasında yoğun olarak iki tip hücre bulunur; yüzey epitelyal hücreleri ve goblet hücreleri. Goblet hücreleri müküs üretir ve salgılar. Yüzey epitelyal hücreleri karbonik anhidraz II' den zengin bikarbonat salgılar. Boyun hücreleri de müküs salgılar. Prostaglandinler ve nitrik oksit de gastroduodenal mukozada müküs sekresyonunu stimüle ederken, PGE2 analogları  $\text{HCO}_3^-$  salgınımını stimüle ederler.

Yapışkan ve jel kıvamında bir müküs tabakası mide epitelinin çevreler. Bu tabakanın % 95'i su ve % 5'i de glikoproteinden oluşmuştur. Müsin glikoprotein'i treonin ve serin'e bağlı karbonhidrat tetramerleri şeklindedir. Temel şekerler galaktoz, n-asetilgalaktozamin, n-asetilglukozamin ve sialik asitleri içerirler (111).



## **2. GEREÇ ve YÖNTEMLER**

### **2.1. Kullanılan deney hayvanları:**

Çalışmamızda DÜSAM (Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi)'nden sağlanan ve ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen 24 adet erkek Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Çalışmaya alınan hayvanlar, eşit sayılarda bir kontrol ve iki deney grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu sıçanlara 0.5 ml. serum fizyolojik intravenöz olarak verildi. Birinci deney grubuna, 20 µg/kg ghrelin, ikinci deney grubuna ise ghreline ek olarak NO'nun olası aracı rolünü incelemek için NO sentaz inhibitörü L-NAME (70 mg/kg subkutan) uygulandı. Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlar laparotomi öncesi 24 saat süreyle sadece su alacak şekilde aç tutuldu. Hayvanlar bireysel kafeslerde ve 21-23°C de kontrol edildi. Çalışmalara başlamadan önce Deney Hayvanı Etik Kurulundan gerekli onay alındı.

### **2.2. Kullanılan İlaçlar :**

Çalışmamızda kullandığımız sıçan ghrelin'i (r-ghrelin) Phoenix firmasından (Phoenix,TX) alındı. L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester), Sigma Chemical CO. firmasından(St.Louis,MO) tedarik edildi. Maddeler serum fizyolojik içinde çözülerek verildi.

### **2.3. Gastrik Asit Sekresyonu Ölçümü:**

Mide asit sekresyonu değerlendirmesinde kullanılan en yaygın metod mide sıvısı aspirasyonudur. Bazal asit output'u (BAO) dinlenmedeki sekresyonu, maksimal asit output'u veya peak asit output'u (PAO) ise eksojen bir salgılatıcıya yanıt olarak asit salınımını değerlendirir. BAO ölçümünde sabah aç karnına mideye fluroskopik olarak bir tüp yerleştirilir. Daha sonra mide boşaltılır ve bu da 15 dakikalık 4 sürekli aspirasyonla sağlanır. BAO, bilinen herhangi bir stimülasyon olmadan salınan asittir. BAO kişiden kişiye değişebilir ve belirgin sirkadyen değişiklikler de gösterir. PAO ölçümünde bazal salınım oranı ölçüldükten sonra subkutan olarak pentagastrin verilir ve takip eden 1.5-2 saat içinde mide asidi

sürekli olarak toplanır. Normal bir insanda bazal asit salınımı 1-2 mEq/saat iken, pentagastrin uygulandıktan sonra 20-30 mEq/saat değerlerindedir.

Bu çalışmada ghrelin'in mide asit sekresyonu üzerine etkisinin ölçümünde pilor ligasyon metodu (94) kullanıldı. Bu metod, uyanık hayvanlarda kronik gastrik fistül oluşturma metoduyla birlikte en yaygın olarak kullanılan deneysel modeldir. Burada hayvanlar hafif eter anestezisi ile uyutuldu. Abdomene 2-3 cm.'lik bir orta hat insizyonu uygulandı. Midenin pilor kısmı dikkatlice mobilize edildi ve pilorik sfinkter 0-0'lık ipek suture ile ligatüre edildi. Ligasyon işlemi esnasında deney gruplarından birincisine 20 µg/kg ghrelin intravenöz olarak femoral venden enjekte edildi, ikinci gruba ise aynı doz ghrelin'e ek olarak 70 mg/kg L-NAME subkutan olarak uygulandı. Kontrol grubu sıçanlara 0.5 ml. serum fizyolojik tek doz olarak, pilor ligasyonunu takiben intravenöz olarak verildi ve 3 saat sonra mide asit sekresyonu ölçümü ile ilgili, deney grubuna uygulanan işleme tabi tutuldu. Daha sonra abdominal duvar kapatıldı. Hayvanlar ligasyon işleminden yaklaşık 5 dakika sonra uyandı ve serbestçe gezebildi. 3 saatlik bekleme periyoduna alınan hayvanlar, aç olarak ve ayrı ayrı kafeslerde tutuldu.

Pilor ligasyonundan 3 saat sonra hayvanlar feda edildi. Mide çıkarıldı ve gastrik muhtevaları ayrı ayrı tüplere alındı. Alınan içerik 4000 rpm'de 5 dakika santrifüje edildi. Supernatant hacim ölçümü yapıldı ve mide sekresyon hacmi düzeyleri belirlenmiş oldu. Bu aşamadan sonra mide asit düzeyi ölçümü için, elde edilen supernatant 7.0 pH'da 0.01 N NaOH ile titrasyon için 1/20 oranında dilüe edildi. Dilüe edilen mide suyuna 2 damla % 1'lik fenol ftalein kondu ve renk pembe oluncaya kadar 0.01 N NaOH ile titre edildi. Harcanan alkali miktarı kaydedildi. Böylece mide asit düzeyleri µEq/3 saat olarak belirlendi.

#### **2.4. Plazma Ghrelin Düzeyi:**

Pilor ligasyonundan 3 saat sonra feda edilen hayvanların plazma örneklerindeki ghrelin düzeyleri sıçan ghrelin RIA kitleri (Phoenix Pharmaceuticals, Mountain View, CA, USA) kullanılarak, Macellan 2 cihazında analiz edildi.

## 2.5. Plazma Total Nitrit Düzeyi:

Plazma total nitrit düzeyleri NO nun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. NO nun doğrudan ölçümü çok zor olduğu için metabolitlerinin düzeyi kullanılmakta, miktarı hakkında bilgi edinmek amacıyla dolaylı yöntemler tercih edilmektedir.

Bu çalışmada plazma total nitrit düzeyi, Cortas ve Wakid yöntemine göre (95) ölçüldü.

### Gerekli Maddeler ve Reaktifler:

1. Kadmiyum Granülleri: Fluka firmasından alınan kadmiyum, 20-40 mg lık parçalara ayrıldı ve 0.1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde saklandı.
2. Glisin-NaOH Tampon Çözeltisi: Sigma dan temin edilen glisinden 15 g.'ı deiyonize distile suda çözüldü ve pH sı 2 mol/L NaOH ile 9.7'ye ayarlandıktan sonra deiyonize-distile suyla final hacim 1 L ye tamamlandı.
3. Sülfanilamid Çözeltisi: 5 g süfanilamid 500 mL 3 mol/L sıcak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde çözüldükten sonra soğutuldu. Bu çözelti oda sıcaklığında bir yıl stabil kalır.
4. N-Naphthylethylen diamin Çözeltisi: 50 mg N-Naphthylethylen diamin 250 mL distile suda çözülür. Çözelti 0-8 °C de 2 ay stabil kalır.
5. Standartlar:

Deneyin Yapılışı: 0.5 mL seruma 2 mL ZnSO<sub>4</sub> ve 2.5 mL 55 mmol/L NaOH eklenir 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 4.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Herbir tüpe 1 mL glisin tamponu, 1 mL deproteinize örnek ve 2 mL distile su ve 2.5 g aktif kadmiyum eklendikten sonra 90 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra sıvı fazdan 2 mL alındı ve üzerine 0.5 mL su, 0.5 mL N-Naphthylethylen diamin çözeltisi ve 0.5 mL süfanilamid çözeltisi eklendi ve karanlıkta 40 dakika bekletildi. 545 nm dalga boyunda

köre karşı optik absorbanları belirlenir. Elde edilen sonuçlar, standart grafiğinde mol/L cinsinden hesaplanır ve değerlendirilir.

## 2.6. Gastrik Yapışkan Müküs Miktarı:

Mide mukozasının yapışkan müküs içeriği Alcian Blue yöntemiyle (96) belirlendi: Mide çıkartıldıktan sonra hemen küçük kurvatur boyunca açıldı ve ters çevrilerek önceden hazırlanmış olan %2 lik Alcian Blue solüsyonuna yerleştirildi. 37 °C de iki saat süreyle hafifçe çalkalanarak bekletildi. Gastrik yapışkan müküse tutunan Alcian Blue boyasını ekstrakte etmek için boya solüsyonundan çıkartılan mide, 0.25 M Sükroz ile yıkandıktan sonra 0.5 M 10 ml MgCl<sub>2</sub> çözeltisinde 37 °C de iki saat inkübe edildi. Inkübasyon sonunda mide çıkartıldı ve içinde bekletildiği çözeltilerden alınan 5 ml örnek, 5ml dietil eter ile karıştırıldı ve votekslendi. Alt kısımdaki mavi renkli su fazı alındı ve 605 nm de MgCl<sub>2</sub> çözeltisi (Kör) ne karşı absorban değerleri spektrofotometrede ölçüldü.

Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüle göre değerlendirildi ve mide ağırlığına oranlandı.

$$\text{Gastrik Müküs Miktarı} = \frac{\text{Numunenin optik absorbanı} \times 100}{\text{Standardın optik absorbanı (100 } \mu\text{g/ml)}}$$

### Gerekli Reaktifler:

1. Alcian Blue Solüsyonu: 0.05 M Sodyum Asetat ve 0.16 M Sükroz içeren solüsyon hazırlanır ve pH sı 5.8 e ayarlandıktan sonra %1 oranında Alcian Blue eklenir.
2. 0.25 M Sükroz
3. 0.5 M MgCl<sub>2</sub>
4. Dietil Eter

## 2.7. İstatistiksel Analiz:

Verilerin İstatiksel olarak değerlendirilmesinde 'SPSS for Windows' istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Deney sonuçları istatistiksel olarak ortalama  $\pm$  S.H şeklinde değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında non-parametrik Kruskal-Wallis'in bir yönlü varyans analizi testi uygulandı.  $p < 0.05$  değeri belirginlik derecesi olarak kabul edildi. İki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi uygulandı.



### 3 . BULGULAR

Mide asit sekresyonuna ve müküs miktarına ghrelin hormonunun etkisini araştırdığımız bu çalışmamızda, her iki deney grubu hayvanlardan elde edilen sonuçlar hem kendi aralarında hem de kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel yönden değerlendirildi. Bulgularımıza göre:

Mide sekresyon hacmi ortalama değerleri Kontrol grubunda;  $2.27 \pm 0.31$ , Ghrelin grubunda;  $2.43 \pm 0.33$  ve Ghrelin+L-NAME grubunda  $0.66 \pm 0.11$  ml/3 saat olarak belirlendi (Tablo 1,6).

Mide sekresyon hacmi açısından Ghrelin grubu ile Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken, Ghrelin+ L-NAME grubunda önemli bir azalma gözlemlendi ( $p<0.01$ ), (Grafik 1).

Mide asit ortalama değerleri Kontrol grubunda  $157.30 \pm 20.80$ , Ghrelin grubunda  $281.20 \pm 65.10$ , Ghrelin+L-NAME grubunda  $51.50 \pm 8.90$   $\mu\text{Eq}/3$  saat olarak saptandı (Tablo 2,7).

Bu değerlere göre mide asit düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada Ghrelin grubunda önemli bir artış saptanırken ( $p<0.05$ ), Ghrelin+L-NAME grubunda belirgin bir azalma görüldü ( $p<0.001$ ), (Grafik 2).

Plazma total nitrit düzeyleri ortalama değerleri Kontrol grubunda  $10.20 \pm 0.59$   $\mu\text{M}/\text{L}$ , ghrelin grubunda  $15.10 \pm 0.78$   $\mu\text{M}/\text{L}$  ve Ghrelin+L-NAME grubunda ise  $8.50 \pm 0.86$   $\mu\text{M}/\text{L}$  olarak saptandı (Tablo 3,8).

Gruplar plazma total nitrit düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, Ghrelin grubundaki artış istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ( $p<0.01$ ) (Grafik 3).

Plazma ghrelin düzeyi ortalama değerleri Kontrol grubunda  $194.70 \pm 8.60$  pg/ml, Ghrelin grubunda  $207.00 \pm 6.00$  pg/ml, Ghrelin+L-NAME grubunda  $196.00 \pm 9.00$  pg/ml olarak bulundu (Tablo 4,9).

Deney hayvanlarına intravenöz ghrelin uygulananın deney grubu ile kontrol gruplarında oluşturduğu ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ( $p > 0.05$ ), (Grafik 4).

Yapışkan mide müküs miktarı ortalama değerleri  $\mu\text{g/g}$  doku olarak Kontrol grubunda  $254.50 \pm 11.40$ , Ghrelin grubunda  $314.50 \pm 19.70$  ve Ghrelin+L-NAME grubunda ise  $191.10 \pm 10.00$  düzeylerinde saptanmıştır (Tablo 5,10).

Ghrelin grubunda yapışkan müküs miktarında, kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenirken ( $p < 0.05$ ). Ghrelin+L-NAME grubunda belirgin bir azalma saptanmıştır ( $p < 0.01$ ) (Grafik 5).



## TABLolar VE GRAFİKLER

**Tablo 1:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda mide sekresyon hacmi<sup>#</sup>

Denek No	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
1	2.6	3.0	1.0
2	2.5	3.5	0.5
3	1.2	2.0	0.3
4	1.7	3.5	1.3
5	1.5	1.0	0.4
6	1.7	2.0	0.7
7	3.5	1.5	0.6
8	3.5	3.0	0.5
<b>Ortalama ±SH</b>	<b>2.28 ± 0.32</b>	<b>2.44 ± 0.33</b>	<b>0.66 ± 0.12</b>

<sup>#</sup>:Mide sekresyon hacmi ml/3saat olarak verilmiştir.



**Tablo 2:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyon öncesi 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda mide asit düzeyleri #

Denek No	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
1	234	315	60
2	212	540	35
3	90	400	50
4	110	420	71
5	250	350	18
6	93	125	75
7	180	105	45
8	87	210	55
<b>Ortalama ±SH</b>	<b>157.00 ± 24,58</b>	<b>308.13 ± 53.61</b>	<b>51.13 ± 6.62</b>

#: Mide asit düzeyleri µEq/3 saat olarak verilmiştir.

**Tablo3:** *Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyon öncesi 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda plazma total nitrit düzeyleri<sup>#</sup>*

Denek No	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
1	9	17	13
2	10	19	9
3	8	15	9
4	11	12	10
5	12	14	8
6	10	16	6
7	9	15	5
8	13	13	8
<b>Ortalama ±SH</b>	<b>10.25 ± 0.59</b>	<b>15.13 ± 0.79</b>	<b>8.50 ± 0.87</b>

**#:** *Plazma total nitrit düzeyleri µM/L olarak verilmiştir*

**Tablo 4:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyon öncesi 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda plazma ghrelin düzeyleri<sup>#</sup>

Denek No	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+LNAME
1	198	230	190
2	215	195	185
3	200	220	250
4	240	225	200
5	170	180	175
6	180	197	165
7	165	200	205
8	190	210	198
<b>Ortalama ±SH</b>	<b>194.75 ± 8.69</b>	<b>207.13 ± 6.05</b>	<b>196.00 ± 9.04</b>

<sup>#</sup>: Plazma ghrelin düzeyleri pg/ml olarak verilmiştir.

**Tablo 5:** Pilor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyon öncesi 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda yapışkan mide müküs değerleri<sup>#</sup>

Denek No	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
1	200	325	194
2	220	376	167
3	299	355	154
4	247	391	242
5	253	260	217
6	277	290	200
7	260	280	180
8	280	239	175
<b>Ortalama ±SH</b>	<b>254.50 ± 11.48</b>	<b>314.50 ± 19.75</b>	<b>191.13 ± 10.08</b>

<sup>#</sup> Müküs değerleri µg/g doku olarak verilmiştir.

**Tablo 6:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney grubu sıçanlarda mide sekresyon hacmi düzeyleri.

Gruplar	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
Mide sekresyon hacmi (ml/3saat)	2.28 ± 0.32	2.44 ± 0.33	0.66 ± 0.12**

\*\* Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

**Tablo 7:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney grubu sıçanlarda mide asit düzeyleri.

Gruplar	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
Asit düzeyi (µEq/3saat)	157.30 ± 20.80	281.20 ± 65.10*	51.50 ± 8.90***

\* Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

\*\*\* Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.001$

**Tablo 8:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney grubu sıçanlarda plazma total nitrit düzeyleri.

Gruplar	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
Plazma total nitrit düzeyi (µM/L)	10.25 ± 0.59	15.13 ± 0.79**	8.50 ± 0.87

\*\* Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

**Tablo 9:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney grubu hayvanlarda plazma ghrelin düzeyleri.

Gruplar	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
Plazma ghrelin düzeyi (pg/ml)	194.75± 8.69	207.13± 6.05	196.00 ± 9.04

**Tablo 10:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney grubu hayvanlarda yapışkan mide müküs miktarı düzeyleri.

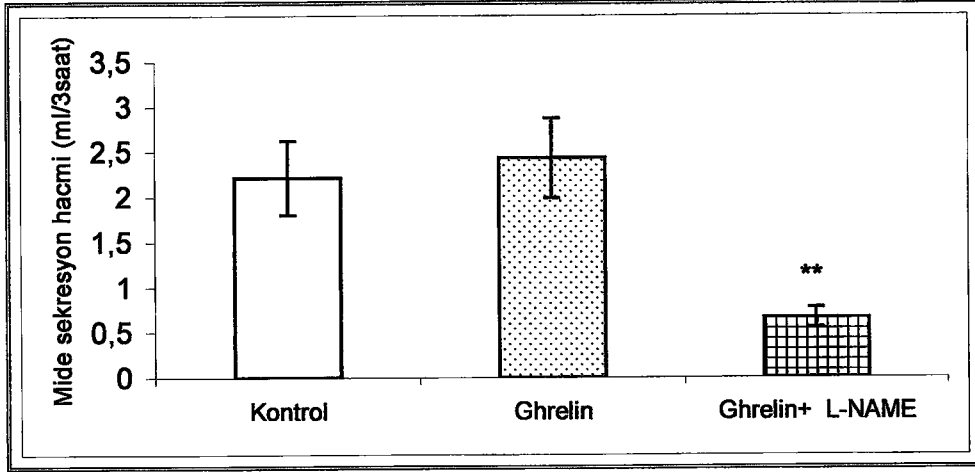
Gruplar	Kontrol	Ghrelin	Ghrelin+L-NAME
Müküs miktarı (µg/g/doku)	254.50± 11.48	314.50 ± 19.75*	191.13± 10.08**

\*: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  $p<0.05$

\*\* : Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p<0.01$

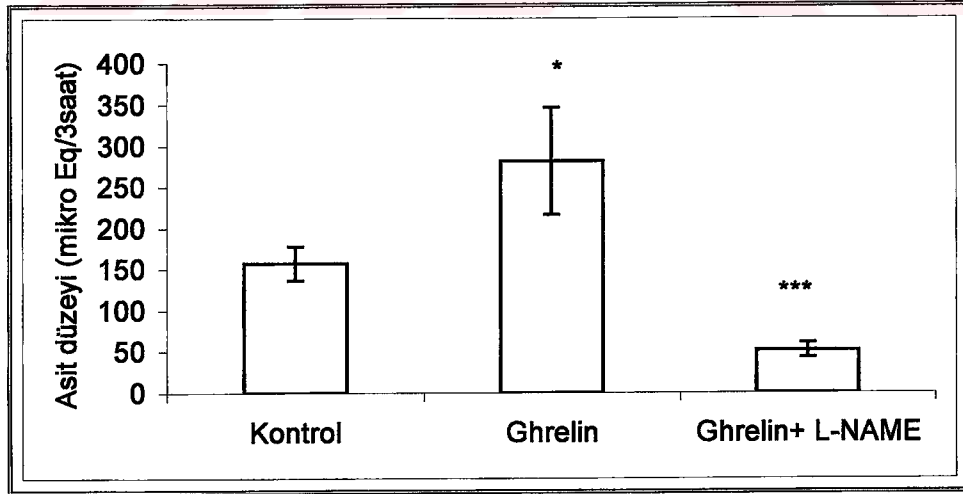


**Grafik1:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) verilen deney gruplarındaki sıçanlarda mide sekresyon hacmi düzeyleri .



\*\* : Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

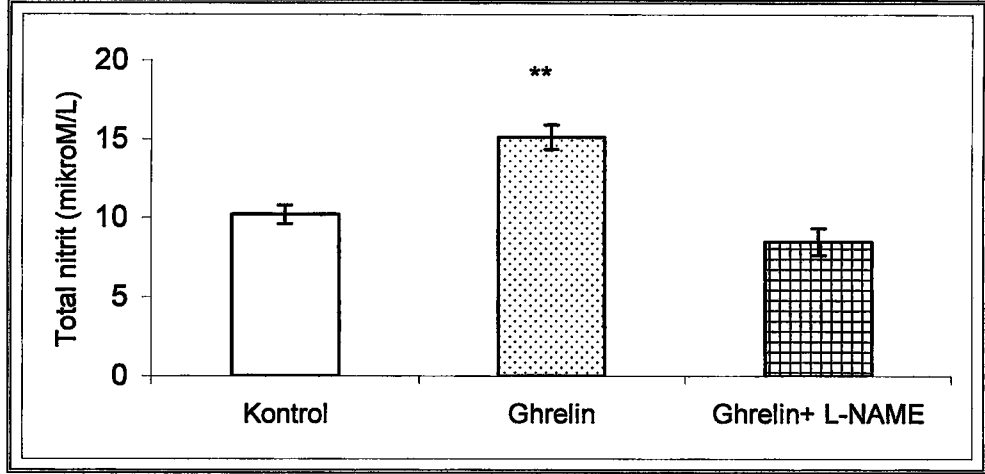
**Grafik 2:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) uygulanan sıçanlarda mide asit düzeyleri.



\*: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

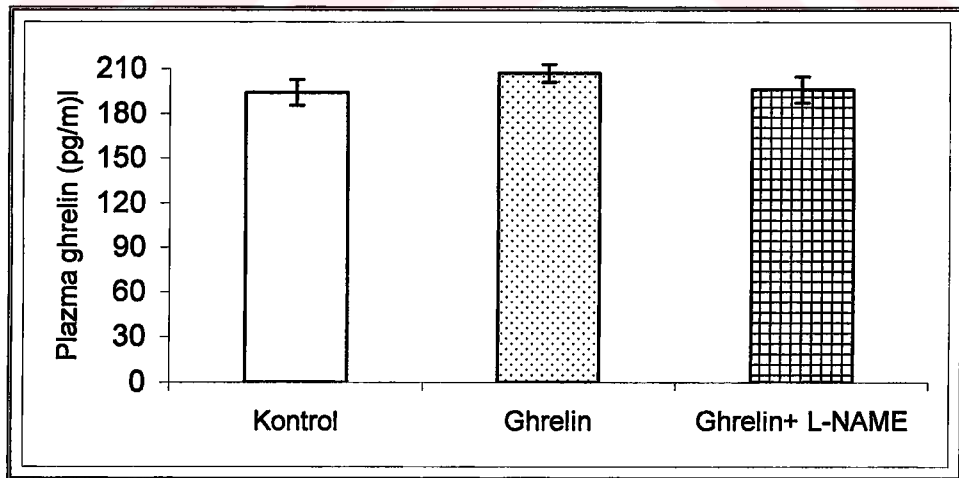
\*\*\*: Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.001$

**Grafik 3:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) uygulanan sıçanlarda plazma total nitrit düzeyleri.

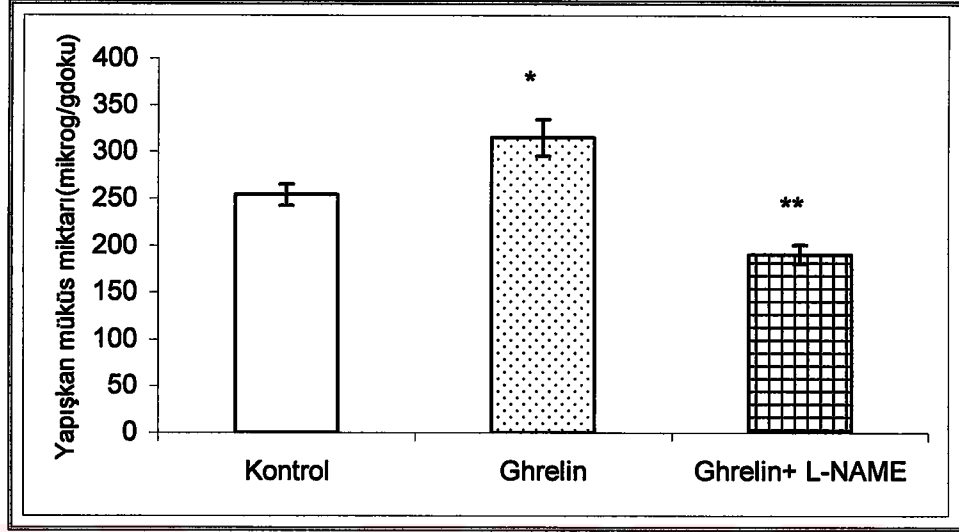


**\*\*:** Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

**Grafik 4:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70mg/kg subkutan) uygulanan deney grubu sıçanlarda plazma ghrelin düzeyleri.



**Grafik 5:** Pylor ligasyonu uygulanan kontrol grubu sıçanlar ile ligasyondan hemen önce 20 µg/kg intravenöz ghrelin, ghrelin+ L-NAME (70 mg/kg subkutan) uygulanan deney grubu sıçanlarda yapışkan mide müküs miktarı düzeyleri.



\*: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

\*\* : Diğer gruplarla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

#### 4. TARTIŞMA

Ghrelin, 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün (GHS-R) endojen bir ligantı olarak keşfedilmiş 28 aminoasitli bir peptiddir. Özellikle midenin fundus bölgesinde oksintik mukozada bulunan özelleşmiş enterokromoffin hücreleri tarafından üretilmektedir(1). Ayrıca düşük miktarda bu peptidin barsaklar, pankreas ve beyinde varlığı tespit edilmiştir (7,30). Ghrelin güçlü bir endojen büyüme hormonu salgılatıcısı olmasının yanısıra, büyüme hormonundan bağımsız etkilere de sahiptir. Santral sinir sisteminde ghrelin'in, beslenme davranışının ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol aldığı(2), iştah açıcı bir hormon olduğu ve besin alınımını uyardığı rapor edilmektedir(57). Ayrıca, ghrelin'in mide mukozal homeostazisinin korunmasında ve buna bağlı olarak gastroprotektif aktivitede rolü olabileceği bildirilmiştir. Ghrelinin bu etkisinin bir NOS inhibitörü olan L-NAME tarafından engellendiğinin gösterilmiş olması, etki mekanizmasında NO'nun aracı rol oynadığına işaret etmektedir (57).

Ghrelin konusunda yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, bu hormonun besin alımı, midenin motor fonksiyonları ve santral sinir sistemi arasındaki feedback sinyallerin sağlanmasında görev yapan fizyolojik bir mediatör olabileceğini akla getirmektedir. Bu bilgiler ışığında planladığımız çalışmamızda mide asit sekresyonu ve mukus miktarına ghrelin hormonunun etkisi araştırılmış ve bu amaçla bir kontrol ve iki deney grubu oluşturulmuştur. Deney grubunda bulunan birinci grup sıçanlara 20µg/kg ghrelin uygulanırken, ikinci gruba buna ek olarak subkutan 70 mg/kg L-NAME uygulanmış ve kontrol grubundaki sıçanlara 0,5 ml serum fizyolojik tek doz olarak verilmiştir. Her üç gruptaki hayvanların mide sekresyon hacimleri, mide asit outputları, plazma total nitrit düzeyleri, plazma ghrelin düzeyleri ve mide yapışkan mukus miktarları ayrı ayrı ölçülmüştür. Deney gruplarında elde edilen sonuçlar, hem kendi aralarında hem de kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarımıza göre;

Intravenöz ghrelin uygulaması, mide sekresyon hacminde hafif artışa yol açarken, L-NAME hem ghrelinin mide sekresyonunu arttırıcı etkisini önlemiş hem de bazal sekresyon hızını azaltmıştır( $p<0.01$ ),(Grafik 1). Mide asit output değerleri dikkate alındığında benzer etkiler ortaya çıktı(Grafik2). Böylece ghrelin aktivitesinin bir NO sentaz inhibitörü olan L-NAME' in varlığında engellendiği belirlenmiş oldu.

Masuda ve arkadaşları(110) ürethan anestezisi altındaki ratlarda intravenöz ghrelin uygulamasının doza bağlı olarak mide asit sekresyonunu ve motilitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Ancak mide fonksiyonları üzerine bu uyarıcı etkilerin vagal sinir aktivitesinin blokajı ile ortadan kalktığını da göstermişlerdir. Buna göre, ghrelin ratlarda vagal sinirlerin aktivasyonu üzerinden gastrik asit sekresyonunu ve motiliteyi uyarmaktadır.

Date ve arkadaşları(3) yaptıkları benzer bir çalışmada; intraserebroventriküler ghrelin enjeksiyonunun yine doza bağlı olarak gastrik asit yapımını arttırdığını tespit etmişlerdir. Vagotomi veya atropin uygulamasıyla ghrelinin etkisiz kaldığını açıklamışlardır.

Her iki çalışmanın sonuçları göstermektedir ki; ghrelin'in intravenöz veya intraserebroventriküler uygulanması, doza bağlı olarak gastrik asit yapımını uyarmaktadır. Bu uyarıcı etkiler, vagal sinir aktivitesinin atropin veya vagotomi ile bloke edilmesi sonucu ortadan kalkmaktadır. Biz de çalışmamızda Masuda ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi maksimum cevabın alındığı 20 mg/kg dozdaki ghrelini intravenöz olarak uyguladık. Benzer şekilde ghrelin'in mide asit yapımını önemli ölçüde arttırdığını saptadık. Çalışmamızda vagus blokajı yapılmadığı için bu konuda yorum yapamıyoruz. Bununla birlikte ghrelin'in uyarıcı etkisini değerlendirmek amacıyla sıçanlara NO sentaz inhibitörü olan L-NAME verildiğinde bu etkinin ortadan kalktığını belirledik.

Ghrelin'in gerek mide sekresyon hacmi, gerekse mide asit output'u üzerine olan etkisinin L-NAME tarafından baskılanmış olması, bu olayda NO'nun mediatör bir rol üstlenmiş olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, Tablo.8 ve Grafik.3 ten de anlaşılacağı gibi ghrelin uygulanan grupta plazma total nitrit düzeyinin belirgin bir şekilde yükselmiş olması bu düşüncemizi desteklemektedir. Ayrıca bu bulgularımız

ghrelin ve NO arasında karşılıklı bir etkileşimin varlığına da işaret etmektedir. Nitekim Gaskin ve arkadaşlarının(46) çalışma sonuçları dikkate alınacak olursa, intraserebroventriküler ghrelin enjeksiyonunun hipotalamusta NOS düzeyini yükseltmiş olduğu görülebilir. Bu da bize ghrelin'in ister santral yolla isterse periferal yolla uygulansın etkisini NO aracılığıyla göstermiş olma ihtimalini akla getirmektedir.

Brzowski ve arkadaşları (112) ghrelin'in farklı dozlarda intraperitoneal uygulanmasının, mide asit salgısını arttırdığını, etanol ve strese bağlı gelişen gastrik lezyonların alanını azalttığını göstermişlerdir. Bu sonuçlara, plazma ghrelin düzeyleri, gastrik mukozal kan akımı ve luminal NO düzeylerindeki artışlar da eşlik etmektedir. Biz de çalışmamızda benzer sonuçlar elde ettik ancak plazma ghrelin düzeylerinde değişiklik saptayamadık(Grafik 4). Büyük olasılıkla bu farklılık plazma ghrelin ölçümlerinin Brzowski ve arkadaşlarının çalışmasında enjeksiyondan sonra 30 dakika içinde, bizim çalışmamızda ise enjeksiyondan 3 saat sonra yapılmış olmasına bağlı olabilir. Plazma ghrelin yarılanma ömrünün 60 dakikadan kısa olduğu bilinmektedir(41). Gastrik mukozal kan akımı ve luminal NO düzeylerindeki artışlar, ghrelin'in gastroprotektif etkiye sahip olabileceğine işaret etmektedir.

Dornonville ve arkadaşları, ghrelin ve analoglarının mide asit yapımına ve mide boşalma hızına etkilerini araştırmışlardır. Ghrelin ve des-octanoyl ghrelin'in mide sekresyon fonksiyonunu etkilemediğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada, mide asit ölçümü için dişi Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmış ve cerrahi operasyonlarda hafif isofluran anestezisi (%2.8 isofluran) uygulanmıştır. Mide asit ölçümleri de pilor ligasyonundan 4 saat sonra yapılmıştır. Bizim çalışmamızda erkek Wistar Albino türü sıçanlar kullanıldı ve hafif eter anestezisi uygulandı. Bu çalışmada ortaya çıkan çelişkili sonuçlar muhtemelen materyal ve metodtaki farklı uygulamalardan kaynaklanıyor olabilir.

Sibilia ve arkadaşlarının (3) çalışmasında, ghrelin ve diğer büyüme hormonu salgılatıcılarının gastrik asit sekresyonu üzerine etkileri incelenmiş, bu peptidlerin subkutan enjeksiyonunun mide asit sekresyonunu etkilemediği ancak,



intraserebroventriküler olarak verildiğinde önemli önemli ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir. Ancak, Date ve arkadaşları(3) doza bağlı olarak intraserebroventriküler ghrelin enjeksiyonunun gastrik asit yapımını arttırdığını göstermişlerdir. Sibilia ve arkadaşları, elde edilen farklı sonuçların uygulanan doza ve deney protokol farklılıklarına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Ghrelin'in maksimum inhibitör etkisini çok düşük dozlarda gösterdiği, yüksek dozlarda ise muhtemelen inhibitör yolakla birlikte stimülatör yolağı da aktive ettiği kabul görmüştür. Bu nedenle ghrelin'in mide asit sekresyonu üzerindeki bu ikili etkisine birden fazla GHS-R'lerinin aracılık edebileceği düşünülmektedir.

Ghrelin uygulanan grupta mide yapışkan müküs miktarında kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenirken ( $p<0.05$ ), Ghrelin+L-NAME grubunda belirgin bir azalma saptanmıştır ( $p<0.01$ ) (Grafik 5). Bu sonuca göre, mide yapışkan müküs miktarının artmış olması ghrelin'in gastroprotektif aktivitede pozitif yönde bir katkı sağladığını göstermektedir. Ghrelinin bu etkisi gastrik asit sekresyonunda olduğu gibi, L-NAME enjeksiyonu ile engellenmiştir. Böylece ghrelinin mideyi koruyucu işlevine NO'nun aracılık ettiğini söyleyebiliriz.

Midenin yapışkan müküs tabakası, gastrik asit ve pepsinin kendi dokusunu sindirmesine karşı bir savunma bariyeri oluşturur(113). Gastroprotektif aktivitede müküs tabakasının son derece önemli olduğu bilinmektedir. Gastrik müküs, goblet hücrelerinden salgılanır ve NO, goblet hücre fonksiyonlarının sürdürülmesinde oldukça önemli role sahiptir. Brown ve arkadaşları; NO donörlerinin sıçanlarda gastrik mukozal hücrelerden müküs sekresyonunu ve müküs tabakasının kalınlığını arttırdığını tespit etmişlerdir(114,115). Bu sonuçlar, bizim bulgularımızı destekleyici özelliktedir.

Sibilia ve arkadaşları (116) yaptıkları çalışmada, sıçanlarda ghrelinin etanolle oluşturulan gastrik ülserle karşı koruyucu etkisini incelemişler ve etki mekanizmasını açıklamaya çalışmışlardır. Kemirgen hayvanların mide duvarı yoğun olarak spinal afferent sinir lifleri almaktadır. Bu lifler mide mukozal bariyerinin korunmasında rol alan NO ve kalsitonin gen related peptid (CGRP), P maddesi gibi duyuusal nöropeptidler ve nöronal habercileri üretirler. Bu çalışmanın

sonuçlarına göre, ghrelin'in gastroprotektif etkisine CGRP aracılık etmekte ve ayrıca NO sentaz aktivitesinin L-NAME tarafından bloke edilmesi, ghrelinin koruyucu etkisini tehlikeye sokmaktadır. Bu çalışmayla uyum içinde olan Holzer ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada; mukozal bütünlüğün sağlanmasında CGRP nin önemli rolü olduğu ve bu işlemde NO in ikincil haberci olarak iş gördüğü rapor edilmiştir(117). Bizim çalışmamızda da elde ettiğimiz sonuçların benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

## **5. SONUÇ ve ÖNERİLER**

1999 yılı Aralık ayında Kojima ve arkadaşları tarafından bulunan ve başlıca mideden salınan ghrelin hormonunun fonksiyonları hakkındaki bilgilerimiz her geçen gün artmaktadır. Ancak söz konusu hormonun mide asit yapımı ve sekresyonu üzerine etkisi konusunda çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Ghrelin'in mide asit sekresyonu üzerine daha önce yapılan çalışmalarda, hem inhibe edici hem de stimüle edici olabileceği ayrı ayrı gösterilmiştir. Bu nedenle, yaptığımız çalışmada ratlarda intravenöz ghrelin uygulamasının mide asit sekresyonuna ve mide yapışkan müküs miktarına etkisini incelemeyi ve konuyla ilgili çelişkili bilgilerin nedenlerinin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçladık.

Çalışmamızda ghrelin hormonunun mide asit sekresyonunu arttırdığını, ancak bir nitrik oksit inhibitörü olan L-NAME' in ise azalttığını gösterdik. Yine, yapışkan müküs miktarını da ghrelin'in arttırdığını ancak bu etkinin L-NAME ile ortadan kalktığını saptadık. Bu nedenle ghrelin'in mide asit sekresyon fonksiyonunda ve gastroprotektif aktivitede olumlu etkilerinin bulunduğunu ve bu işlevde NO ile yakın işbirliği içinde olduğunu söyleyebiliriz. Bu konuyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda benzer ve farklı sonuçların alınmasının ışığında, yeni bilgilere sahip olunması gerekmektedir.

Dolayısıyla güncelliğini taşıyan bu konu ile ilgili olarak daha fazla ve detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Kojima M, Hosoda H, Date Y: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*,1999;402:656-660.
2. Casanueva FF, Dieguez C: Ghrelin; The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*,2002;3:325-338.
3. Date Y, Nakazato M, Murakami N et al: Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun*,2001; 280:904-907
4. Sibilio V et al. Evidence for a central inhibitory role of secretagogues and ghrelin on gastric acid secretion in conscious rats. *Neuroendocrinology*, 2002; 75:92-97.
5. Dornonville De La Cour C, Lindstrom E et al. Ghrelin stimulates gastric emptying but without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept.*,2004;120:23-32
6. Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK: The potential autocrine/paracrine roles of ghrelin and its receptor in hormone-dependent cancer. *Cytokine&Growth Factor reviews*,2003; 14:113-122.
7. 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 immuno reactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001; 86:4753-4758
8. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K: Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem*,2000; 275:1995-2000.

9. Tanaka M, Hayashida Y et al: Testis-specific and developmentally induced expression of a ghrelin gene-derived transcript that encodes a novel polypeptide in the mouse. *Biochem Biophys Acta*, 2001; 1522: 62-65.
10. King MK, Gay DM, Pan LC: Treatment with a growth hormone secretagogue in a model of developing heart failure. Effects on ventricular and myocyte function. *Circulation*, 2001; 103:308-312.
11. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M: The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:881-887.
12. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA et al: Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinol*, 1980; 106:663-667.
13. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA et al: Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinol*, 1980; 106:663-667.
14. Howard AD, Feighner SD, Cully DF et al: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 1996; 273: 974-977.
15. Mc Kee KK, Palyha OC, Feighner SD et al: Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptor. *Mol Endocrinol*, 1997; 1: 415-23.
16. Date Y, Kojima M, Hosoda H: Ghrelin, a novel hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell. *Endocrinology*, 2000; 141(11):4255-4261.

17. Wren AM, Small CJ et al: The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology*, 2000; 141:4325-4328.
18. Davies A, Blakeley AG, Kidd C. *Human Physiology*: Churchill Livingstone, 2001; 824-28.
19. Gualillo O, Lago F et al: Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Letters*, 2003; 1-5.
20. Petersenn S: Structure and regulation of the growth hormone secretagogue receptor. *Minerva Endocrinol*, 2002; 27(4):243-256.
21. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA et al: The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes on its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87:298.
22. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K: Ghrelin; discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2001; 12(3):118-122.
23. Garcia A, Alvarez CV, Smith RG, Dieguez C: Regulation of Pit-1 expression by ghrelin and GHRP-6 through the GH secretagogue receptor. *Mol Endocrin*, 2000; 15(9):1484-95.
24. Date Y, Murakami N, Kojima M et al: Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 275:4.
25. Kojima M, Kangawa K: Ghrelin, an orexigenic signaling molecule from the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Pharmacology*, 2002; 2:665-668.
26. Ghigo E, Avrat E, Broglio F, Giordano R et al: Endocrine and non-endocrine activities of growth hormone secretagogues in humans. *Horm. Res.*, 1999; 51:9-15.

27. Barreiro ML, Gaytan F, Caminos JE: Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol Reprod*, 2002a; 67:1768-1776.
28. Sleisenger C, Foltran B. *Gastrointestinal and Liver Disease: WB Saunders* 7th ed., 2002.
29. Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK: Expression and action of the GHR peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol*, 2002; 172:7-11.
30. Volante M, Allia E, Gugliotta P: Expression of ghrelin and GHS receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002a; 87:1300-1308.
31. Hattori N, Saito T, Yagyu T: GH, GH receptor, GH-secretagogue receptor and ghrelin expression in human T cells, B cells and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:4284-4291.
32. Volante M, Fulcheri E, Allia E: Ghrelin expression in fetal, infant and adult human lung. *J Histochem Cytochem*, 2002b; 50:1013-1021.
33. Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK: Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type Ia growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88(2):879-887.
34. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschöp M: Ghrelin and the regulation of energy balance- a hypothalamic perspective (Review). *Endocrinology*, 2001; 142:4163-4169.
35. Mitchell V, Bouret S et al: Comparative distribution of mRNA encoding the GHS-R in *Microcebus murinus* and rat forebrain and pituitary. *J Comp Neurol*, 2001; 429:469-489.
36. Cowley MA, Smith RG et al: The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 2003; 37:649-661.



37. Morley JE, Farr SA, Suarez MD, Flood JF. Nitric oxide synthase inhibition and intake *Pharmacol Biochem Behav* 1995;50:369-373.
38. Lawrence CB, Snape AC, Baudoin FM,; Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and active brain appetite centers. *Endocrinology*, 2002; 143:155-162.
39. Höybye C, Barkeling B et al: Peptides associated with hyperphagia in adults with Prader-Willi Syndrome before and during GH treatment. *Sci. Direct*, 2003; 13:1-6.
40. Rinaman L, Hoffman GE et al: Exogenous cholecystinin activates cFos expression in medullary but not hypothalamic neurons in neonatal rats. *Dev Brain Res*, 1994;74:14.
41. Tolle V, Bassant MH, Zizzari P: Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation GH, feeding behaviour and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology*, 2002;143:1353-1361.
42. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH: Modulation of synaptic transmission. *The biochemical basis of neuropharmacology*. New York: Oxford University Pres, 1996;119-122.
43. Konturek JW, Fischer H et al. Endogenous nitric oxide in the regulation of gastric secretory and motor activity in humans. *Aliment .Pharmacol. Ther*, 1999;13:1683-91.
44. Brown JF, Hakanson PJ, Whittle BJR. The nitric oxide donor, S-nitroso-N-acetyl penicillamine inhibits secretory activity in rat isolated parietal cells. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 1993;195:1354-1359.
45. Czech DA, Klosterman AE, Le Sueur KT. N-nitro L-arginine methyl ester reduces stress related feeding in the rat tail pinch model. *Pharmacol Biochem Behav.*, 1998; 60:91-6.

46. Gaskin F.S, Farr S.A et al. Ghrelin-induced feeding is dependent on nitric oxide. *Peptides*, 2004; 24 : 913-918.
47. Cummings DE, Purnell JQ et al: A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 2001; 50:1714-1719.
48. Inui A: Ghrelin an somatotrophic signal from the stomach. *Nat Rev Nuerosci*, 2001; 2:551-560.
49. Nakazato M, Murakami N et al: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*,2001; 409:194-198.
50. Wang L et al : Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y- synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate nucleus. *Neurosci Lett*,2002; 325:47-51.
51. Asakawa A,Inui A,Kaya T: Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*,2001; 120:337-345.
52. Lee H,Wang G,Englander EW,Kojima M,Greeley Jr: Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptid that stimulates insulin secretion:enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine and dietary manipulations. *Endocrinology*,2002; 143:185-190.
53. Date Y, Murakami A et al: The role of gastric vagal afferent in feeding and growth hormone secretion effects of ghrelin. *Gastroenterology*,2002; 123:1121-1128.
54. Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M et al: Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting,insulin induced hypoglycemia and leptin administration. *Biochem. Biophys. Res. Commun*,2001; 281:1220-1225.
55. Gualillo O, Caminos JE et al: Effect of food restriction on ghrelin in normal cycling female rats and in pregnancy. *Obes. Res*, 2002; 10:682-687.

56. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E & Hayman ML: Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 2001; 50:707-709.
57. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 2000; 407:908-913.
58. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K: Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes*, 2001; 50:227-232.
59. Krsek M, Rosicka M, Haluzik M et al. Plasma ghrelin levels in patients with short bowel syndrome. *Endocr Res*, 2002; 28(1-2): 27-33.
60. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M: Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001; 280: R1483-1487.
61. Ghigo E, Arvat E, Giordano R: Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine*, 2001; 14:87-93.
62. King MK, Gay DM, Pan LC: Treatment with a growth hormone secretagogue in a model of developing heart failure. Effects on ventricular and myocyte function. *Circulation*, 2001; 103:308-312.
63. Wiley KE, Davenport AP: Comparison of vasodilators in human internal mammary artery; ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol*, 2002; 136:1146-1152.
64. Nagaya N, Miyatake K, Oya H et al: Hemodynamic, renal and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 5854-5859.
65. Tena-Sempere M, Barreiro ML et al: Novel expression and functional role for ghrelin in rat testis. *Endocrinology*, 2002; 143:717-725.

66. Tanaka K, Minoura H et al: Ghrelin is involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*,2003; 88:2335-2340.
67. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K et al: Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett*,2000; 486:213-216.
68. Cassoni P, Papotti M, Ghe C: Identification, characterization and biological activity of specific receptors for natural ghrelin and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab*,2001;86: 1738-1745.
69. Chopin LK, Veveris-Lowe TL et al: Co-expression of GH and GHR isoforms in prostate cancer cell lines. *Growth Horm IGF Res*,2002; 12(2):126.
70. Korbonits M, Jacops RA, Aylwin SJ, Burrin JM, Dahia PL, Monson JP, Honegger J, Fahlbush R, Trainer PJ, Chew SL, Besser GM, Grossman AB: Expression of the growth hormone secretagogue receptor in pituitary adenomas and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*,1998; 83:3624-3630.
71. Papotti M, Cassoni P, Volante M, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E: Ghrelin-producing endocrine tumors of the stomach and intestine. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:5052.
72. Barlier A, Zamora AJ, Grino M: Expression of functional GHS-R in human pituitary adenomas: PCR, triple in situ hybridisation and cell culture studies. *J Neuroendocrinol*, 1999; 11:491-502
73. Murata M, Okimura Y, Lida K: Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem*,2001; 277:5667-74.
74. Kim K, Arai K, Sanno N, Osamura RY, Teramoto A, Shibasaki T: Ghrelin and growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHSR) mRNA expression in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*,2001; 54:759-768.

75. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M: The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:881-887
76. Duxbury MS, Waseem T et al: Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 309:464-468.
77. Kanamoto N, Akamizu T, Hasoda H: Substantial production of ghrelin by a human medullary thyroid carcinoma cell line. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:49.
78. Enomoto M, Nagaya N et al: Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel GHR-P, in healthy humans. *Clin Sci*, 2003; 10.
79. Höybye C, Barkeling B et al: Peptides associated with hyperphagia in adults with Prader-Willi Syndrome before and during GH treatment. *Sci. Direct*, 2003; 13:1-6.
80. Muccioli G, Tschop M, Papotti M: Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol*, 2002; 440 (2-3):235-254.
81. Wren AM, Small CJ, Abbott CR et al: Systemic and hypothalamic actions of ghrelin in regulation of food intake, body weight and pituitary function. *Bioscientifica*, 2002.
82. Nakahara K, Hayashida T et al: Effect of chronic treatments with ghrelin on milk secretion in lactating rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 303:751-755.
83. Ghigo E, Arvat E, Camanni F: Growth hormone and secretagogues as corticotrophin-releasing factors. *Growth hormone IGF Res*, 1998; 8:145-148.

84. Broglio F, Gottero C, Benso A et al: Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine or free fatty acids load in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88:4268-4272.
85. Saad MF, Bernaba B et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endoc Metab*, 2002; 87(8): 3997-4000.
86. Feldman M. Gastric secretion in health and disease. In: Sleisenger MS, Foltran JS, eds. *Gastrointestinal disease*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1989:713.
87. Katschinski M, Dahman G et al. *Gastroenterology*, 1992; 103: 383-391.
88. Andrews PLR: Vagal afferent innervation of the gastrointestinal tract. *Prog Brain Res*, 1986; 67:65.
89. Bertoud HR, Jedizejewska A, Powley TL: Simultaneous labeling of vagal innervation of the gut and afferent projections from the visceral forebrain with Dil injected into the dorsal vagal complex in the rat. *J Comp Neurol*, 1990;301:65.
90. Debas S., Carvajal L: Vagal regulation of acid secretion and gastric release. *Yale J Biol Med*, 1994;67(3-4): 145-151.
91. Fox EA, Powley TL. Longitudinal columnar organization within the dorsal motor nucleus represents separate branches of the abdominal vagus. *Brain Res* 1985;341:
92. Sandler S, Andersson A :Influence of persistent hyperglycemia on transplanted pancreatic islets. *Horm Metab Res Suppl*, 1990;25: 137-142.
93. Prinz C, Kojimura M et al. Histamine secretion from rat enterochromaffin like cells. *Gastroenterology*, 1993;105:449.
94. Alumets J, Ekelund M et al. Gastric acid response to pylorus ligation in rats: Is gastrin or histamin involved? *J Physiol*, 1982;323:145-156.



95. Cortas NK, Wakid NW: Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*, 1990; 36(8): 1440-43.
96. Grossmann MI: Protection of gastric mucosa by prostaglandins. *Gastroenterology*, 1979;77(3):593-4.
97. Lindström E, Hakanson R et al: Neurohumoral regulation of secretion from isolated rat stomach ECL cells: a critical reappraisal. *Regul.Pept*,2001; 97:169-180.
98. Prinz C,Zanner R et al: The mechanism of histamin secretion from gastric enterochromaffin cells. *Am.J.Physiol*,1999; 277:C845-C855.
99. Wood JD: Physiology of the enteric nervous system. In: *Physiology of the gastrointestinal tract (3rd ed.)*,New York:Raven Pres;1994:vol.1,423.
100. Zeng N,Athmann C et al: PACAP type 1 receptor activation regulates ECL cells and gastric acid secretion. *J Clin Invest*,1999;104:1383-1391.
101. Sandler F, Erblad E et al: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: a novel vasoactive intestinal peptide-like neuropeptide in the gut. *Neuroscience*, 1992;46:439-44.
102. Mungan Z, Ozmen V et al: Effect of PACAP on gastric acid secretion in rats.*Peptides* 1995;16:1051-1056.
103. Kajimura M,Reuben MA et al.The muscarinic receptor gene expressed in rabbit parietal cells in the m3 subtype. *Gastroenterology*,1992;103:870.
104. Lindström E, Chen D et al: Control of gastric acid secretion: the gastrin-ECL cell-parietal cell axis. *Comp.Biochem.Physiol*, 2001; 128:505-514.
105. Lindström E,Björkqvist M et al: Pharmacological analysis of CCK2 receptor antagonists using isolated ECL cells. *Br.J Pharmacol*,1999;127:530-536.

106. Gantz I, Schaffer M, et al. Molecular cloning of a gene encoding histamine H2 receptor. *Proc Natl Acad Sci*, 1991; 88: 429.
107. Sachs G, Shin JM et al. The continuing development of gastric acid pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther*, 1993; 7(Suppl): 4.
108. Hersey SJ, Sachs G. Gastric acid secretion. *Phys Rev*, 1995; 75: 155.
109. Moore JG, Wolfe M. Circadian plasma gastrin patterns in feeding and fasting man. *Digestion*, 1974; 11: 226.
110. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N et al: Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 276: 905-908.
111. Yamada T, Alpers DH, Laine L, Owyang C, Powell DW. *Textbook of Gastroenterology*: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: vol. 1: 280-305.
112. Brzozowski T, Konturek PC et al. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Peptides*, 2004; 120: 39-51.
113. Ye YN, So NL et al. Effects of polysaccharides from *Angelica sinensis* on gastric ulcer healing. *Life Sci*, 2003; 72: 925-932.
114. Brown JF, Hanson PJ, Whittle BJ. Nitric oxide donors increase mucus gel thickness in rat stomach. *Eur J Pharmacol*, 1992; 223: 103-104.
115. Brown JF, Keates AC et al. Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. *Am J Physiol*, 1993; 265: 418-22.
116. Sibilica V et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 2003; 144(1): 353-359.
117. Holzer P. Neural emergency system in the stomach. *Gastroenterology*, 1998; 114: 823-839.

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

**Adı Soyadı :** H.Murat Bilgin

**Doğum Yeri ve Tarihi :** Ankara- 1970

**Medeni Durumu :** Evli

**Yaptığı iş ve Ünvanı :** Araştırma Görevlisi- Dr.

**Adresi :** Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.,Diyarbakır

### **EĞİTİM**

**İlkokul :** Mehmetçik İlkokulu, Diyarbakır

**Ortaokul :** Tarsus Amerikan Koleji

**Lise :** Diyarbakır Anadolu Lisesi

**Lisans/ Y. Lisans :** Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi - 1997

**Doktora :**

### **ÇALIŞTIĞI KURUMLAR**

**1997 :** Çermik Sağlık Ocağı- D.Bakır

**1998 :** Bağlar 3 No'lu Sağlık Ocağı- D.Bakır (Sorumlu Hekim)

**1999 :** Dicle Üniversitesi SKS Dairesi Hekimliği,

Dicle Üniversitesi Kan Bankası Hekimliği

## **ÜYE OLDUĞU KURULUŞLAR**

1. Diyarbakır Tabip Odası
2. Diyarbakır Hayvanları Koruma Derneği
3. Diyarbakır Kültür ve Tanıtma Vakfı
4. Diyarbakır Sanat Merkezi

## **KATILDIĞI KURS ve BİLİMSEL TOPLANTILAR**

1. AIDS Eğitim Günleri,1994,Antalya.
2. I. International Student Congress of Medical Sciences,1994,İzmir.
3. Sekonder Travmalı Hastaya Yaklaşım Eğitimi,1998,D.Bakır
4. İşyeri Hekimliği Eğitimi,1998,D.Bakır.
5. Bronş Astmasında Erken Tedavi ve Hasta Eğitimi,1998,D.Bakır
6. Bilimsel Araştırmalarda Biyoistatistik Yöntemlerinin Bilinçli Kullanımı,  
2002,D.Bakır
7. Şiddetin Ruhsal,Fiziksel Etkileri;Tedavi ve Rehabilitasyonu,1997,D.Bakır
8. II. International Student Congress of Medical Sciences,1996,İzmir
9. II.Tıp Bilimleri Öğrenci Kongresi,1993,D.Bakır
10. I.Ulusal Genel Pratisyenlik Eğitim Günleri,2000,D.Bakır
11. Lösemiler Yaz Okulu,1994,Ankara
12. Üriner Enfeksiyonlar Sempozyumu,1998,D.Bakır
13. 11.International Medical Sciences Student Congress,1995,İstanbul

14. İnfeksiyon Hastalıkları Eğitim Programı,1998,D.Bakır
15. Genel Pratisyenlik Bölgesel Eğitim Günleri,2001,D.Bakır
16. Deney Hayvanlarının Biyolojik Araştırmalarda Kullanılması Kursu,  
2004,D.Bakır
17. 29.Ulusal Fizyoloji Kongresi,2003,Ankara
18. HPLC ve Diğer Seperasyon Teknikleri Olusal Sempozyumu,2003,Ankara
19. 28.Ulusal Fizyoloji Kongresi,2002,İzmir
20. Hücrede Sinyal İletimi Kursu,2003,Ankara

#### **YURTDIŐI FAALİYETLERİ**

1. MEDSA (Medical Students Association)'ın açtığı sınavı kazanarak, 01-08-1995 – 31-08-1995 tarihleri arasında Maribor Hospital (Slovenya)'da Genel Cerrahi stajı yaptı

#### **GÖREV ALDIĞI PROJE ve YAYINLAR**

1. Comparison of Knowledge Levels, Attitudes and Behaviours of Dicle University Medical Faculty Students In The 1-2. and 5-6.Periods About Acquired Immune Deficiency Syndrome. **Bilgin H**,Arıkan E.,Şahin H. 11.International Medical Sciences Student Congress,İstanbul,1995.

2. Makrofaj Fagositik Aktivitesine Soğuk ve Hareketsizlik Stresinin Etkisi. Tümer C, Diken H,Kelle M,Bilgin H.M,Koçyiğit Y,Sermet A. 30.Ulusal Fizyoloji Kongresi,2004

3. Deneysel Mide Ülserinde Ghrelin'in Koruyucu ve İyileştirici Etkisinin Araştırılması. Sermet A,Tasdemir E,Tümer C,Obay B,Diken H,Bilgin H.M,Koçyiğit Y. 30.Ulusal Fizyoloji Kongresi,2004

4. Periton Makrofajlarının Fagositik Aktivitesinde Nitrik Oksit'in Rolü.Tümer C,Diken H,Bilgin H.M,Obay B,Taşdemir E. 30.Ulusal Fizyoloji Kongresi,2004

## **EK FAALİYETLER**

1. 1994-1996 yılları arasında Tıp Fakültesi Öğrenci Bilimsel Araştırma Kolu Başkanlığında bulundu.

2. 2002-2004 yılları arasında Diyarbakır Tabip Odası Yönetim Kurulu Üyeliği görevinde bulundu.

3. Çeşitli dergi ve gazetelerde yazı ve yorumları yayınlandı.

