

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

BÜYÜME ÇAĞINDAKİ SIÇANLARDA ORAL KAPRİLİK ASİT
UYGULAMASININ AÇIL GHRELİN VE BÜYÜME HORMONU DÜZEYLERİ
İLE ANKSİYETE ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. Dr. Ekin BİLGE

UZMANLIK TEZİ

Olarak hazırlanmıştır.

ANKARA

2022

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

BÜYÜME ÇAĞINDAKİ SIÇANLARDA ORAL KAPRİLİK ASİT
UYGULAMASININ AÇIL GHRELİN VE BÜYÜME HORMONU DÜZEYLERİ
İLE ANKSİYETE ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. Dr. Ekin BİLGE
UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Esin İLERİ GÜREL

ANKARA
2022

TEŞEKKÜR

Fizyolojide uzmanlık eğitim sürecimde ve tezimin her aşamasında bana ışık tutan, inanan ve destek veren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Esin İLERİ GÜREL'e,

Bölümümüzde ideal bir çalışma ortamı düzeni sağlayan, desteğini ve anlayışını hiçbir zaman bizden esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ayşen ERDEM'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca birçok şey öğrendiğim Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma, aynı ortamı paylaşmaktan çok mutlu olduğum araştırma görevlisi arkadaşlarım ve idari personelimize,

Tez çalışmama değerli yorumlarıyla katkı sağlayan tez jüri üyeleri hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayşen ERDEM'e, Sayın Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ'a ve Sayın Doç. Dr. Esin İLERİ GÜREL'e,

Çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Deniz ÖNAL'a, Arş. Gör. Meriç DEMELİ'ye,

Laboratuvar analizlerinde yardımlarını esirgemeyen ve Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki olanaklardan faydalanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. İncilay LAY'a ve Merkez Laboratuvarında teknisyen Sayın Yasin KIRAN'a,

Çalışmamın istatistiksel analizinde danışmanlık yardımı aldığım Biyoistatistik Anabilim Dalı hocalarımızdan Sayın Prof. Dr. Erdem KARABULUT'a,

Her zaman yanımda olan ve bana güç veren annem Berrin BİLGE'ye, babam Sabahattin BİLGE'ye ve kardeşim Onat'a,

Teşekkür ederim.

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından

TTU-2020-18870 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZET

Bilge E. Büyüme Çağındaki Sıçanlarda Oral Kaprilik Asit Uygulamasının Açıl Ghrelin ve Büyüme Hormonu Düzeyleri ile Anksiyete Üzerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Uzmanlık Tezi, Ankara, 2022. Kaprilik asit 8 karbon içeren orta zincirli bir yağ asididir. Kaprilik asit, açlık hormonu olarak bilinen ghrelinin aktif formu olan açıl ghreline dönüşümü için gereklidir. Açıl ghrelin besin alımının kontrolü ile ilişkili işlevlerine ek olarak, büyüme hormonu salgısını artırır. Diyet yoluyla alınan kaprilik asidin ghrelinin aktif formunu artırarak bu mekanizma üzerinden büyümeyi desteklemesi olasıdır. Bu tez çalışmasının amacı, uzun dönem oral kaprilik asit uygulanan sıçanlarda serum açıl ghrelin, büyüme hormonu, IGF-1 ve insülin düzeyi, büyüme parametreleri ve anksiyete düzeylerini incelemektir. Bu amaçla 3 haftalık 30 adet Wistar albino erkek sıçan; kontrol, düşük düzey kaprilik asit ve orta düzey kaprilik asit olmak üzere 3 gruba ayrılmış; 30 gün boyunca oral gavaj ile kaprilik asit uygulaması yapılmıştır. Uygulama boyunca sıçanların büyüme parametreleri ve yem tüketimleri takip edilmiş; sonrasında açıl ghrelin, büyüme hormonu, IGF-1 ve insülin düzeyleri ölçülmüştür. Ayrıca hayvanların anksiyete düzeyleri yükseltilmiş artı labirent ve aydınlık/karanlık kutu testleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonucunda, büyüme çağındaki sıçanlara uyguladığımız dozlardaki kaprilik asidin büyüme hormonunda azalmaya yol açtığı; açıl ghrelin, IGF-1 ve insülin düzeylerinde ise değişikliğe yol açmadığı görülmüştür. Ayrıca gruplar arasında büyüme, iştah ya da anksiyete düzeyleri açısından bir fark bulunamamıştır. Tez çalışmamız, kaprilik asidin büyüme çağındaki sıçanlarda büyüme, besin tüketimi ile açıl ghrelin ve büyüme hormonu düzeylerini beraberince inceleyen ilk çalışma olması bakımından önemlidir. Kaprilik asit ve ghrelin hormonu arasındaki etkileşim ve bu etkileşimin büyüme ile ilişkili hormon düzeyleri, büyüme parametreleri, iştah ve anksiyete üzerine etkisini aydınlatacak daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kaprilik asit, Ghrelin, Büyüme hormonu, IGF-1, Anksiyete

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri TTU-2020-18870

ABSTRACT

Bilge E. The Effect of Oral Caprylic Acid Administration on Acyl Ghrelin and Growth Hormone Levels and Anxiety in Growing Rats. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Physiology, Ankara, 2022. Caprylic acid is a medium chain fatty acid containing 8 carbons. Caprylic acid is necessary for the conversion of ghrelin which is known as the hunger hormone, to its active form acyl ghrelin. In addition to its functions related to the control of food intake, acyl ghrelin increases the secretion of growth hormone. It is possible that dietary caprylic acid increases the active form of ghrelin and supports growth through this mechanism. The aim of this thesis study is to investigate the effect of long-term oral caprylic acid administration to serum acyl ghrelin, growth hormone, IGF-1 and insulin levels, growth parameters and anxiety levels in rats. For this purpose, 3 week-old 30 Wistar albino male rats were divided into 3 groups as control, low level caprylic acid and moderate caprylic acid groups. Caprylic acid was administered by oral gavage for 30 days. During the application, the growth parameters and food consumption of the rats were followed, subsequently acyl ghrelin, growth hormone, IGF-1 and insulin levels were measured. In addition, the anxiety levels of the animals were evaluated with the elevated plus maze and light/dark box tests. As a result of our study, it was found that the doses of caprylic acid we applied to growing rats caused a decrease in growth hormone, on the other hand acyl ghrelin, IGF-1 and insulin levels were not changed. In addition, no difference was found between the groups in terms of growth, appetite or anxiety levels. Our thesis is important in that it is the first study to examine the growth, food consumption, and acyl ghrelin and growth hormone levels of caprylic acid together in growing rats. More studies are needed to elucidate the interaction between caprylic acid and ghrelin hormone and its effect on growth-related hormone levels, growth parameters, appetite and anxiety.

Keywords: Caprylic acid, Ghrelin, Growth hormone, IGF-1, Anxiety

Supported by: Hacettepe University Scientific Research Projects TTU-2020-18870

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Yağlar	4
2.2. Orta Zincirli Yağ Asitleri	5
2.2.1 Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Sindirim, Emilim ve Metabolizması	6
2.2.2. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Enerji Metabolizması Üzerine Etkisi	8
2.2.3. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Lipoprotein Metabolizması Üzerine Etkisi	9
2.2.4. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Beyin İşlevlerine Olan Etkileri	10
2.2.5. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Bilişsel İşlevlere ve Davranışa Etkisi	11
2.3. Kaprilik Asit	12
2.4. Ghrelin	13
2.4.1. Ghrelinin Vücuttaki Etkileri	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	24
3.2. Deney Protokolü	25
3.2.1. Oral Kaprilik Asit Uygulaması	26
3.2.2. Tartım ve Ölçümler	28
3.2.3. Davranış Deneylei	29
3.2.4. Sakrifikasyon, Kan ve Dokuların Toplanması	33
3.2.5. Kan Parametrelerinin Analizi	35
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	40
4.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri	40
4.2. Deney Hayvanlarının Kan Parametreleri	46
4.3. Davranış Deneylelerine İlişkin Parametreler	50
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ADH	Antidiüretik Hormon
AgRP	Agouti ilişkili Protein
AHA	Amerikan Kalp Derneği
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit
ANOVA	Varyans Analizi
ark.	Arkadaşları
ATP	Adenozin Trifosfat
A.Ş.	Anonim Şirketi
BEH	Baş Eğme Hareketi
BKİ	Beden Kütle İndeksi
CRH	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
DKA	Düşük Düzey Kaprilik Asit
ELISA	Enzim Bağlı İmmün Assay
fmol	Femtomol
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GABA	γ -aminobütirik Asit
GH	Büyüme Hormonu
GHRH	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
GHS	Büyüme Hormonu Sekretagogu

GHS-R	Büyüme Homonu Reseptörü
GLUT-1	Glukoz Taşıyıcısı 1
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GOAT	Ghrelin O-Açıltransferaz
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOMA-IR	İnsülin Direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirmesi
HRP	Horseradish Peroksidaz
H ₀	Sıfır Hipotezi
H ₁	Alternatif Hipotez
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IP ₃	İnozitol Trifosfat
JAK-STAT	Janus Kinaz/ Sinyal Dönüştürücüleri ve Transkripsiyon Aktivatörleri
K	Kontrol Grubu
KoA	Koenzim A
LCFA	Uzun Zincirli Yağ Asitleri
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LD ₅₀	Yüzde 50 Öldürücü Doz
LH	Luteinizan Hormon
maks	Maksimum
MCFA	Orta Zincirli Yağ Asitleri
mIU	Mili Uluslararası Birim
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit

n	Örneklemdaki Birey Sayısı
NPY	Nöropeptid Y
OKA	Orta Düzey Kaprilik Asit
ort	Ortalama
pH	Potansiyel Hidrojen
POMC	Protiomelanokortin
QUICKI	Kantitatif İnsülin Duyarlılığı Hesaplama İndeksi
r	Korelasyon Katsayısı
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı
SEM	Ortalamanın Standart Hatası
TUH	Temkinli Uzanma Hareketi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin bağırsaktan karaciğere taşınması	7
Şekil 2.2. Kaprilik asidin kimyasal yapısının iki boyutlu gösterimi	12
Şekil 2.3. De-açil ghrelinin GOAT enzimi tarafından aktif formuna dönüşmesi	14
Şekil 2.4 Büyüme üzerinde etkili bazı hormonların birbirleri ile etkileşimleri	19
Şekil 3.1. Deney protokolünün günlük planı	25
Şekil 3.2. Oral gavaj uygulaması	27
Şekil 3.3. Tartım ve kuyruk uzunluğu ölçümleri	28
Şekil 3.4. Yükseltilmiş artı labirent testi	30
Şekil 3.5. Aydınlık/karanlık kutu testi	32
Şekil 3.6. Nazo-anal uzunluk ölçümü	33
Şekil 4.1. Zaman içindeki ağırlık değişimleri	41
Şekil 4.2. Zaman içindeki kuyruk uzunluğu değişimleri	42
Şekil 4.3. Zaman içindeki yem tüketimi değişimleri	43
Şekil 4.4. Zaman içindeki 100 g hayvan ağırlığı başına yem tüketimi değişimleri	44
Şekil 4.5. Büyüme hormonu konsantrasyonlarının ortalamaları	48
Şekil 4.6. Baş eğme hareketi sayılarının ortalamaları	53

TABLULAR

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Orta zincirli yağ asitleri isimlendirmesi ve kaynakları	5
Tablo 3.1. Deney hayvanlarına verilen standart yemin içeriği	24
Tablo 4.1. Başlangıç vücut ölçümleri	40
Tablo 4.2. Son vücut ölçümleri	41
Tablo 4.3. Sıçanların nazo-anal uzunluk ve beden yapısına ilişkin sonuçlar	45
Tablo 4.4. 100 g hayvan ağırlığı başına düşen rölatif organ ağırlıkları	46
Tablo 4.5. Kan hormon düzeyleri	47
Tablo 4.6. Kan glukoz düzeyi ilk ve son ölçümler	48
Tablo 4.7. Glukoz homeostazı ve insülin direncini gösteren parametreler	49
Tablo 4.8. Biyokimyasal parametreler	50
Tablo 4.9. Yükseltmiş artı labirent testi süre ve kollara geçiş sayıları	51
Tablo 4.10. Yükseltmiş artı labirent deneyi risk davranışı hareketleri sayısı	52
Tablo 4.11. Aydınlik/karanlık kutu deneyi süre ve geçiş sayıları	54

1. GİRİŞ

Açlık hormonu olarak da bilinen ghrelin gastrointestinal sistemde, özellikle de midede eksprese edilen 28 amino asitlik bir peptiddir. Ghrelin gıda alımı, vücut ağırlığının düzenlenmesi, kısa ve uzun dönem enerji homeostazında görev alır. Yağların metabolik yakıt olarak kullanımını azaltan ve yağ depolamasını teşvik eden anabolik bir hormondur. Ghrelin, büyüme hormonu (GH) salgısını artırır, insülin salgısının ve kan glukozunun düzenlenmesinde rol alır (1-3). Plazmada ghrelin hem açillenmiş hem de açillenmemiş şekilde bulunur. Aktif form olan açıl ghrelinin oluşabilmesi için peptidin N-terminal ucundaki 3. serin aminoasidine bir orta zincirli yağ asidi olan kaprilik asidin ester bağıyla bağlanması gereklidir (1, 4). Yapılan çalışmalarda kaprilik asidin oral uygulanması ile açıl ghrelin düzeylerinin akut olarak artması, ghrelinin aktiveleşme tepkimesinde diyet içeriğindeki kaprilik asidin kullanıldığını göstermiştir (5). Diyet yoluyla alınan kaprilik asidin ghrelinin aktif formunu artırabileceği bulgusu, büyüme hormonu salgısını artırmaya yönelik yeni bir yaklaşım olarak büyük bir potansiyel içermektedir (6).

Kaprilik asit orta zincirli yağ asidi ailesinin 8 karbonlu üyesidir. Orta zincirli yağ asitleri süt ürünleri, hurma çekirdeği ve Hindistan cevizi yağında bulunur (7). Orta zincirli yağ asitleri uzun zincirli doymuş yağ asitlerine kıyasla hızlı gastrointestinal hidroliz ve emilim, portal ven yoluyla taşınma ve karaciğerde hızlı oksidasyona uğrama gibi farklı fiziksel ve metabolik özelliklere sahiptir (8). Orta zincirli yağ asitlerinin bu özellikleri, yağ dokusunda yüksek katabolizmaya ve düşük depolanmaya yol açar (9). Karaciğerde daha fazla oksidasyona uğradıkları için orta zincirli yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitlerine göre daha ketojenik özelliktedir. Tüm bu özelliklerden dolayı orta zincirli yağ asitleri uzun yıllardır birçok hastalıkta kullanılmaktadır (7). Ayrıca birçok çalışmada orta zincirli yağ asitlerinin obezite, insülin direnci ve kalp-damar hastalıkları gibi durumlarda faydalı olabileceği gösterilmiş ve bu nedenle son zamanlarda popüler bir konu haline gelmiştir (10). Kaprilik asit anoreksijenik etkiye sahiptir. Literatürde kaprilik asidin iştah üzerine akut etkilerini inceleyen çalışmalarda serum fizyolojik veya uzun zincirli yağ asidi verilen

kontrol gruplarına göre besin alımında azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir (11, 12). Diğer yandan besin alımı üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını ya da iştahı arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (13-15).

Orta zincirli yağ asitlerinin hayvanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışları azalttığı ve bilişsel performansı iyileştirdiğine yönelik çalışmaların varlığı bazı nörolojik ve psikolojik bozukluklarda da diyetle orta zincirli trigliserit eklenmesinin faydalı olabileceğini düşündürmektedir (16-18). Literatürde bu alandaki çalışma sayısı oldukça az olmakla beraber tek başına kaprilik asidin anksiyete üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışmada ayrıca ergenlik döneminde sık karşılaşılan bir sorun olan anksiyete benzeri davranışlar üzerine kaprilik asit takviyesinin etkisinin incelenmesi de planlanmıştır.

Ghrelinin büyüme hormonu ve beslenme davranışı üzerindeki etkileri bilinmekle beraber, diyetteki kaprilik asidin uzun dönemde aktif ghrelin salgısı üzerine etkisini inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır ve sonuçları çelişkilidir (13, 19). Kaşektik hastalarda yapılan bir çalışmada, kaprilik asit içeren bir gıda takviyesinin plazma açıl ghrelin düzeylerini hem tek uygulamadan ve hem de 2 haftalık kullanımdan sonra anlamlı düzeyde arttırdığı gösterilmiştir (13). Bu çalışmanın aksine başka bir çalışmada kaprilik asit takviyesinin total veya açıl ghrelin düzeyleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür (19). Yine benzer şekilde bir çalışmada da kaprilik asit takviyesinin dolaşımdaki açıl grelin düzeylerini değiştirmede ancak de-açıl ghrelin düzeylerinde azalmaya yol açtığı bulunmuştur (14).

Bir yandan ghrelin hormonunun aktivasyonuna yol açarak büyüme hormonu salgısında ve yağ depolanmasında artışa yol açan kaprilik asit, diğer yandan orta zincirli yağ asitlerinin tipik özelliklerini göstererek yağ katabolizmasını artırmaktadır. Dolayısıyla kaprilik asit tüketen kişilerde, özellikle de büyüme çağındaki çocuklarda kaprilik asit tüketiminin büyümeyi nasıl etkileyebileceği bilinmemektedir. Literatürde uzun dönem kaprilik asit uygulamasının açıl ghrelin, büyümeyle ilişkili hormon düzeyleri ile büyüme parametreleri ve iştah üzerindeki etkilerini beraberce değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı

sıçanlara uzun dönem oral olarak verilen kaprilik asidin açil ghrelin, büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve insülin hormonu düzeylerine olan etkisini, buna bağlı olarak da büyüme ve iştah üzerinde değişiklik oluşturup oluşturmadığını incelemektir. Çalışmamızda ayrıca büyüme döneminde önemli bir ruh sağlığı sorunu olan anksiyete üzerine kaprilik asit takviyesinin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçlara yönelik olarak çalışmanın hipotezleri belirlenmiştir:

- H1₀: Büyüme çağındaki sıçanlara oral kaprilik asit uygulaması ghrelin hormonunun açil modifikasyonuna etkisi yoktur ve aktif ghrelin düzeyini değiştirmez.
- H1₁: Büyüme çağındaki sıçanlara oral kaprilik asit uygulaması ghrelin hormonunun açil modifikasyonuna etkisi vardır ve aktif ghrelin düzeyini artırır.
- H2₀: Büyüme çağındaki sıçanlarda açil ghrelin artışı, büyüme hormonu, IGF-1, insülin düzeylerini ve büyümeyi etkilemez.
- H2₁: Büyüme çağındaki sıçanlarda açil ghrelin artışı, büyüme hormonu, IGF-1, insülin düzeylerini ve büyümeyi artırır.
- H3₀: Büyüme çağındaki sıçanlarda açil ghrelin artışı, anksiyete düzeyini etkilemez.
- H3₁: Büyüme çağındaki sıçanlarda açil ghrelin artışı, anksiyete düzeyini azaltır.
- H4₀: Büyüme çağındaki sıçanlara oral kaprilik asit uygulaması büyümeyi artırıyor ve anksiyete düzeyini düşürüyorsa, bunu doz bağımlı olarak yapmaz.
- H4₁: Büyüme çağındaki sıçanlara oral kaprilik asit uygulaması büyümeyi artırıyor ve anksiyete düzeyini düşürüyorsa, bunu doz bağımlı olarak yapar.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yağlar

Lipidler olarak da adlandırılan yağlar klasik tanımıyla eter, benzen ve kloroform gibi organik çözücülerde çözünen, suda çözünmeyen moleküllerdir (20). Yağlar hücre zarı ve bazı sinyal moleküllerinin yapısına katılan önemli yapı taşları olarak görev görürler. Yağlar ayrıca enerji üretimi ve depolanmasında da görev alırlar (21). Diğer makrobesinler olan karbonhidratlar ve proteinlere göre yağlar gram başına daha fazla enerji sağlarlar (22).

Vücut için üç temel lipid türü trigliseritler, fosfolipidler ve kolesterol esterleridir. Bunların ortak noktası, lipidlerin en önemli yapıtaşı olan yağ asitlerini içermeleridir (23). Yağ asitleri, bir ucunda metil grubu ve diğer ucunda karboksil grubu bulunan karbon zincirleridir. Moleküldeki karbon atomları arasında tek veya daha fazla sayıda çift bağ bulunabilir (24). Yapılarında çift bağ içerip içermemelerine göre doymuş ve doymamış yağ asitleri olarak iki sınıfa ayrılırlar. Doymamış yağ asitlerinde en az bir adet çift bağ bulunur. Bunlardan yalnızca bir çift bağ içerenler tekli doymamış yağ asitleri, birden fazla çift bağ içeren yağ asitleri ise çoklu doymamış yağ asitleri olarak adlandırılır. Çift bağ içermeyen yağ asitlerine ise doymuş yağ asitleri denir. Doymuş yağ asitleri çoğunlukla hayvansal kaynaklı besinlerde, doymamış yağ asitleri daha çok bitkisel kaynaklı besinlerde bulunur (25).

Yağ asitleri ayrıca hidrokarbon zincirin uzunluğuna göre kısa zincirli, orta zincirli ve uzun zincirli yağ asitleri olarak da sınıflandırılır. 6'dan daha az karbon atomu içerenler kısa zincirli, 6-12 karbonlu olanlar orta zincirli ve 12 karbondan fazla karbon atomu içerenler uzun zincirli yağ asidi olarak adlandırılırlar (26). Diyetle alınan yağlar büyük oranda uzun zincirli doymuş ve doymamış yağ asitleri ile daha az miktarda kısa ve orta zincirli doymuş yağ asitlerinden oluşan trigliseritlerden meydana gelir (23, 27).

2.2. Orta Zincirli Yağ Asitleri

Orta zincirli yağ asitleri, 6-12 karbon içeren doymuş yağ asitlerinden oluşan bir lipid sınıfıdır. Bu grupta kaproik asit (C6:0, heksanoik asit), kaprilik asit (C8:0, oktanoik asit), kaprik asit (C10:0, dekanıoik asit) ve laurik asit (C12:0, dodekanoik asit) yer alır. Orta zincirli yağ asitlerinin doğal kaynakları arasında hurma çekirdeği, Hindistan cevizi ve süt ürünleri bulunur (Tablo 2.1). Besinlerdeki orta zincirli trigliseritler, çeşitli zincir uzunluğundaki orta zincirli yağ asitlerinden oluşur (7). Orta zincirli trigliseritlerin 1950'lerden beri parenteral beslenme ürünleri ve bebek mamalarının içeriği olarak kullanımı mevcuttur. Ayrıca ilaç ve kozmetik sanayisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda günlük 1 g/kg düzeylerine kadar orta zincirli yağ asidi tüketiminin güvenli olduğu klinik çalışmalarla doğrulanmıştır (28).

Tablo 2.1. Orta zincirli yağ asitlerinin isimlendirilmesi ve doğal kaynakları (27)

Yağ Asidi	Sistemik Ad	Kısaltma	Temel Kaynak
Kaproik asit	Heksanoik asit	C6:0	Süt yağı
Kaprilik asit	Oktanoik asit	C8:0	Süt yağı, Hindistan cevizi yağı, hurma çekirdeği yağı
Kaprik asit	Dekanoik asit	C10:0	Süt yağı, Hindistan cevizi yağı, hurma çekirdeği yağı
Laurik asit	Dodekanoik asit	C12:0	Hindistan cevizi yağı, hurma çekirdeği yağı

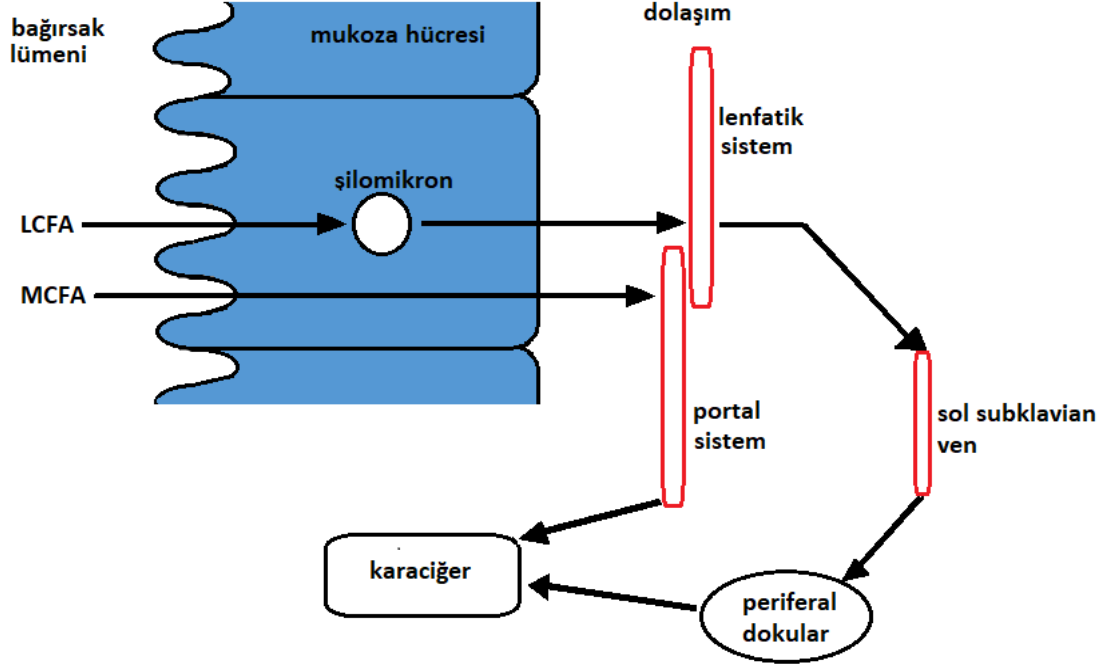
Orta zincirli yağ asitlerinin erime noktası uzun zincirli yağ asitlerine göre düşüktür. Dolayısıyla orta zincirli yağ asitleri oda sıcaklığında sıvı halde bulunur. Daha küçük moleküler boyutları sayesinde orta zincirli yağ asitleri suda çözünebilir. Orta zincirli yağ asitlerinin zayıf elektrolitler olması ve nötr pH'da yüksek oranda iyonize halde bulunması biyolojik sıvılardaki çözünürlüklerini daha da artırır. Sudaki çözünürlüğünün daha fazla olması ve daha küçük moleküler boyutları, orta zincirli yağ

asitlerinin vücuttaki sindirim, emilim ve metabolizmasının da uzun zincirli yağ asitlerinden farklı olmasına yol açar (8).

2.2.1 Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Sindirim, Emilim ve Metabolizması

Lingual ve gastrik lipazlar kısa ve orta zincirli trigliseritleri, uzun zincirli yağ asitleri göre daha verimli bir şekilde parçalar ve açığa çıkan yağ asitleri gastrik mukozanın tarafından emilir (26, 29, 30). Uzun zincirli trigliseritler ve mideden sindirilmeden gelen orta zincirli trigliseritler de duodenumda pankreatik lipaz etkisiyle parçalanır (31). Pankreatik lipaz eksikliğinde uzun zincirli yağ asitleri emilemezken, orta zincirli yağ asitleri emilebilir. Ayrıca orta zincirli yağ asitleri, suda çözünemedikleri için kolesistokinin ve safra tuzu salgısını uzun zincirli yağ asitlerine göre daha az uyarır. Dolayısıyla safra tuzu eksikliğinde de uzun zincirli yağ asitlerinin aksine orta zincirli yağ asitlerinin emilimi devam eder (7).

Orta zincirli trigliseritler daha küçük moleküler ağırlığa sahip olmaları nedeniyle, uzun zincirli trigliseritlere göre daha iyi ve hızlı bir şekilde hidrolize uğrar ve bağırsak lümeninden daha çabuk emilirler (9). Orta zincirli yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitlerinden farklı olarak portal dolaşım ile karaciğere taşınır ve karnitin taşıma sisteminden bağımsız olarak mitokondriye girer ve okside olurlar. Uzun zincirli yağ asitleri ise enterositlerde trigliseritlere esterlenip şilomikronlara eklendikten sonra lenfatik dolaşıma girerler (Şekil 2.1). Orta zincirli yağ asitleri portal dolaşım ile taşındıkları ve periferel dokulara bu aşamada uğramadıkları için, karaciğere uzun zincirli yağ asitlerine göre daha hızlı ve daha fazla miktarda ulaşırlar (8).



Şekil 2.1. Orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin bağırsaktan karaciğere taşınması (9)

LCFA: Uzun zincirli yağ asitleri; MCFA: Orta zincirli yağ asitleri

Karaciğerde lipidler çeşitli katabolik yolları izleyebilir, fakat genelde lipidlerin çoğu mitokondriyal beta oksidasyon ile yıkılır. Orta zincirli yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitlerine aksine mitokondriye girerken karnitin taşıma sistemine ihtiyaç duymazlar. Beta oksidasyonun ürünü olan Asetil-Koa'lar sitrik asit döngüsü ve ketogenez gibi birçok reaksiyonda substrat olarak yer alırlar (9, 32). Orta zincirli yağ asitleri uzun zincirli yağ asitlerine kıyasla karaciğerde daha fazla oksidasyona uğrar dolayısıyla da daha ketojeniktir (7). Ketogenez sonucu üretilen keton cisimcikleri birçok organ ve doku için alternatif bir enerji kaynağıdır. Beynin temel enerji kaynağı her ne kadar glukoz olsa da ikincil enerji kaynağı karaciğer kaynaklı keton cisimcikleridir. Bununla birlikte, orta zincirli yağ asitlerinin kimyasal özellikleri (sudaki çözünürlüğü, dolaşımda serbest formunun varlığı), uzun zincirli yağ asitlerinin aksine kan-beyin bariyerini geçebilmelerine olanak sağlar. Bu sayede beyinde de oksidasyona uğrayarak alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılabilirler (33, 34). Dolayısıyla orta zincirli yağ asitleri beyin hücreleri için hem doğrudan hem de keton cisimcikleri üretimine neden olarak enerji kaynağı olarak kullanılabilirler.

Orta zincirli yağ asitleri karaciğerden sonra ekstrahepatik dokulara geçip buralarda kısmen tutulurlar. Büyük çoğunluğu karaciğerde tutulduğu için yalnızca küçük bir kısmı genel dolaşım ile diğer dokulara geçer (8). Sindirilen orta zincirli yağ asitleri esas olarak karaciğerde okside edilmekle beraber, yağ dokusundaki trigliseritlere de dahil edilirler (7). Yapılan çalışmalarda orta zincirli trigliseritlerle beslenmenin uzun zincirli trigliseritlere göre oksijen tüketimini daha fazla arttırdığı ve yine uzun zincirli yağ asitlerine göre termojenik etkisinin daha fazla olduğu da gösterilmiştir (35-37).

2.2.2. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Enerji Metabolizması Üzerine Etkisi

Dünyadaki değişim ve kültürel globalleşme insanların diyet alışkanlıklarını da etkilemektedir. Batı tarzı diyetin yaygınlaşmasıyla obezite ve onunla ilişkili olarak hiperlipidemi, tip 2 diyabet, hipertansiyon gibi hastalıklar önemli bir halk sağlığı sorunu haline almıştır. Bunların nihai sonuçları olan kalp yetmezliği ve kardiyovasküler hastalıklar giderek artmaktadır. Klasik batı diyetinin lipid içeriği, büyük oranda 12 karbon atomundan daha uzun zincire sahip yağ asitlerinden oluşur. Orta zincirli yağ asitlerinin ise doğal kaynakları daha kısıtlı olduğu için diyetteki oranı görece azdır. Daha hızlı bir enerji kaynağı olması ve dokularda daha az depolanması gibi sebeplerle uzun zincirli yağ asitlerine göre orta zincirli yağ asitleri obeziteyi önlemek için iyi bir seçenek olarak gözükmektedir (38, 39). Ayrıca termojenik etkisinin uzun zincirli yağ asitlerinden fazla olması ve gram başına verdiği kalori miktarının da görece az olması bu hipotezi destekler niteliktedir (7, 9, 35-37).

Sağlıklı yetişkin denekler ile yapılan on üç insan çalışmasının incelendiği bir meta-analizde, uzun zincirli trigliserit yerine orta zincirli trigliserit tüketimi sonucunda vücut ağırlığı ortalamasının daha az olduğu saptanmıştır. Bunun yanında vücut kompozisyonu değerlendirilerek bel çevresi, kalça çevresi, toplam vücut yağı, subkutan ve viseral yağ ölçümleri karşılaştırıldığında orta zincirli trigliserit tüketen gruplarda anlamlı düşüş görülmüştür (40). Hayvan çalışmalarında da orta zincirli

trigliserit verilen grupta uzun zincirli trigliserit grubuna göre enerji harcanmasının daha yüksek ve ağırlık artışının daha az olduğu saptanmıştır (41, 42).

Yapılan çalışmalarda orta zincirli trigliseritlerin ve yağ asitlerinin antidiyabetik etkilerinin olduğu da ortaya konmuştur. Sıçanlarda orta zincirli yağ asitlerinden zengin beslenme, uzun zincirli yağ asitleriyle beslenen grubun aksine serum insülin ve glukoz konsantrasyonlarını değiştirmemiş, insülin duyarlılığını bozmamıştır (43). Diyabet hastalarında da orta zincirli trigliseritlerin insülin aracılı glukoz metabolizmasını iyileştirdiği ve insülin direncini azalttığı gösterilmiştir (44, 45). 2 ay boyunca orta zincirli trigliseritlerle beslenen sıçanlarda, uzun zincirli trigliserit grubuna kıyasla insülin duyarlılığı ve glukoz toleransı artmıştır (46).

Orta zincirli trigliserit içeren diyetle beslenmenin amino asitlerin daha fazla emilmesine yol açtığı, özellikle infantlarda kalsiyum ve magnezyum emilimini de arttırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (47, 48).

2.2.3. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Lipoprotein Metabolizması Üzerine Etkisi

Dislipidemi, trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyinin artması, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol düzeyinin azalması durumudur. Kardiyovasküler hastalıkların risk değerlendirmesinde lipid profili önemli bir göstergedir (49). Gün geçtikçe dünyada artan bir hastalık grubu olan kardiyovasküler hastalıklar için çeşitli öneriler içeren kılavuzlar yayımlanmaktadır. Amerikan Kalp Derneği (AHA)'nin önerilerinden biri de lipid profilini bozduğu için diyetle doymuş yağ, trans yağ ve kolesterolün sınırlandırılmasıdır (50). Bununla birlikte, son birkaç yılda yapılan çalışmalarda doymuş yağ asidi alımının sınırlandırması ile ilgili kılavuzlardaki önerilerin aksini gösteren bulgular elde edilmiştir (51). Doymuş yağ asitlerinden zengin beslenmek HDL ve LDL kolesterol düzeylerini arttırıp trigliserit düzeyini azaltır. HDL kolesterol düzeyinin kardiyovasküler hastalık riski ile ters orantılı olduğu öne sürüldüğünden, doymuş yağ asidi tüketimini azaltmanın kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olup olmadığı net değildir (52). Bu belirsizliğe ilaveten, son çalışmalar HDL kolesterolün

kardiyovasküler riski azaltıcı rolü hakkında da şüpheler ortaya çıkarmıştır. Aşırı yüksek veya düşük HDL kolesterol düzeylerinin artmış mortaliteyle ilişkili olduğu saptanmıştır (53, 54).

Yapılan bir meta-analiz çalışmasında orta zincirli yağ asitleri ile uzun zincirli yağ asitlerinin tüketimi karşılaştırılmış, trigliserit, LDL kolesterol ve total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Plazma HDL kolesterol konsantrasyonları ise orta zincirli yağ asidi tüketen gruplarda 0,11 mmol/L daha yüksek bulunmuştur (52). Buna karşın başka bir meta-analizin sonucu, orta veya uzun zincirli trigliserit tüketiminin kan lipid profiline olan etkileri arasında anlamlı bir fark olmadığı yönündedir (40). Bu bilgiler doymuş yağ asitlerinin, zincir uzunluğuna göre kan lipoproteinlerini farklı derecelerde etkiliyor olabileceğini düşündürmektedir.

2.2.4. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Beyin İşlevlerine Olan Etkileri

Beynin esas enerji kaynağı glukozdur fakat açlık veya karbonhidrat kısıtlaması gibi glukoz alımının yetersiz olduğu durumlarda diğer substratlar da yakıt olarak kullanılabilir. Karaciğerde yağ asitlerinden üretilen keton cisimcikleri bu durumlarda temel enerji kaynağı haline gelir. Ketonemi hali açlık dışında ketojenik diyetle beslenmeyle, keton esterleri ve tuzlarının ekzojen olarak takviyesiyle veya orta zincirli yağ asitlerinin alımıyla oluşabilir (55).

Keton cisimciklerinin beyinde koruyucu etkiye sahip olduğu bilinmektedir (55). Bu kanıtlar son yıllarda ortaya kinsa da, ketojenik diyet Hipokrat döneminden beri dirençli epilepside kullanılan ve nöbet sıklığını azalttığı bilinen bir tedavi seçeneğidir (56). İlaça dirençli epilepsi ve Glukoz Taşıyıcısı 1 (GLUT-1) eksikliği sendromunda başarıyla uygulanmasının yanında Alzheimer, otizm, beyin tümörleri, migren, hipoksik iskemik ensefalopati, Parkinson, amyotrofik lateral skleroz ve travmatik beyin hasarı gibi klinik durumlarda da kullanımı fayda gösterebilmektedir (57). Keton cisimciklerinin üretimine yol açan ketojenik diyet yüksek yağ, düşük karbonhidrat, yeterli protein içeren ve uzun zincirli trigliseritlerden zengin olan bir diyettir. Klasik versiyonundan başka çeşitli modifiye ketojenik diyetler de geliştirilmiştir. Bunlardan

biri de orta zincirli trigliseritlerden zengin ketojenik diyetdir (58). 1971’de geliştirilen orta zincirli trigliseritlerden zengin ketojenik diyetin temel çıkış noktası, klasik ketojenik diyetin ciddi bir karbonhidrat kısıtlaması gerektirmesi nedeniyle sürdürülmesi zor bir diyet olmasıdır (59). Bu modifiye versiyon epileptik nöbetleri başarıyla kontrol etmesinin yanı sıra, büyüme geriliğine, böbrek taşı oluşumuna, hipoglisemiye, ketoasidoza ve kabızlığa daha az neden olmaktadır (60).

Orta zincirli yağ asitleri kan-beyin bariyerini büyük oranda geçebilirler ve oluşumuna yol açtıkları keton cisimciklerinin yanı sıra kendileri de beyin hücreleri için alternatif enerji kaynağı olarak kullanılırlar. Yapılan bazı çalışmalarda orta zincirli yağ asitlerinin, ketojenik özelliklerinden bağımsız olarak da epileptik nöbet kontrolünde etkili oldukları görülmüştür. Bu etkisinin altında yatan mekanizmanın α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit (AMPA) reseptör inhisyonu yapması ve mitokondriyal biyogenezi arttırarak beyindeki Adenozin Trifosfat (ATP) sentez kapasitesini arttırması olduğu düşünülmektedir (33).

2.2.5. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Bilişsel İşlevlere ve Davranışa Etkisi

Ketojenik diyetin ve orta zincirli yağ asitlerinin epilepsi çalışmaları ile keşfedilen beyin üzerindeki etkileri, diğer nörolojik hastalıklarda da kullanılmasının yolunu açmıştır (61). Orta zincirli trigliseritlerin denendiği hastalıklardan biri de Alzheimer’dır. Bir meta-analizde Alzheimer hastalığına sahip deneklere orta zincirli trigliseritlerin oral olarak verildiği birkaç çalışma incelenmiş ve bilişsel işlevler üzerine olumlu etkiler olduğu görülmüştür (62). Ayrıca sağlıklı yaşlı bireylerde yapılan bir çalışmada da orta zincirli yağ asidi tüketiminin bilişsel işlevleri artırdığı bulunmuştur (63). Başka bir çalışmada, demansı olmayan yaşlı bir popülasyona ana bileşeni kaprilik asit olan orta zincirli yağ asitlerinden zengin diyet verildiğinde yine bilişsel işlevlerde iyileşme olduğu kaydedilmiştir (64).

Mental hastalıklar, özellikle de depresyon ile anksiyete bozuklukları, artan insidansı ile dünya çapında önemli bir hastalık yükü haline gelmiş durumdadır (65). Psikiyatrideki son yaklaşımlar, bu tarz ruhsal bozuklukların bütünsel bir şekilde tedavi

edilmesi gerektiği yönündedir. Yaşam tarzı değişikliklerinin ve bunun bir parçası olan beslenmenin tedavide önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir (66, 67). Orta zincirli yağ asitlerinin ve keton cisimlerinin beyindeki etkileri, bazı mental hastalıklarda da faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim orta zincirli trigliseritlerden zengin beslenmenin sıçanlarda anksiyete benzeri davranışları azalttığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (18). Yine bir çalışmada keton cisimcikleri ile orta zincirli trigliserit-keton kombinasyonu verilen sıçanlara yükseltilmiş artı labirent testi uygulanmış ve anksiyete seviyelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (68). Farelerde yapılan başka bir çalışmada ise günlük orta zincirli yağ asidi takviyesinin, zorunlu yüzme testinde stresin tetiklediği depresif davranışlarda azalmaya yol açtığı görülmüştür (16).

2.3. Kaprilik Asit

Kaprilik asit veya diğer adıyla oktanoik asit, orta zincirli yağ asitleri ailesinin 8 karbon içeren üyesidir. Moleküler formülü $C_8H_{16}O_2$ olup, terminal metil grubunun hidrojenlerinden biri karboksil grubu ile yer değiştirmiş düz zincirli doymuş yağ asididir (Şekil 2.2). Moleküler ağırlığı 144,21 g/mol; dansitesi 0,91 g/mL'dir. Sudaki çözünürlüğü 20°C'de 0,068 g/100 g'dır. Renksiz ve kokusuzdur. Erime noktası 16,3°C olan kaprilik asit, oda sıcaklığında sıvı halde bulunur (69, 70). Hayvanlarda yapılan toksikoloji çalışmalarında sıçanlar için oral LD₅₀ değerinin 10.080 mg/kg olduğu bulunmuştur (71).



Şekil 2.2. Kaprilik asidin kimyasal yapısının iki boyutlu gösterimi

Kaprilik asidin bitkisel kaynağı Hindistan cevizi (yağ asitlerinin %6-10'u) ve hurma çekirdeği yağı (yağ asitlerinin %2-5'i), hayvansal kaynağı ise çeşitli memeli hayvanların sütüdür. Hayvan türleri arasında sütlerin kaprilik asit içeriği farklılık gösterir. İnsan sütündeki yağ asitlerinin %0,5'i kaprilik asit iken bu oran inekte %1-2, keçide %3, sığıçanda %5-6 ve tavşanda %15-18 kadardır (31). Amerika Birleşik Devletleri'nde kişi başı günlük kaprilik asit tüketiminin 2 yaş üstünde ortalama 0,28 g olduğu belirlenmiştir (72).

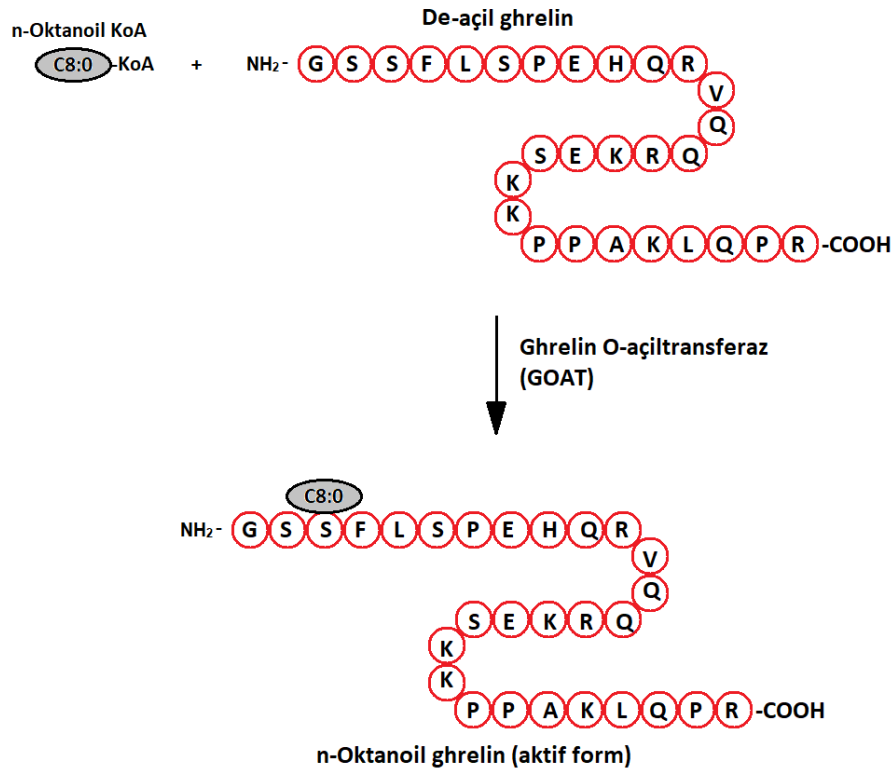
Kısa zaman önce kaprilik asidin, mideden salgılanan ve açlık hormonu olarak bilinen ghrelinin aktivasyonunda yer aldığı gösterilmiştir (1). Bu tepkimeyi katalizleyen enzim olan Ghrelin O-açıltransferaz (GOAT), substrat olarak kaprilik asidi kullanmaktadır fakat bu tepkimeye kullanılan kaprilik asidin kaynağı henüz ortaya konmamıştır. Anne sütü veya diğer besinlerin içeriğindeki kaprilik asit potansiyel bir aday olarak görülmektedir (31). Literatürde bunu test etmek amacıyla yapılmış birkaç çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda çeşitli hayvan türlerine ve insana oral olarak verilen kaprilik asit ve trigliseridin açıl ghrelin düzeylerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir (5, 73, 74, 13). Sığıçanlarda yapılan iki çalışmada ise kaprilik asit uygulaması açıl ghrelin düzeyini değıştirmezken açillenmemiş form olan de-açıl ghrelinde azalmaya yol açmıştır (75, 14).

2.4. Ghrelin

Ghrelin enerji dengesi, iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynayan peptid yapıda bir hormondur (76). İlk olarak 1999'da Kojima ve arkadaşları tarafından sığıçan midesinden izole edilmiştir. Büyüme hormonu sekretagogları adı verilen küçük sentetik moleküllerin, hipofiz bezinden büyüme hormonunun salgısını uyardığı ve bunu bir G protein aracılı reseptör olan büyüme hormonu sekretagog reseptörüne (GHS-R) bağlanarak yaptıkları bilinmekteydi. Kojima ve arkadaşları, bu reseptörlerin endojen bir ligandı olduğunu keşfettiler. Büyüme hormonu salgısını arttırdığı için büyüme anlamına gelen "ghre" kökünden türeterek, bu liganda "ghrelin" adını verdiler (1). GHS-R'nin bilinen iki tane izoformu vardır. Bunlar; GHS reseptör tip 1a

(GHS-R 1a) ve GHS reseptör tip 1b (GHS-R 1b)'dir. GHS-R 1a, ghrelinin çok çeşitli biyolojik etkilerine aracılık etmede rol oynar (77).

Ghreltin, 28 aminoasit içeren peptid yapıda bir hormondur. Ghreltin vücutta açıl ghreltin ve de-açıl ghreltin olmak üzere 2 formda bulunur. Ghreltinin N-terminal ucundaki 3. aminoasit olan serine bir oktanoil grubunun bağlanması, hormonun aktivasyonu için gereklidir. Oktanoil grubu içeren ve biyoaktif olan formu açıl ghreltin, oktanoil grubu içermeyen formu ise de-açıl ghreltin olarak adlandırılır (78). Ghreltinin aktifleşmesine yol açan enzim olan GOAT, bu açıl modifikasyonunu katalizler (Şekil 2.3). GOAT mRNA'sı midede, daha az düzeylerde gastrointestinal sistemin devamında ve başka birçok dokuda saptanmıştır (79, 80). Bir transmembran enzimi olan GOAT, insan dışında diğer memelilerde, kuşlarda ve balıklarda da bulunur. Ghreltinin açıl modifikasyonu tepkimesinde GOAT, başka yağ asitlerini de kullanabilir. Ancak esas kaynak kaprilik asittir ve diğer yağ asitleriyle açılmış formlar kanda düşük düzeyde bulunur (77).



Şekil 2.3. De-açıl ghreltinin GOAT enzimi tarafından aktif formuna dönüşmesi (81)

Ghrelın hormonunun esas kaynağı mide fundusundaki nöroendokrin hücrelerdir. İnsanda P/D1 hücreleri, rodentlerde ise X/A-benzeri hücreler ghrelın üretiminden sorumludur (82). Mide dışında gastrointestinal kanalın devamında, beyin bazı bölgelerinde, kalpte, akciğerlerde, lenfatik dokularda, böbreklerde, adrenal bezlerde, tiroid bezinde, pankreasta, gonadlarda, plasentada, bazı neoplastik dokularda ve kanser hücre hatlarında da üretilebildiği bilinmektedir (83). Ghrelın hormonunun üretiminden esas olarak midenin sorumlu olduğu, gastrektomi yapılan insan ve sıçanlarda dolaşımdaki ghrelın seviyelerinin büyük oranda azalmasından anlaşılmaktadır (84, 85).

İnsan ghrelın hormonunun moleküler ağırlığı 3370 kilodalton, moleküler formülü $C_{149}H_{249}N_{47}O_{42}$ şeklindedir (83). Ghrelın geni insanda, 3p25-26 kromozomu üzerinde lokalize olmuştur. İnsan ghrelın mRNA'sı, 117 aminoasit uzunluğundaki preproghrelini kodlar. Preproghrelın, 23 aminoasitlik sinyal peptidi ve 94 aminoasitlik proghrelini içerir. Proghrelın ise 28 aminoasitlik ghrelın ve 66 aminoasitlik bir kuyruktan meydana gelir. Preproghrelinden bölünme ve post-translasyonel modifikasyonlar sonucu açıl ghrelın oluşur. Sıçan ve insan preproghrelınleri arasındaki amino asit benzerliği %82,9'dur. Ghrelınlerin aminoasit dizilimlerinin arasında ise yalnızca 2 pozisyonda farklılık vardır (1, 2). Diğer memelilerde de ghrelının aminoasit dizilimleri büyük oranda benzerlik gösterir. Özellikle N-terminallerindeki 10 aminoasit çoğu memelide aynıdır. Bu benzerlik sayesinde hormonun açıl modifikasyon ile aktifleşebilmesi de memeliler arasında ortak bir özelliktir (3).

Yapılan çalışmalarda ghrelın hormonunun kan-beyin bariyerini geçebildiği saptanmış olmasına rağmen merkezi sinir sistemindeki etkilerini sadece bu şekilde gerçekleştirmemektedir (86). Viseral duyuları beyne taşıyan vagus sinirinin de ghrelının etkilerine aracılık ettiğini gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur (87, 88). Bunların yanı sıra, beyinde sentezlendiği bölgelerde santral etki de gösterir. Hipotalamustaki ghrelın immünreaktif nöronlar paraventriküler, arkuat, ventromedial ve dorsomedial çekirdekler, perifornik bölge ve 3. ventrikülün endpedimal tabakasında bulunur. Hipotalamus dışında ise beyinde; stria terminalis,

amigdala, talamik paraventriküler çekirdek ve lateral habenulada tespit edilmiştir (89).

Plazma ve dokularda ghrelinin iki ana formu bulunur: açıl ghrelin ve de-açıl ghrelin. Açıl ghrelinin plazmadaki normal konsantrasyonu 10-20 fmol/L, açıl ghrelin ve de-açıl ghrelinin toplam konsantrasyonu ise 100-150 fmol/L'dir (3). Dolayısıyla dolaşımdaki ghrelinin %90'ı de-açıl ghrelin, %10'undan azı da açıl ghrelindir (90). Ghrelin düzeyleri insanlarda cinsiyetler arası farklılık göstermez. Yaş ile değişimi ise tartışmalıdır. Bu konuda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (91, 92). Farelerle yapılan bir çalışmada, mide ghrelin mRNA düzeyinin prepubertal döneme dek artış gösterdiği, sonrasında ise azaldığı saptanmıştır. Ghrelin düzeyindeki bu değişiklik, yaşla insan ve diğer memelilerdeki büyüme hormonu ve IGF-1 düzeylerinin değişimine benzerlik göstermektedir (93). İnsanlarda da yaşlı popülasyonda ghrelin düzeyi ve aktivitesinin yaşa bağlı düşüş gösterdiğine dair veriler vardır (94).

2.4.1. Ghrelinin Vücuttaki Etkileri

Ghrelinin Beslenme Davranışı ve Enerji Homeostazı Üzerindeki Etkileri

Ghrelin, memelilerde beslenme davranışı üzerinde düzenleyici görevi olan bir hormondur. Güçlü oreksijenik etkileriyle bilinir. Sıçanlara ghrelin uygulanmasının iştahta artışa yol açarak kilo alımını indüklediği saptanmıştır (95, 96). Yapılan insan çalışmalarında da yine açlık hissini tetiklediği ve besin alımını arttırdığı bulunmuştur (97). Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri obezite, insülin direnci ve kilo alımı gibi durumlarda düşüş gösterir (98, 99). Tersine, diyetle kilo vermenin ise ghrelin düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (100). Anoreksiya nervoza hastalarında, kaşeksi ve kansere bağlı kilo kaybı gibi patolojik durumlarda da ghrelin artışı, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (101, 102).

Ghrelin hormonunun plazma seviyesi açlık durumunda artarken, besin alımından sonra düşüş gösterir (96). Alınan gıdanın ghrelin baskılayıcı etkisi, kalorisine ve makro besin içeriğine bağlıdır. Buna göre proteinler en güçlü, lipidler ise en zayıf

ghrelin baskılayıcıdır (103). Farmakolojik kanıtlar, ghrelinin gıda alımı üzerindeki etkilerinin, merkezi sinir sistemindeki nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilişkili protein (AgRP) tarafından aracılık edildiğini göstermektedir (104).

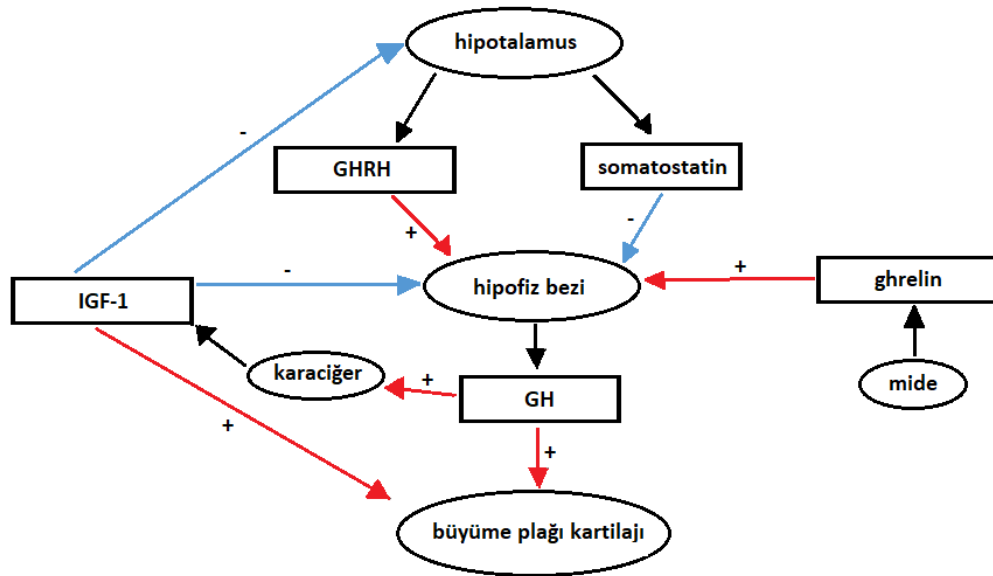
Ghrelinin kendine özgü salgılanma düzeni ve besin alımını güçlü bir şekilde uyarması onun ‐açlık hormonu‐ olarak anılmasına yol açmıştır. Fakat bu teoriyi desteklemeyen bulgular da mevcuttur (105). Literatürde bu alandaki birçok çalışmada, ölçülen hormonun açıl ghrelin mi yoksa de-açıl ghrelin mi olduğu belirtilmemektedir. Bazı çalışmalarda da yalnızca ikisinin toplamı olan total ghrelin düzeyi saptanmaktadır. Her iki form ghrelinin plazmada ayrı ayrı ölçüldüğü bir insan çalışmasında yemeklerden önce ghrelin düzeylerinin arttığı, ancak uzun süreli açlık durumunda açıl ghrelin düzeylerinin azaldığı, total ghrelinin ise değişmediği görülmüştür (106). Bu bulgular ghrelinin pulsatil salgılanmasındaki piklerin beslenmeyi tetiklemekten ziyade, besin beklentisiyle oluştuğunu destekleyen görüşle paralellik gösterir (107). Farelerde yapılan bir çalışmada 12, 24 ve 36 saatlik açlıklarda ölçülen GOAT geni seviyelerinin düştüğü, açıl ghrelin düzeyinin değişmediği, de-açıl ghrelinin ise artış gösterdiği saptanmıştır. Aynı çalışmada insan GOAT'ı ve ghrelin geni eksprese eden transgenik fareler üretilmiş, standart yem tükettiklerinde dolaşımda insan açıl ghrelini saptanmamıştır. Orta zincirli trigliserit takviyesi yapıldığında ise kanda insan açıl ghrelini düzeyinde artış görülmüştür (6). Başka bir çalışmada GOAT aktivitesi ve dolayısıyla ghrelin açılasyonunun diyetdeki lipidlerden etkilendiği ve orta zincirli yağ asitlerinden zengin beslenmenin dolaşımdaki açıl ghrelin düzeyini arttırdığı görülmüştür (5).

Beslenme davranışı üzerine olan etkilerine ek olarak, ghrelin güçlü bir şekilde adipogenezi indükler. Uzun süreli ghrelin uygulamasının, aşırı beslenmenin engellendiği durumlarda bile hayvanlarda kilo alımını ve yağlanmayı arttırdığı görülmüştür. Cüce sıçanlarla yapılan deneylerde, ghrelinin sebep olduğu vücut ağırlığı artışının lineer büyümeden ve yağsız vücut kütlesinden bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada sıçanlarda büyüme gözlenmezken, kilo artışı ve yağlanma meydana gelmiştir (96, 108).

Ghrelinin Büyüme Üzerindeki Etkisi

Ghrelinin oreksijenik etkisinin yanı sıra, birçok organ ve sistem üzerine düzenleyici etkileri bulunmaktadır. Bu etkilerden birisi büyüme üzerine olan etkisidir (76). Büyümek, doku kütlelerinde olan nicel birikimin getirdiği boyut artışı olarak tanımlanabilir (109). İnsanlarda büyüme, zigotun bölünmesiyle başlayan ve adölesan dönemin bitişiyile sona eren dinamik bir süreçtir. Büyüme hızı ve paterninde genetik, çevresel faktörler, beslenme ve hormonlar belirleyicidir (110).

Büyüme hormonu, büyümenin temel düzenleyicisidir. Büyüme hormonu salgısının endokrin kontrolü temel olarak 3 hormon tarafından sağlanır: büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH), somatostatin ve ghrelin (Şekil 2.4). Ayrıca IGF-1'in de doğrudan hipotalamusta ve somatotrop hücrelerde büyüme hormonu salgısı üzerine negatif geri besleme etkisi mevcuttur (111). GHRH, büyüme hormonunun temel uyarıcısıdır. Somatostatin ise büyüme hormonu salgısı üzerinde hipofizin GHRH'ye yanıtını modüle eden güçlü bir inhibitör hormondur (112). Bu nöropeptidler, hipotalamustaki nöronlar tarafından sentezlenir, medyan eminesteki akson terminallerinden hipofizer portal sisteme geçer. Portal sistem ile hipofizdeki somatotrop hücrelere taşınır. Medyan eminesteki somatostatinin birincil kaynağı periventriküler çekirdekdeki nöronlar iken, GHRH'nin birincil kaynağı arkuat çekirdekdeki nöronlardır. Büyüme hormonunun salgısı, bu iki nöropeptidin salgısının artış ve azalışlarıyla düzenlenir ve pulsatil bir ritme sahiptir (113).



Şekil 2.4. Büyüme üzerinde etkili bazı hormonların birbirleri ile etkileşimleri (114)

GHRH: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon ; GH: Büyüme hormonu; IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

Ghrelin büyüme hormonu salgılatıcı etkiye sahiptir. Bu etkisini büyüme hormonu salgılatıcı reseptör-1a (GHSR-1a)'ya bağlanarak gerçekleştirir (115). Ghrelinin keşfinden önce 1976'da Bowers ve arkadaşları, bazı opioid derivelerinin büyüme hormonu salgılatıcı etkisi olduğunu bulmuş ve bu maddelere Büyüme Hormonu Sekretagogları (GHS) adını vermişlerdir (116). 1996'da ise GHS reseptörü (GHS-R), esas olarak hipofiz ve hipotalamusta bulunan yedi adet transmembran segment içeren tipik bir G protein aracılı reseptör olarak tanımlanmıştır. Bu reseptör etkisini, hücre içi kalsiyum ve inozitol trifosfat (IP₃) düzeylerini artırıp, protein kinaz C aktivasyonu yaparak sağlar (117, 118). GHSR-1a reseptörünün, vücutta en fazla bulunduğu bölge hipofiz bezidir fakat başka dokularda da GHSR-1a mRNA'sı saptanmıştır (119).

GHS-R'nin endojen ligandı olan ghrelinin in vivo ve in vitro olarak GH salgılatıcı etkisinin oldukça potent olduğu gösterilmiştir. GH üzerinde GHRH ile sinerjistik bir etkiye sahiptir (120). Somatostatin ise diğer bazı gastrointestinal peptidleri inhibe ettiği gibi ghrelinin mideden salgısını da inhibe edici bir etkiye sahiptir (121). Ghrelinin

sıçanlara intravenöz ve intraserebroventriküler uygulanmasının da büyüme hormonunun salgısını arttırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (1, 122). GHS'nin büyüme hormonu salgılatıcı etkileri, GHRH veya somatostatinden ayrı bir yolak üzerinden gerçekleşir ve bu etki doz bağımlıdır (123).

Büyüme hormonu anabolik etkilerinin çoğunu IGF-1 aracılığıyla gösterir. Bu peptid vücutta birçok bölgede üretilmesine karşın temel sentez yeri karaciğerdir (112). Ghrelin infüzyonu yapılan insanlarda büyüme hormonu ve IGF-1'in plazma konsantrasyonları yükselmiştir. Yani ghrelin, IGF-1 düzeyini dolaylı yoldan artırmaktadır (124).

Çocukluk çağında büyüme değerlendirmesi için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yaşa ve cinsiyete göre belirlenmiş boy, ağırlık, beden kütle indeksi grafikleri kullanılır (125). Deney hayvanlarında ise büyüme ile ilgili literatürde standart yöntemlere rastlanmamakla beraber, bu konuda yapılan çalışmalarda hayvan ağırlığı ve kuyruk uzunluğu takibinin kullanıldığı görülmüştür (126, 127). Ayrıca burun ve anüs arası mesafenin ölçümü olan nazo-anal uzunluk da kemirgenlerde bu amaçla kullanılabilir. Bu parametre ile hesaplanan ve insandaki beden kütle indeksinin karşılığı olarak kullanılabilen 'Lee İndeksi' de büyümenin değerlendirmesinde yer almaktadır (128, 129). Bunun haricinde organ ağırlıkları yaş ile pozitif korelasyon gösterdiğinden büyümenin değerlendirilmesinde kullanılan başka bir parametre olarak ele alınmaktadır (130, 131).

Ghrelinin Glukoz Metabolizması Üzerindeki Etkileri

Kan glukozu esas olarak pankreas hormonları olan insülin ve glukagonun kontrolü altındadır. Ghrelinin de insülin salgısının düzenlenmesinde ve glukoz homeostazında rolü vardır (132). İnsanlara intravenöz olarak açıl ghrelin verildiğinde kan glukoz seviyelerinin yükseldiği ve insülin seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir (133). GOAT antagonisti verilen farelerde ise insülin salgısı artmıştır. Bu da insülin baskılanmasından açıl ghrelinin sorumlu olduğu fikrini desteklemektedir (134). GOAT

geni susturulmuş farelerde kalori kısıtlaması ise ölümcül hipoglisemiye neden olmaktadır (135).

Ghrelinin esasında insülin salgısı üzerine düşük konsantrasyonlarda inhibe edici ve yüksek konsantrasyonlarda uyarıcı bir etkiye sahip olabilir. Bu bilgi, ghrelinin ve insülin arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren çalışmaları da destekler niteliktedir (136-138). Ghrelinin ayrıca insülin duyarlılığını da düzenler. İnsanlarda, dolaşımdaki düşük ghrelinin düzeyi insülin direnciyle ilişkili bulunmuştur (139). Ghrelinin sadece insülin üzerinden değil, glukagon ile büyüme hormonu salgısını etkileyerek ve besin alımını tetikleyerek de glukoz homeostazını indirekt olarak düzenler (140).

Ghrelinin hepatik glukoneogenezi ve dolayısıyla karaciğerden kana glukoz geçişini modüle ettiği de bilinmektedir. Bu düzenlemede açıl ve de-açıl ghrelinin karaciğer üzerinde zıt etkilere sahiptir. Açıl ghrelinin glukoneogenezi uyarır, de-açıl ghrelinin inhibe eder (141).

Ghrelinin Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri

Ghrelinin, gastrik asit salgısını doza bağımlı olarak arttırır. Bu etkisi gastrin hormonu ile sinerjistikdir. Vagus sinirinin aktivasyonu ve histamin salgısı ile gerçekleşen gastrik asit salgısına neden olan ghrelinin formu da açıl ghrelindir (142, 143).

Ghrelinin, yapısal ve işlevsel olarak motiline benzer olduğu ve ortak bir ailede yer aldıkları öne sürülür. Aminoasit dizilimi %36, reseptörleri ise %50 oranında benzerdir. Nitekim ghrelinin de gastrointestinal motiliteyi uyarma ve gastrik boşalmayı hızlandırma gibi motilinin bazı etkilerini göstermektedir (144).

Ghrelinin Diğer Endokrin Organlar Üzerine Etkileri

Hipofiz hormonlarından büyüme hormonu dışında ghrelinin, laktotrop ve kortikotrop hücreler üzerinde de uyarıcı etkileri vardır. Sağlıklı gönüllülere ghrelinin

uygulanması prolaktin, adrenokortikotropin hormon (ACTH), kortizol ve aldosteron düzeylerinde artışa neden olmuştur (145). Kortikotrop ve laktotrop hücreler üzerindeki bu uyarıcı etki cinsiyetten bağımsızdır. Ghrelinin prolaktin salgısını arttırması yaştan da etkilenmez. Fakat ACTH'ye olan etkide yaşa bağlı değişimler gözlenir. Pubertede bu ilişki artış gösterir, yetişkinlikte azalır ve yaşlılıkta tekrar artar (146). Ghrelin uygulaması ile prolaktin salgısı hafif ve doza bağımlı olarak artar fakat yine de prolaktin salgılatıcı etkisi diğer sentetik büyüme hormonu sekretagolarından daha fazladır (147, 145). Ghrelinin hipotalamus-hipofiz-adrenal bez ekseninin üzerindeki etkisi de sentetik büyüme hormonu sekretagolarının ortaya çıkardığından daha güçlüdür fakat akut ortaya çıkan bu etki uzun süreli uygulamada kaybolur. Ghrelin ACTH salgılanmasını santral sinir sisteminde kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), antidiüretik hormon (ADH), nöropeptid Y (NPY) ve γ -aminobütirik asit (GABA)'i içeren mekanizmalar yoluyla uyarır (115).

Ghrelin erkekte ve dişi üreme sisteminde hem sistemik hem de lokal yollar üzerinden etki gösterir. Gonadal aks üzerindeki inhibisyon birçok çalışmada ortaya konmuştur (148). Sağlıklı yetişkin kişilere açıl ghrelin verildiğinde luteinizan hormon (LH) düzeyleri düşmüş ve pulsatilesi bozulmuş, fakat folikül uyarıcı hormon (FSH) düzeyinde değişiklik meydana gelmemiştir (149). FSH üzerinde de inhibe edici etki bazı çalışmalarda gösterilmiş, fakat FSH düzeyini LH'a göre daha az düşürmüştür (150). Bir hayvan çalışmasında gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve indirekt olarak onun uyardığı gonadotropinler üzerinde inhibe edici bir etki, GnRH'nin LH duyarlılığında ise azalma saptanmıştır. Aynı çalışmada ghrelinin bazal LH ve FSH üzerindeki direkt etkisinin ise uyarıcı yönde olduğu bulunmuştur (151).

Ghrelinin Davranış Üzerine Olan Etkileri

Besin alımını düzenleyen mekanizmaların kompleks oluşu ve hayatta kalma iç güdüsünün evrimsel önemi düşünüldüğünde ghrelinin davranış ve öğrenme üzerindeki etkileri kaçınılmazdır. Ghrelinin bellek üzerinde etkisi olduğunu gösteren hayvan çalışmaları mevcuttur. Sıçanlara santral ghrelin uygulamasının hafızayı olumlu

yönde etkilediği rapor edilmiştir. Bu sonucu destekleyen başka çalışmalar da bulunmaktadır (152, 153).

Ghrelinin ruhsal hastalıkların semptomlarını modelleyen hayvan davranış deneylerindeki etkisinin incelendiği çalışmalarda birbirine zıt sonuçlarla karşılaşılmaktadır. Santral veya periferik olarak uygulanan ghrelinin kemirgenlerde anksiyete benzeri ve depresyon benzeri davranışlara yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur (154, 152, 155). Buna karşılık bazı çalışmalarda ise, ghrelinin anksiyolitik ve antidepresan etkilerinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (156, 157). Ghrelinin uygulamasının açlık durumuyla da ilgisi olabilir. Tok haldeki farelerin amigdalasına ghrelinin enjeksiyonu davranışları üzerinde herhangi bir değişikliğe yol açmazken, besin yokluğunda anksiyolitik etki göstermiştir (158).

Çocukluk dönemindeki mental hastalıklar epidemiyolojik olarak incelendiğinde anksiyete bozukluklarının en fazla prevalansa sahip hastalık grubu olduğu görülmektedir. Yetişkin dönemdeki birçok ruhsal bozukluğun da çocukluk ve adolesan dönemde başladığı bilinmektedir (159). Bu dönemdeki deneklerde ghrelinin düzeyi ile anksiyete düzeyi arasında pozitif korelasyon olduğu görülmekle beraber bu konuda yapılmış çalışma sayısı sınırlıdır (160).

Literatürdeki bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasının amacı, büyüme dönemindeki sıçanlara uzun dönem kaprilik asit uygulamasının açıl ghrelinin, büyüme hormonu, IGF-1 ve insülin hormonu düzeylerine olan etkisini, ayrıca büyüme parametreleri ve iştah üzerinde değişiklik oluşturup oluşturmadığını gözlemlemektir. Büyüme çağında sık karşımıza çıkan anksiyete üzerine kaprilik asit uygulamasının etkisinin de davranış deneyleri ile araştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Çalışmaya başlanmadan önce kullanılan deney hayvanları için, 24.06.2020 tarihli 2020/05-02 karar numarası ile Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Ek 1).

Çalışmada, Kobay A.Ş.'den temin edilen 3 haftalık 30 adet Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nde ayrı kafeslere yerleştirilen sıçanlar, davranış deneylerine dek burada tutulmuştur. Hayvanlar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngüsünde, sabit sıcaklık ve nem oranı olan odalarda tutulmuştur. Daha sonra Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı'na getirilen hayvanlar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngüsünde ve aynı sabit sıcaklık ve nemdeki odaya konulmuştur.

Standart kafeslerde tutulan sıçanlar, standart sıçan yemi ve çeşme suyu tüketmiştir. Yem ve suya ulaşımında kısıtlama uygulanmamıştır. Kullanılan standart yemin protein oranı büyüme çağındaki sıçanlara uygun olarak arttırılmış ve diğer besin öğeleri dengelenmiştir (Tablo 3.1). Yemin enerji içeriği 2600 kkal/kg dir.

Tablo 3.1. Deney hayvanlarına verilen standart yemin içeriği

Besin Maddeleri	Yüzde
Kuru madde	88
Su	12
Ham protein	23
Ham selüloz	7
Ham kül	8
Ham yağ (Soya yağı)	3
HCl Çözünmeyen Kül	2
NaCl	1
Ca	1
P	1
Mn	10
Zn	4

3.2. Deney Protokolü

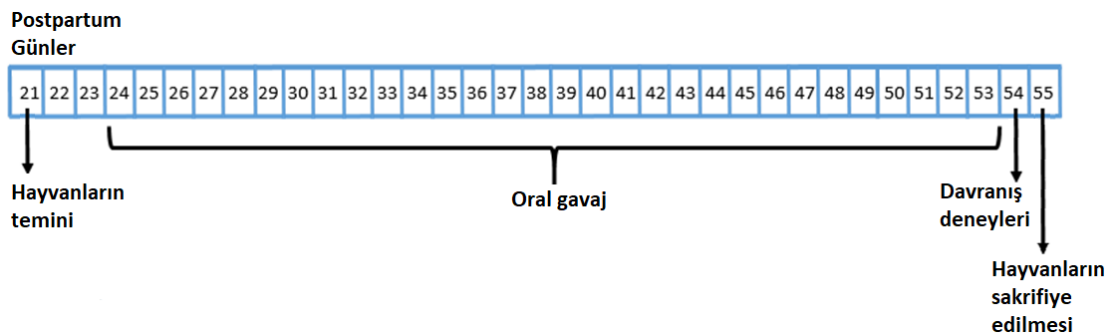
Postpartum 21. günlerinde temin edilen sıçanlar Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nde kafeslere yerleştirilmiştir. Sıçanlar ilk 3 gün boyunca ortama alışmaları için bekletildikleri esnada sayıları, ağırlıkları ve kuyruk uzunlukları gruplar arasında dengeli olacak şekilde 3 deney grubuna ayrılmıştır. Bu gruplar,

- %0,9'luk sodyum klorür uygulanan kontrol grubu (K grubu, n=10)
- Düşük düzey kaprilik asit uygulanan grup (DKA grubu, n=10)
- Orta düzey kaprilik asit uygulanan grup (OKA grubu, n=10)

olarak belirlenmiştir.

3 günlük uyum sürecinin ardından sıçanlara 24. günde oral gavaj ile kaprilik asit uygulamasına başlanmış ve uygulamaya 30 gün boyunca devam edilmiştir. Sıçanlar postpartum 53. günde saat 17:00-18:00 arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı'na getirilmiştir. Postpartum 54. günlerinde davranış deneylerine tabii tutulan hayvanların o günün akşamında kafeslerinden yemleri alınmış ve ertesi gün ise sakrificasyonları gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).

Şekil 3.1. Deney protokolünün günlük planı



İnsanlarda süttten kesilme yaşı ortalama 6 ay iken sıçanlarda 21 gündür. Sıçanlar bebeklik döneminde hızla gelişir ve kısa bir çocukluk dönemine sahiptir (161). Çalışmamızda bu yaş aralığında hayvanların kullanılma sebebi, sıçanlarda büyüme hızının 1-5 hafta arasında yüksek olmasıdır. 8-16 hafta arasında ise büyüme hızındaki ivme azalır (162). Postpartum 21. günde ortalama 77 g olan Wistar erkek sıçanlar, 56. güne geldiklerinde 274-375 g ağırlığa ulaşırlar (163).

3.2.1. Oral Kaprilik Asit Uygulaması

Postpartum 24. günden itibaren başlanan oral gavaj işlemine 30 gün boyunca devam edilmiştir. Oral gavaj işlemleri, sabah 10:00-11:00 saatleri arasında yapılmıştır. İlk oral gavaj işleminin yapılacağı günün öncesindeki akşam, yani postpartum 23. günde, saat 17:00-18:00 arasında sıçanların kafeslerinden yemleri alınmış ve bir gece aç bırakılmıştır. Ertesi sabah 9:00-10:00 saatleri arasında kuyruktan iğne ile kanatarak kan şekeri ölçüm cihazıyla (eBsensor) kan şekeri ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Sakrifikasyon yapılan günde de yine aç bırakılan sıçanların kan şekeri aynı metotla ölçülmüştür.

Sıçanlara oral gavaj ile verilen kaprilik asit (Sigma-Aldrich C2875), %0,9'luk sodyum klorür çözeltisi içinde çözdürülerek uygulanmıştır. Sıvılar falkon tüplerde hazırlanmış, kaprilik asidin daha kolay çözünmesi için vorteks cihazı (Nüve NM 110) ile karıştırılmıştır.

- Kontrol grubuna %0,9'luk sodyum klorür çözeltisi,
- Düşük düzey kaprilik asit grubuna 3 mg/kg kaprilik asit %0,9'luk sodyum klorür içinde çözdürülerek (3,3 µl/kg),
- Orta düzey kaprilik asit grubuna ise 6 mg/kg kaprilik asit %0,9'luk sodyum klorür içinde çözdürülerek (6,6 µl/kg) verilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Oral gavaj uygulaması

Gavaj uygulaması için kullanılan tüpler hayvanın boyutuna göre ayarlanmıştır. Gavaj uygulamasına 18 gauge'lik kavisli metal gavaj tüpü ile başlanmış sonraki haftalarda hayvanlar büyüyünce 16 gauge'lik kavisli metal gavaj tüpüne geçilmiştir (164). Kaprilik asidin uygulanma şekli; gıdalar, anne sütü veya takviye olarak alındığında ortaya çıkacak etkiyi daha iyi yansıtması nedeniyle oral gavaj olarak belirlenmiştir. Ayrıca ghrelin hormonunun temel olarak mideden salgılanıyor olması da bu yolun tercih edilmesinde etken olmuştur (1).

Çalışmamızda kullanılan kaprilik asit dozları, sıçanların oral gavajla alabilecekleri azami sıvı miktarı, kaprilik asidin serum fizyolojik çözeltisindeki çözünürlüğü ve literatür bilgileri dikkate alınarak belirlenmiştir (165). Literatürde sıçanlarda orogastrik gavaj ile verilebilecek maksimum sıvı miktarının kilogram başına 10 mL olduğu ve bu hacmin üstündeki hacimlerde gavaj uygulandığında hayvanlarda aspirasyon pnömonisi, özofagus veya mide rüptürü gibi komplikasyonların oluşma riskinin arttığı belirtilmektedir (166). Kaprilik asidin sudaki çözünürlüğü 20°C'de 0,068 g/100 g'dır (69, 70). Yavru sıçanlar 21 günlük dolaylarında süttten kesilirler (161). Sıçan sütü içeriğinde orta zincirli yağ asitleri ve trigliseritler bulunmaktadır (167). Dolayısıyla

uygulanan kaprilik asit, bu dönemdeki sıçanlara besin olarak verilebilecek nitelikte ve miktardadır.

3.2.2. Tartım ve Ölçümler

Yem, hayvan ağırlığı tartımı ve kuyruk ölçümleri her gün 15:00-16:00 saatleri arasında yapılmıştır. Tartım işlemleri hep aynı cihazla (Mettler Toledo PL3001-S) gerçekleştirilmiştir. Kuyruk uzunluğu ölçümlerinde ise mezura kullanılmıştır. Kuyruk ölçümleri hep aynı kişi tarafından, kuyruk ucundan kılların başlama çizgisine kadar olan uzunluk baz alınarak yapılmıştır (Şekil 3.3). Literatürde kuyruk uzunluğu ölçümünün, kemirgenlerde bir lineer büyüme parametresi olarak kullanıldığı görüldüğünden çalışmamızda da düzenli olarak takip edilmiştir (126, 127, 129).



Şekil 3.3. Tartım ve kuyruk uzunluğu ölçümleri

Günlük tüketilen yem ve hayvan ağırlıkları verilerinden yararlanılarak 100 g vücut ağırlığı başına yem tüketimi hesaplanmıştır (Formül 3.1).

$$\text{Rölatif yem tüketimi (g)} = \text{Yem tüketimi (g)} \times 100 / \text{Vücut ağırlığı (g)} \quad (3.1)$$

3.2.3. Davranış Deneyleri

Oral gavaj uygulamaları biten hayvanlar, postpartum 54. günlerinde 2 adet davranış deneyine tabii tutulmuşlardır. Sabah 10:30-12:30 saatleri arasında yükseltilmiş artı labirent testleri tamamlanmış, öğleden sonra 13:30-15:30 saatleri arasında da aydınlık/karanlık kutusu testleri yapılmıştır. Her iki test de 5 dakika süresince uygulanmıştır.

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

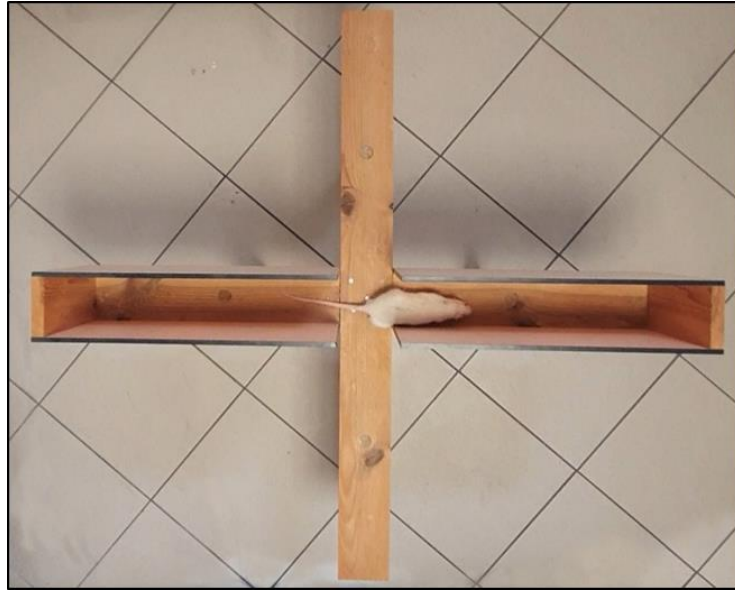
Yükseltilmiş artı labirent testi, 1955'te Montgomery'nin sıçanların keşif ve korku davranışları üzerine yaptığı çalışmadaki gözlemlere dayandırılarak geliştirilmiş bir davranış deneyidir. Sıçanların yerden yüksekteki labirentte, kapalı kollarda açık kollardakine göre daha çok vakit harcadığı görülmüştür. Bunun nedeni her ne kadar keşif dürtüleri sıçanları harekete geçirirse de, açık olan kollarda daha fazla korku duymalarıdır (168). Bu prensibe dayandırılan yükseltilmiş artı labirent testi daha sonra pek çok araştırmacı tarafından denenmiş ve bir anksiyete testi olarak kabul edilmiştir (169-171). Yükseltilmiş artı labirent, iki duvarsız ve iki duvarlı kolun dik açıyla artı şeklinde birleştiği, yerden yüksek bir düzeneden oluşur. 5 dakika boyunca labirentteki davranışları gözlenen hayvanın anksiyete düzeyi, açık veya kapalı kollarda geçirdiği süre ve bu kollara giriş sayısı ile değerlendirilir (172).

Baş eğme hareketi (BEH) ve temkinli uzanma hareketi (TUH), kemirgenlerde postür inceleme çalışmaları veya davranış deneylerinde tanımlanmış hareketlerdir (173, 174). Hayvanların bu hareketleri yükseltilmiş artı labirent testinde risk davranışlarının göstergesi olarak ve anksiyete değerlendirmesinde kullanıldığından bu çalışmada da tercih edilmiştir (175, 176).

Laboratuvarımızdaki yükseltilmiş artı labirent, 50 cm yükseklikte, iki adet açık (50 cm x 10 cm) ve iki adet 25 cm'lik duvara sahip kapalı koldan (50 cm x 10 cm) oluşan yüzeyi verniklenmiş ahşap bir labirenttir (Şekil 3.4). Davranış deneylerinin yapılacağı gün yükseltilmiş artı labirent bir perde ile bulunduğu odanın kalanından izole edilmiş

ve böylece görsel dış etkenler en aza indirilmiştir. Test süresince odanın sessiz olması sağlanmıştır.

Deney öncesinde ve teste tabi tutulan hayvanlar arasında labirent %70'lik etil alkol ile temizlenmiş ve her temizlemeden sonra en az 2 dakika alkolün buharlaşması beklenmiştir. Deneye başlanmadan denek bilgilerinin ve tarihlerin yazılı olduğu kağıtlar hazırlanmıştır. Kamera olarak cep telefonu (Samsung Galaxy Note 10 Lite) kullanılmış, kadraj tüm labirenti yukarıdan alacak şekilde ayarlanmıştır. Önce deneyi yapılacak olan sıçan test odasına getirilmiş, labirentin temizliğinden emin olunduktan sonra video kaydı başlatılmış ve ilgili hayvanın bilgilerinin yazılı olduğu kâğıt kameraya gösterilmiştir. Daha sonra hayvan gövdesinden tutularak, labirentin kollarının birleşim noktasına yerleştirilmiştir. Hayvanların tümü kafası açık kola bakacak şekilde ve deneyi yapan kişiye arkası dönük halde bırakılmıştır. Hayvanlar labirente bırakıldıktan sonra testi yapan kişi perdeyle ayrılmış alandan ayrılmış ve 5 dakika boyunca testin bitmesi beklenmiştir. Bu süre sonunda da hayvan alınıp kafesine geri konulmuştur.



Şekil 3.4. Yükseltilmiş artı labirent testi

Yükseltilmiş artı labirent testinin analizi manuel olarak yapılmıştır. Hayvanların açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler ve geçiş sayıları hesaplanarak veri olarak kaydedilmiştir. Sıçanın dört patisinin de kolun sınırları içinde bulunması, o kolda sayılması için şart koşulmuştur. Kolların kesişim bölgesi olan merkez ise açık kol veya kapalı kol olarak ele alınmamıştır. Baş eğme hareketi, sıçanın başının açık kollardan yere doğru eğilmesi olarak kabul edilmiştir. Temkinli uzanma hareketi ise merkeze veya açık kollara doğru sıçanın üst ön patileri ve başının uzamasının ardından geri çekilerek uzanma öncesi haline dönmesidir. Bu hareketlerin sayımı yapılarak kaydedilmiştir.

Aydınlık/Karanlık Kutu Testi

Aydınlık/karanlık kutu testi ilk olarak Crawley ve Goodwin tarafından 1980'de tanımlanmıştır. Deneyin prensibi, aydınlık ve karanlık bölmeleri olan bir kutuya bırakılan hayvanın davranışlarının gözlenmesine dayanır. Keşfetme dürtüsü ile hareket eden ve aydınlık bölmeyi merak eden hayvan, bir yandan da kaygı duyduğu için aydınlıktan ziyade karanlığı tercih etmektedir. Aydınlık ve karanlık bölmelerde geçirilen süreler ve bölmeler arası geçiş sayıları anksiyete durumunu belirleyici parametreler olarak kabul edilmektedir (177).

Laboratuvarımızdaki aydınlık/karanlık kutu, literatürdeki çalışmalar doğrultusunda sıçanlara uygun ölçüler baz alınarak yapılmıştır. Kutunun yüksekliği 20,5 cm'dir. Kutu dört tarafı ve tavanı siyah opak plastikten yapılmış karanlık bir bölme (25 cm x 20,5 cm) ile şeffaf renksiz plastikten yapılmış ve tavanı olmayan aydınlık bir bölmeden (39,5 cm x 25 cm) oluşmaktadır. Aydınlık ve karanlık bölmeler arasında bir kapı (8 cm x 10 cm) bulunmaktadır (Şekil 3.5).

Test süresince kutunun yanına bir paravan konularak hayvanın aynı odada bulunan ve deneyi yapan araştırmacıyı görmesi engellenmiştir. Kutunun 115 cm yukarısına 60 watt'lık bir ampul konulmuş ve aydınlık bölmedeki aydınlanma şiddeti ~145 lüks olarak ayarlanmıştır. Test süresince odanın sessiz olması sağlanmıştır. Deney öncesinde ve teste tabi tutulan hayvanlar arasında kutu %70'lik etil alkol ile

temizlenmiş ve her temizlemeden sonra en az 2 dakika alkolün buharlaşması beklenmiştir. Deneye başlanmadan denek bilgilerinin ve tarihlerin yazılı olduğu kağıtlar hazırlanmıştır. Kamera olarak cep telefonu (Samsung Galaxy Note 10 Lite) kullanılmış, kadraj tüm kutuyu karşıdan alacak şekilde ayarlanmıştır. Önce deneyi yapılacak olan sıçan test odasına getirilmiş, kutunun temizliğinden emin olunduktan sonra video kaydı başlatılmış ve ilgili hayvanın bilgilerinin yazılı olduğu kâğıt kameraya gösterilmiştir. Daha sonra hayvan gövdesinden tutularak, tüm patileri karanlık bölmede olacak şekilde ve arkası aydınlık bölmeye dönük olarak yerleştirilmiştir. Bırakıldıktan sonra kutunun yanındaki paravanın arkasına geçilip, 5 dakika boyunca testin bitmesi beklenmiştir. Bu sürenin sonunda da hayvan alınıp kafesine geri konulmuştur.

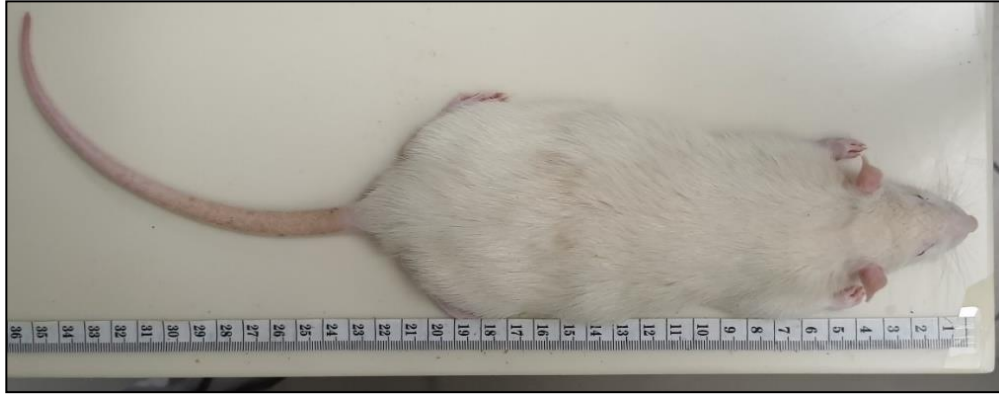


Şekil 3.5. Aydınlık/karanlık kutu testi

Aydınlık/karanlık kutu testinin analizi manuel olarak yapılmıştır. Hayvanların aydınlık ve karanlık bölmelerde geçirdiği süreler ve aydınlık bölmeye geçiş sayıları hesaplanarak veri olarak kaydedilmiştir. Sıçanın dört patisinin de bölmenin sınırları içinde bulunması, o bölmede sayılması için şart koşulmuştur.

3.2.4. Sakrifikasyon, Kan ve Dokuların Toplanması

Postpartum 54. günlerinde davranış deneyleri yapılan sıçanların aynı gün ağırlık ve kuyruk uzunluğu ölçümleri yapıldıktan sonra 17:00-18:00 arasında kafeslerindeki yemler alınmıştır. Böylece bir gece aç kalmaları sağlanan sıçanların ertesi sabah 10:00-11:00 saatleri arasında kan şekeri ölçüm cihazı (eBsensor) ile kuyruk kanından kan şekeri ölçümleri yapılmış ve veriler kaydedilmiştir. Kan şekeri düzeyleri ölçülen sıçanların ağırlıkları da tartılmış ve bu sayede ketamin ve ksilazin için dozlar belirlenmiştir. Sakrifikasyonu gerçekleştirilecek sıçana, 90-100 mg/kg ketamin (Ketax) ve 10 mg/kg ksilazin (Rompun %2) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Anestezi altındaki sıçan, düzgün bir yüzeye sabitlenen mezuranın yanına yüzüstü konmuştur. Bir cetvel yardımıyla burun ile anüs arası mesafe (nazo-anal uzunluk) ölçülmüş ve kaydedilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Nazo-anal uzunluk ölçümü

Nazo-anal uzunluğun, sıçanlarda bir lineer büyüme parametresi olarak kullanılabilirdiği çeşitli makalelerde görülmüş ve bu çalışmada da bu nedenle tercih edilmiştir (128, 178). Prosedür gereği sıçanın anestezi altında olması gerektiğinden yalnızca sakrifikasyon öncesinde ölçüm yapılmıştır.

Uzunluk ölçümü tamamlandıktan sonra sıçan laboratuvar masasına sırtüstü pozisyonda sabitlenmiştir. Refleksleri kontrol edilip cevap alınmadığı görüldükten

sonra abdomen bölgesinin cilt, cilt altı fasya ve kaslarına boydan boya dikey bir kesi atılmıştır. Vena kava inferiordan bir enjektör yardımıyla alınan kan, sarı kapaklı jelli tüplere konmuştur. Tüpler 6 kez ters düz edildikten sonra 30 dakika bekletilmiş ve daha sonra 3000 RPM'de, -4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüj cihazında (Kubota Tabletop Refrigerated Centrifuge 5500) 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen örneklerden üstte ayrılan serum pipet yardımıyla alınıp, kapaklı eppendorf tüplere aktarılmış ve -80°C'de saklanmıştır.

Kemirgenlerde organ ağırlıklarının yaş ve büyümeyle pozitif korelasyon göstermesi nedeniyle, kan alım işlemi sonrası sıçanların sol böbrek, karaciğer ve kalp dokuları büyümeyi değerlendirebilmek amacıyla çıkarılmıştır (130, 131). Bu organlar etraflarındaki yağ ve bağ dokusundan temizlendikten sonra hassas tartı (Mettler Toledo AB204-S/FACT) ile tartılmış ve veriler kaydedilmiştir Daha sonra 100 g vücut ağırlığı başına düşen organ ağırlıkları hesaplanmıştır (Formül 3.2).

$$\text{Rölatif organ ağırlığı (g)} = \text{Organ ağırlığı (g)} \times 100 / \text{Vücut ağırlığı (g)} \quad (3.2)$$

Sıçanlarda obezite değerlendirilmesinde sık kullanılan parametreler olan beden kütle indeksi (BKİ) ve Lee indeksi de her hayvan için hesaplanmıştır. Beden kütle indeksi formülü hayvan vücut ağırlığının, nazo-anal uzunluğun karesine bölünmesi ile elde edilmiştir (Formül 3.3). Lee indeksi ise vücut ağırlığının küp köküne nazo-anal uzunluğun bölünmesi ile hesaplanmıştır (Formül 3.4) (179).

$$\text{BKİ (g/cm}^2\text{)} = \text{Vücut ağırlığı (g)} / (\text{Nazo-anal uzunluk})^2 \text{ (cm}^2\text{)} \quad (3.3)$$

$$\text{Lee indeksi } ((\sqrt[3]{\text{g}})/\text{cm}) = (\sqrt[3]{\text{Vücut ağırlığı}}) (\sqrt[3]{\text{g}}) / \text{Nazo-anal uzunluk (cm)} \quad (3.4)$$

3.2.5. Kan Parametrelerinin Analizi

-80°C'de saklanan serumlardan açıl ghrelin, büyüme hormonu, IGF-1 ve insülin düzeyleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında ELISA (Enzim Bağlı İmmün Assay) yöntemiyle tayin edilmiştir. Bu parametrelerin tayininde sıçan ELISA kitleri kullanılmıştır. Serumların total protein, total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol düzeyleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında otoanalizör cihazıyla (Beckman Coulter AU5800) ölçülmüştür. Otoanalizör cihazında total protein tayininin prensibi fotometrik renk testine, kan lipidlerinin ölçümlerinin prensibi enzimatik renk testine dayanmaktadır. Ölçülen total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol konsantrasyonları kullanılarak LDL kolesterol düzeyi (mg/dL) de her sıçan için hesaplanmıştır (Formül 3.5) (180).

$$\text{LDL Kolesterol} = \text{Total Kolesterol} - (\text{HDL Kolesterol} + \text{Trigliserit} / 5) \quad (3.5)$$

Serum Açıl Ghrelin Düzeyinin Tayini

Sıçanların serum örneklerindeki açıl ghrelin düzeyini belirlemek için sıçan açıl Ghrelin ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory E0868Ra) kullanılmıştır. Ölçümler üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde yapılmıştır. Protokol aşamasında sıçan açıl ghrelin hormonuna spesifik olarak bağlanan monoklonal antikorlarla kaplı plakalara serum örnekleri eklenmiştir. Serum örneklerinde bulunan açıl ghrelin ile bu antikorlar birbirine tutunmuştur. Daha sonra örnekler önce biyotinlenmiş sıçan açıl ghrelin antikoruna, ardından streptavidin-HRP eklenmiştir. Eklenen streptavidin-HRP (Horseradish Peroksidaz)'nin biyotinlenmiş sıçan açıl ghrelin antikoruna bağlanmasının ardından örnekler inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra (Nüve Incubator EN 055), mikroparka yıkama cihazıyla (Tecan Hydro Flex Eva 302411) yıkama yapılarak streptavidin-HRP uzaklaştırılmıştır. Substrat solüsyonunun eklenmesi sonrasında sıçan açıl ghrelin miktarı ile orantılı olarak renk değişimi gerçekleşmiştir. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona ermiştir.

Absorbanslar mikrolaka okuyucuyla (Tecan Infinite F50) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Serum Büyüme Hormonu Düzeyinin Tayini

Sıçanların serum örneklerindeki büyüme hormonu düzeyini belirlemek için sıçan Büyüme Hormonu ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory E0551Ra) kullanılmıştır. Ölçümler üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde yapılmıştır. Protokol aşamasında sıçan büyüme hormonuna spesifik olarak bağlanan monoklonal antikolarla kaplı plakalara serum örnekleri eklenmiştir. Serum örneklerinde bulunan büyüme hormonu ile bu antikolar birbirine tutunmuştur. Daha sonra örnekler önce biyotinlenmiş sıçan büyüme hormonu antikoru, ardından streptavidin-HRP eklenmiştir. Eklenen streptavidin-HRP'nin biyotinlenmiş sıçan büyüme hormonu antikoruyla bağlanmasının ardından örnekler inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra (Nüve Incubator EN 055), mikrolaka yıkama cihazıyla (Tecan Hydro Flex Eva 302411) yıkama yapılarak streptavidin-HRP uzaklaştırılmıştır. Substrat solüsyonunun eklenmesi sonrasında sıçan büyüme hormonu miktarı ile orantılı olarak renk değişimi gerçekleşmiştir. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona ermiştir. Absorbanslar mikrolaka okuyucuyla (Tecan Infinite F50) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Serum İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Düzeyinin Tayini

Sıçanların serum örneklerindeki büyüme hormonu düzeyini belirlemek için sıçan IGF-1 ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory E0709Ra) kullanılmıştır. Ölçümler üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde yapılmıştır. Protokol aşamasında sıçan IGF-1'ine spesifik olarak bağlanan monoklonal antikolarla kaplı plakalara serum örnekleri eklenmiştir. Serum örneklerinde bulunan IGF-1 ile bu antikolar birbirine tutunmuştur. Daha sonra örnekler önce biyotinlenmiş sıçan IGF-1 antikoru, ardından streptavidin-HRP eklenmiştir. Eklenen streptavidin-HRP'nin

biyotinlenmiş sıçan IGF-1 antikoruna bağlanmasının ardından örnekler inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra (Nüve Incubator EN 055), mikrolaka yıkama cihazıyla (Tecan Hydro Flex Eva 302411) yıkama yapılarak streptavidin-HRP uzaklaştırılmıştır. Substrat solüsyonunun eklenmesi sonrasında sıçan IGF-1 düzeyi ile orantılı olarak renk değişimi gerçekleşmiştir. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona ermiştir. Absorbanslar mikrolaka okuyucuyla (Tecan Infinite F50) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Serum İnsülin Düzeyinin Tayini

Sıçanların serum örneklerindeki büyüme hormonu düzeyini belirlemek için sıçan İnsülin ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory E0707Ra) kullanılmıştır. Ölçümler üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde yapılmıştır. Protokol aşamasında sıçan insülin hormonuna spesifik olarak bağlanan monoklonal antikorlarla kaplı plakalara serum örnekleri eklenmiştir. Serum örneklerinde bulunan insülin hormonu ile bu antikorlar birbirine tutunmuştur. Daha sonra örnekler önce biyotinlenmiş sıçan insülin hormonu antikoruna, ardından streptavidin-HRP eklenmiştir. Eklenen streptavidin-HRP'nin biyotinlenmiş sıçan insülin hormonu antikoruna bağlanmasının ardından örnekler inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra (Nüve Incubator EN 055), mikrolaka yıkama cihazıyla (Tecan Hydro Flex Eva 302411) yıkama yapılarak streptavidin-HRP uzaklaştırılmıştır. Substrat solüsyonunun eklenmesi sonrasında sıçan insülin hormonu düzeyi ile orantılı olarak renk değişimi gerçekleşmiştir. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona ermiştir. Absorbanslar mikrolaka okuyucuyla (Tecan Infinite F50) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Glukoz homeostazı ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan formüller olan HOMA-IR ve QUICKI indeksleri açlık glukozu ve insülin düzeyleri kullanılarak hesaplanmıştır (181, 182) (Formül 3.6) (Formül 3.7).

$$\text{HOMA-IR} = \text{Glukoz (mg/dL)} \times \text{insülin (mIU/L)} / 405 \quad (3.6)$$

$$\text{QUICKI} = 1 / (\log \text{insülin (mIU/L)} + \log \text{glukoz (mg/dL)}) \quad (3.7)$$

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Deneyle 3 grup olacak şekilde planlanmıştır. Daha sonra literatürdeki çalışmalar baz alınarak G Power v3.1 programında, ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık testi için tek yönlü varyans analizi kullanarak $\alpha=0,05$ hata payı ve $\beta=0,95$ güç değeri ile örneklem genişliği hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz yapılabilmesi için gereken en az hayvan sayısı $n=10$ olarak belirlenmiştir.

Bulguların istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics v23 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veri setlerinin normal dağılıma uygunluğunun değerlendirilmesinde Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılım gösterdiği belirlenen veriler için gruplar arasındaki farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla tek yönlü ANOVA testi kullanılmış, normal dağılım göstermeyen verilerde ise karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır. Tekrarlayan ölçümlerin karşılaştırılmasında ise normal dağılan veri setlerinde tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi, normal dağılmayanlarda ise Friedman testi kullanılmıştır. ANOVA testinde anlamlı farklılık bulunduğu, grupların birbirleriyle karşılıklı ilişkilerinin incelenebilmesi için Tukey çoklu karşılaştırma analizi yapılmıştır.

Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılan veri setleri şunlardır: 22. gündeki kuyruk uzunlukları, 53. gündeki vücut ağırlıkları ve kuyruk uzunlukları, nazal uzunluklar, Lee indeksleri, beden kütle indeksleri, karaciğer ağırlıkları, kalp ağırlıkları, açil ghrelin düzeyleri, büyüme hormonu düzeyleri, IGF-1 düzeyleri, total protein düzeyleri, trigliserit düzeyleri, total kolesterol düzeyleri, LDL düzeyleri, yükseltilmiş artı labirentte kapalı kolda geçirilen süreler, kapalı kola geçiş sayıları, toplam geçiş sayıları, baş eğme hareketi sayıları ve aydınlık/karanlık kutu testinde karanlıkta geçirilen süreler. Bu parametrelerin gruplar arası farklılıklarının

belirlenmesi için tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılmayan veri setleri şunlardır: 22. gündeki vücut ağırlıkları, böbrek ağırlıkları, insülin düzeyleri, HOMA-IR indeksleri, QUICKI indeksleri, HDL düzeyleri, yükseltilmiş artı labirentte açık kolda geçirilen süreler, açık kolda geçirilen sürelerin yüzdeleri, açık kola geçiş sayıları, açık kola ilk geçiş süreleri, kapalı kola ilk geçiş süreleri, aydınlık/karanlık kutu testinde aydınlıkta geçirilen süreler, aydınlıkta geçirilen sürelerin yüzdeleri, aydınlığa ilk geçiş süreleri ve aydınlığa geçiş sayıları. Bu parametrelerin gruplar arası farklılıklarının belirlenmesi için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Ayrıca yem tüketimi grafiklerinde eğri altında kalan alanların karşılaştırılmasında da Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

Tekrarlayan ölçümlü verilerden normal dağılanlar ağırlık başına yem tüketimleri ile ilk ve son kan glukozu ölçümleridir. Bu parametrelerin gruplar arası farklılıklarının belirlenmesi için tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Tekrarlayan ölçümlü verilerden normal dağılmayanlar ise vücut ağırlıkları, kuyruk uzunlukları ve yem tüketimleri ölçümleridir. Bu parametrelerin gruplar arası farklılıklarının belirlenmesi için Friedman testi kullanılmıştır.

Normal dağılan verilere sahip iki değişkenin ilişkisini incelemek için Pearson korelasyon analizi, parametrelerden birinin verileri normal dağılmıyorsa Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. Tüm istatistiklerde *P* değeri <0,05 olduğunda anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular bölümünde deney gruplarına ait verilerin ortalama \pm ortalamanın standart hatası (ort \pm SEM), ortanca, minimum (min) ve maksimum (maks) değerleri tablolar halinde verilmiştir. İki den fazla zamana ait ölçüm içeren veriler ise tablo yerine grafik ile (ort \pm SEM) gösterilmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılık saptanan veriler, grafik olarak da sunulmuştur. Korelasyon analizleri tablo veya grafik şeklinde değil, yazılı olarak ifade edilmiştir. Tüm grafiklerin çizimi için Microsoft Excel 2016 kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen ve kontrol, düşük düzey kaprilik asit (DKA) ve orta düzey kaprilik asit (OKA) olarak 3 gruba ayrılan 30 adet erkek Wistar sıçana ait genel özellikler aşağıda verilmiştir.

Çalışmada kullanılan sıçanlar, postpartum 22. günlerinde (P22) vücut ağırlıklarına göre dengeli bir şekilde gruplara ayrılmıştır. Gruplar arasında başlangıç vücut ağırlıkları ve kuyruk uzunlukları açısından anlamlı fark yoktur ($P > 0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Başlangıç vücut ölçümleri

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
P22 vücut ağırlığı (g)	Ort ± SEM	69,8 ± 3,3	70,2 ± 2,8	68,9 ± 3,5	>0,05
	Ortanca	67	66,8	66	
	(Min-Maks)	(53,8-84,2)	(61,3-88,1)	(57-94,1)	
P22 kuyruk uzunluğu (cm)	Ort ± SEM	8,97 ± 0,31	9,73 ± 0,29	9,33 ± 0,32	>0,05
	Ortanca	8,8	9,4	9,2	
	(Min-Maks)	(7,5-10,7)	(8,8-11,3)	(8,2-11,2)	

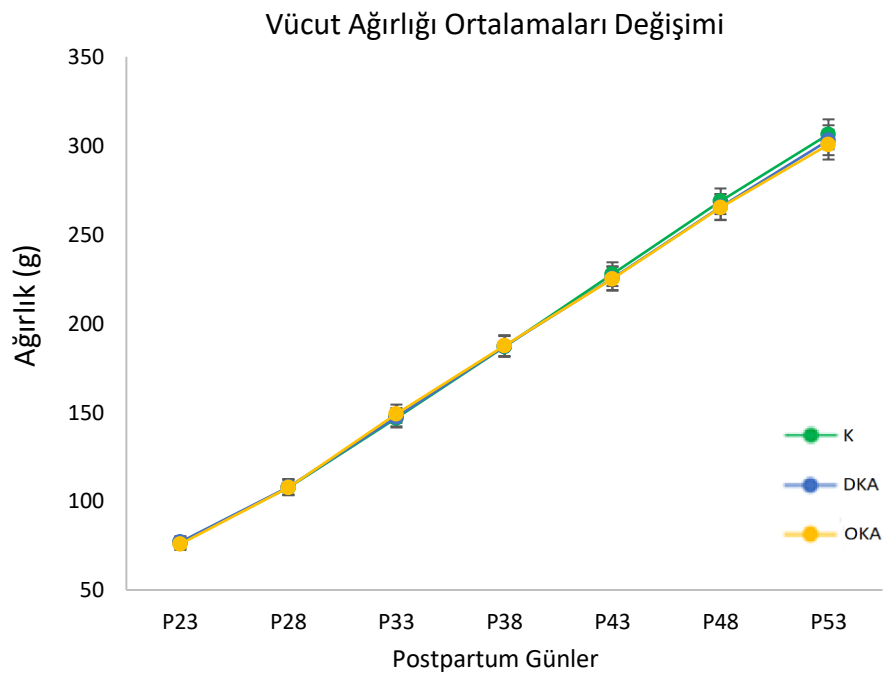
P22 vücut ağırlığı karşılaştırmaları Kruskal Wallis, P22 kuyruk uzunluğu karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır.

Sıçanlara uygulanan 30 günlük oral gavaj işlemi boyunca düzenli olarak vücut ağırlığı, kuyruk uzunluğu ve yem tüketimi ölçümleri yapılmıştır. Vücut ağırlığı ve kuyruk uzunluğu ölçümleri 5'er gün arayla değerlendirilmiştir. Buna göre, her grupta zamana bağlı olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır. Ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$) (Şekil 4.1) (Şekil 4.2). Hayvanların 53. günde ölçülen son ağırlık ve kuyruk uzunlukları ortalamaları arasında da yine anlamlı fark saptanmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.2).

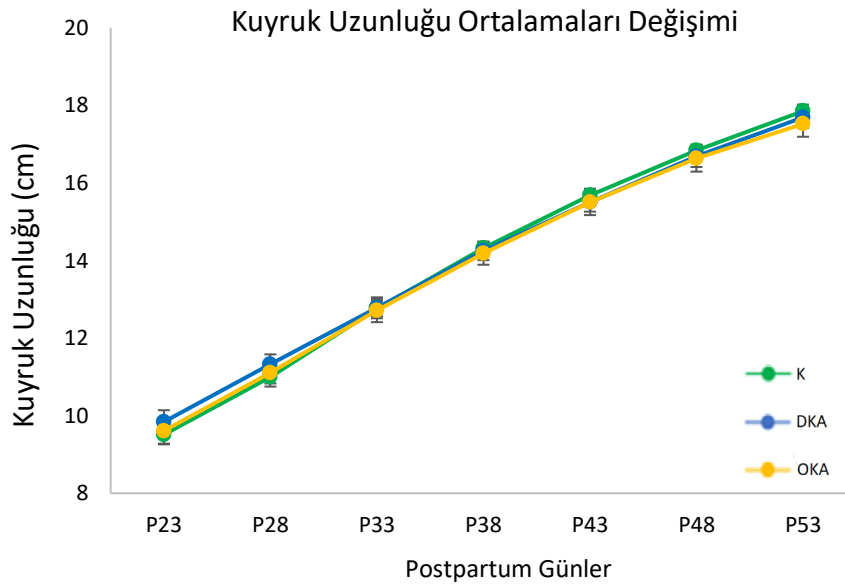
Tablo 4.2. Son vücut ölçümleri

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
P53 vücut	Ort ± SEM	306,4 ± 5,9	303,1 ± 10,2	300,6 ± 8,5	
ağırlığı (g)	Ortanca	304,2	298,5	309,7	>0,05
	(Min-Maks)	(284,2-334,8)	(249,5-373)	(250,6-328,3)	
P53 kuyruk	Ort ± SEM	17,9 ± 0,2	17,7 ± 0,3	17,5 ± 0,3	
uzunluğu (cm)	Ortanca	17,9	17,5	17,7	>0,05
	(Min-Maks)	(17,1-18,6)	(16,7-19,3)	(15,5-18,9)	

Her iki parametre için karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır.

**Şekil 4.1.** Zaman içindeki ağırlık değişimleri (g)

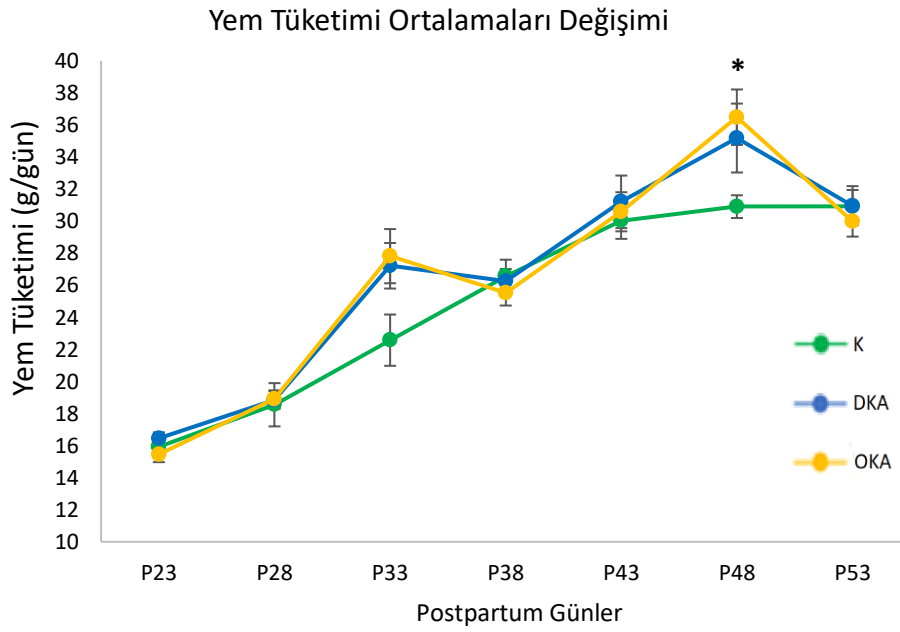
Sonuçlar ort ± SEM olarak gösterilmiştir. Karşılaştırmalar Friedman testi ile yapılmıştır.



Şekil 4.2. Zaman içindeki kuyruk uzunluğu değişimleri (cm)

Sonuçlar ort \pm SEM olarak gösterilmiştir. Karşılaştırmalar Friedman testi ile yapılmıştır.

Hayvanların yem tüketimleri de 5'er günlük aralıklarla değerlendirilmiştir. Postpartum 48. günde kontrol grubunun OKA grubuna göre daha az yem tükettiği bulunmuştur ($P < 0,05$). Eğri altında kalan alanlar hesaplandığında ise gruplar arasında anlamlı düzeyde bir fark çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Şekil 4.3).

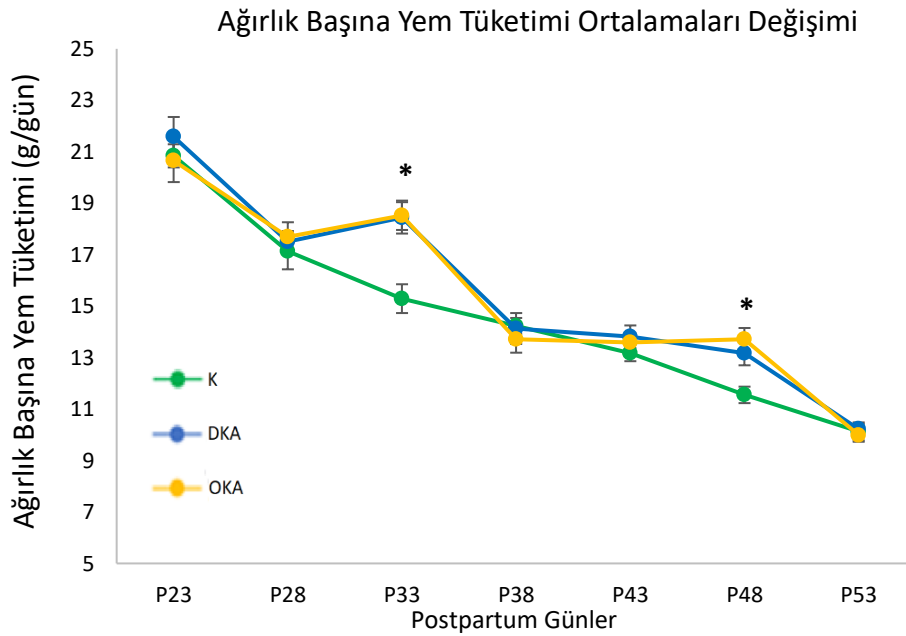


Şekil 4.3. Zaman içindeki yem tüketimi değişimleri (g/gün)

* $P < 0,05$. Fark K grubu ile OKA arasındadır.

Sonuçlar ort \pm SEM olarak gösterilmiştir. Karşılaştırmalar Friedman testi ile yapılmıştır. Eğri altında kalan alanların karşılaştırılması Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.

Hayvanların tükettikleri yem miktarı ağırlığa göre de oranlanarak, rölatif yem tüketimi hesaplanmış ve 5'er günlük aralıklarla değerlendirilmiştir. Postpartum 33. ve 48. günlerde kontrol grubunun diğerlerine göre vücut ağırlığı başına daha az yem tükettiği bulunmuştur ($P < 0,05$). Eğri altında kalan alanlar hesaplandığında ise gruplar arasında anlamlı düzeyde bir fark çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Zaman içindeki 100 g hayvan ağırlığı başına yem tüketimi değişimleri (g/gün)

* $P < 0,05$. Farklar K grubu ile OKA ve DKA grupları arasındadır.

Sonuçlar ort \pm SEM olarak gösterilmiştir. Karşılaştırmalar ANOVA testi ile yapılmıştır. Eğri altında kalan alanların karşılaştırılması Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.

Deney protokolünün tamamlanmasından sonra postpartum 55. günde, anestezi altındaki sıçanların anüs ve burun arası mesafeleri bir mezura yardımıyla ölçülmüştür. Nazo-anal uzunlukları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P > 0,05$). Beden kütle indeksi, vücut ağırlığı ve anüs-burun uzunluğu parametreleri kullanılarak hesaplanan Lee İndeksi arasında da yine gruplar arasında anlamlı bir fark çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Sıçanların nazo-anal uzunluk ve beden yapısına ilişkin sonuçlar

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
Nazo-Anal	Ort ± SEM	21,2 ± 0,1	21,2 ± 0,2	21,1 ± 0,1	
Uzunluk (cm)	Ortanca	21,2	21	21,1	>0,05
	(Min-Maks)	(20,8-21,7)	(20,8-22,5)	(20,5-21,6)	
Lee İndeksi	Ort ± SEM	0,48 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,48 ± 0,01	
	Ortanca	0,48	0,47	0,49	>0,05
	(Min-Maks)	(0,44-0,51)	(0,40-0,55)	(0,41-0,51)	
Beden Kütle	Ort ± SEM	0,68 ± 0,01	0,68 ± 0,02	0,68 ± 0,01	
İndeksi	Ortanca	0,68	0,68	0,7	>0,05
	(Min-Maks)	(0,62-0,72)	(0,57-0,74)	(0,60-0,72)	

Her üç parametrenin karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır.

Deney protokolünün tamamlanmasından ve hayvanların postpartum 55. günde feda edilmelerinden sonra sol böbrek, karaciğer ve kalp etraflarındaki dokulardan temizlenerek tartılmıştır. Organ ağırlıkları, deney hayvanlarının son gün ağırlığına oranlanmış, sıçanın 100 g vücut ağırlığı başına düşen organ ağırlıkları hesaplanmıştır. Bu ağırlıklar karşılaştırıldıklarında gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. 100 g hayvan ağırlığı başına düşen rölatif organ ağırlıkları

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
Karaciğer ağırlığı (g)	Ort ± SEM	3,4 ± 0,1	3,36 ± 0,09	3,34 ± 0,06	>0,05
	Ortanca	3,35	3,37	3,3	
	(Min-Maks)	(2,81-3,85)	(2,87-3,94)	(3,09-3,64)	
Sol böbrek ağırlığı (g)	Ort ± SEM	0,43 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,43 ± 0,01	>0,05
	Ortanca	0,43	0,42	0,43	
	(Min-Maks)	(0,38-0,51)	(0,4-0,51)	(0,38-0,47)	
Kalp ağırlığı (g)	Ort ± SEM	0,31 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,32 ± 0,01	>0,05
	Ortanca	0,31	0,33	0,33	
	(Min-Maks)	(0,29-0,38)	(0,3-0,36)	(0,29-0,35)	

Karaciğer ve kalp ağırlıklarının karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA, sol böbrek ağırlıkları karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.

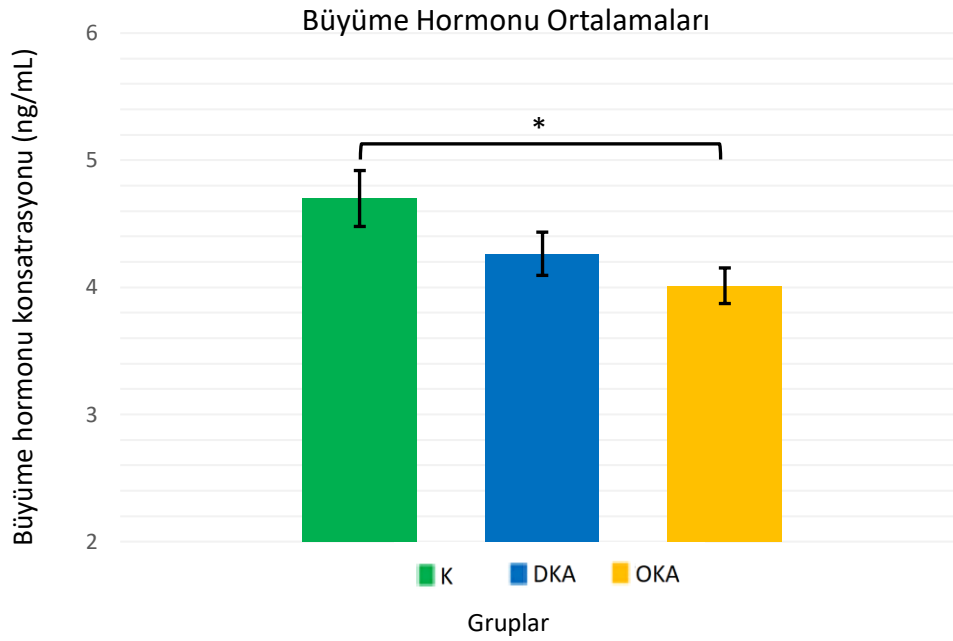
4.2. Deney Hayvanlarının Kan Parametreleri

Gruplar arasında açıl grelin, IGF-1 ve insülin konsantrasyonları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 4.5). Büyüme hormonu konsantrasyonlarında ise kontrol ve orta düzeyde kaprilik asit verilen grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Kontrol grubunun büyüme hormonu düzeyinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P< 0,05$) (Şekil 4.5). Ayrıca çalışmadaki tüm sıçanların serum hormon düzeyleri arasındaki korelasyonlara bakılmıştır. Buna göre büyüme hormonu ile açıl grelin ve insülin düzeyleri karşılaştırıldığında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,372$) ($r=0,443$) ($P< 0,05$). IGF-1 ve insülin düzeyleri arasında da pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır ($r=0,389$) ($P< 0,05$).

Tablo 4.5. Kan hormon düzeyleri

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10*)	P değeri
Açıl	Ort ± SEM	870,3 ± 10,1	878,4 ± 10,1	862,7 ± 14,6	
Ghrelin	Ortanca	865,8	873,4	869,3	>0,05
(pg/mL)	(Min-Maks)	(828,4-943,6)	(841,5-936,2)	(766,6-912,7)	
Büyüme	Ort ± SEM	4,7 ± 0,22	4,26 ± 0,17	4,01 ± 0,14	
Hormonu	Ortanca	4,49	4,05	3,92	<0,05
(ng/mL)	(Min-Maks)	(3,89-5,92)	(3,7-5,45)	(3,43-4,9)	
IGF-1	Ort ± SEM	221 ± 32,3	227,1 ± 22,2	261,8 ± 28,6	
(ng/mL)	Ortanca	190,3	230,2	270,3	>0,05
	(Min-Maks)	(105,8-416,7)	(107,1-315,6)	(100,8-393,3)	
İnsülin	Ort ± SEM	7,3 ± 0,69	7,12 ± 0,58	7,98 ± 0,51	
(mIU/L)	Ortanca	6,05	6,38	8,34	>0,05
	(Min-Maks)	(4,96-10,48)	(5,1-10,33)	(5,51-10,41)	

*IGF-1 ölçümünde bir denek 2 uç değere sahip olduğundan elenmiştir (n=9). Açıl ghrelin, büyüme hormonu ve IGF-1 düzeyi karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA testi ile; insülin düzeyi karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.



Şekil 4.5. Büyüme hormonu konsantrasyonlarının ortalamaları (ng/mL)

* $P < 0,05$. Fark K grubu ile OKA grubu arasındadır.

Karşılaştırmalar Tukey çoklu karşılaştırma analizi ile yapılmıştır.

Oral gavajla ilk kaprilik asit uygulamasından önce ve sakrifikasyon yapılan gün hayvanların kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Ölçülen kan glukozu değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P > 0,05$). Grupların ilk ve son kan glukoz düzeyi arasında da yine anlamlı fark çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kan glukoz düzeyi ilk ve son ölçümler

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
Kan Glukozu	Ort ± SEM	100,4 ± 8,4	88,1 ± 5,6	96,7 ± 4,5	
	İlk (mg/dL)				>0,05
	Ortanca	97,3	87,3	94,5	
	(Min-Maks)	(53,5-142,5)	(57-112)	(82,5-129,5)	
Kan Glukozu	Ort ± SEM	96,2 ± 4,5	93,6 ± 4,6	89,9 ± 5,8	
	Son (mg/dL)				>0,05
	Ortanca	100,3	93,3	90,5	
	(Min-Maks)	(64-110)	(73,5-116,5)	(61,5-123,5)	

Her iki karşılaştırma ANOVA testi ile yapılmıştır.

Ölçülen insülin konsantrasyonları ve kan glukozu düzeyleri kullanılarak, glukoz homeostazı ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametreler hesaplanmıştır. Bu parametreler gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Glukoz homeostazı ve insülin direncini gösteren parametreler

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
	Ort ± SEM	1,72 ± 0,17	1,65 ± 0,15	1,76 ± 0,13	
HOMA-IR	Ortanca	1,46	1,63	1,83	>0,05
	(Min-Maks)	(1,22-2,62)	(1,03-2,32)	(1,03-2,42)	
	Ort ± SEM	0,35 ± 0,005	0,36 ± 0,005	0,35 ± 0,005	
QUICKI	Ortanca	0,36	0,36	0,35	>0,05
	(Min-Maks)	(0,33-0,37)	(0,34-0,38)	(0,33-0,38)	

Her iki karşılaştırma Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.

Hayvanların ayrıca serum total protein, trigliserit, total kolesterol HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri tespit edilmiştir. Trigliserit, total kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri kullanılarak LDL kolesterol düzeyleri her hayvan için hesaplanmıştır. Sayılan bu parametrelerin hiçbirinde gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Biyokimyasal parametreler

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
Total	Ort ± SEM	56,3 ± 1,02	58,6 ± 1,3	59,7 ± 1,03	
Protein	Ortanca	56,2	58,5	60,2	>0,05
(g/L)	(Min-Maks)	(50,4-60,2)	(53,4-67,2)	(53,4-64,5)	
Trigliserit	Ort ± SEM	49,7 ± 5,3	48,8 ± 4,5	49,1 ± 4,9	
(mg/dL)	Ortanca	46	51	48,5	>0,05
	(Min-Maks)	(30-79)	(27-72)	(24-78)	
Total	Ort ± SEM	70,1 ± 2,3	70,3 ± 2,8	65,4 ± 2,2	
Kolesterol	Ortanca	68,5	69	64,5	>0,05
(mg/dL)	(Min-Maks)	(61-80)	(57-88)	(56-78)	
HDL	Ort ± SEM	43,6 ± 1,6	42,6 ± 1,8	39,1 ± 1,4	
Kolesterol	Ortanca	41,5	42	37,5	>0,05
(mg/dL)	(Min-Maks)	(38-51)	(33-54)	(33-47)	
LDL	Ort ± SEM	16,6 ± 1,4	17,9 ± 1,4	16,5 ± 1,7	
Kolesterol	Ortanca	17	17,8	16	>0,05
(mg/dL)	(Min-Maks)	(9,2-22,6)	(12,8-26,2)	(6,4-24,6)	

Total protein, trigliserit, total kolesterol ve LDL düzeyi karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA testi ile; HDL düzeyi karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır.

4.3. Davranış Deneilerine İlişkin Parametreler

Yükseltilmiş artı labirent testi sırasında her gruptan 1 adet hayvan düzenekten düşmüştür. Bu hayvanlar istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. Hayvanların açık ve kapalı kollarda geçirdikleri süreler ve geçiş sayıları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($P > 0,05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Yükseltilmiş artı labirent testi süre ve kollara geçiş sayıları

		K (n=9)	DKA (n=9)	OKA (n=9)	P değeri
Açık kolda	Ort ± SEM	3,6 ± 3,3	18,6 ± 5,6	11,3 ± 3,8	
geçen süre	Ortanca	0	21	13	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(0-30)	(0-45)	(0-24)	
Kapalı kolda	Ort ± SEM	200,8 ± 7,2	177,1 ± 5,3	179,8 ± 11	
geçen süre	Ortanca	202	182	177	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(175-244)	(152-205)	(137-242)	
Açık kolda	Ort ± SEM	1,51 ± 1,38	9,23 ± 2,8	5,84 ± 1,91	
geçen süre	Ortanca	0	10,99	8,23	>0,05
yüzdesi (%)	(Min-Maks)	(0-12,5)	(0-22,84)	(0-12,79)	
Açık kola	Ort ± SEM	0,33 ± 0,24	1,78 ± 0,49	1 ± 0,33	
geçiş sayısı	Ortanca	0	2	1	>0,05
	(Min-Maks)	(0-2)	(0-4)	(0-2)	
Kapalı kola	Ort ± SEM	11,9 ± 0,8	10,6 ± 0,7	11,3 ± 1,3	
geçiş sayısı	Ortanca	12	11	12	>0,05
	(Min-Maks)	(6-14)	(7-13)	(6-18)	
Toplam geçiş	Ort ± SEM	12,2 ± 0,7	12,3 ± 0,9	12,3 ± 1,5	
sayısı	Ortanca	13	13	14	>0,05
	(Min-Maks)	(8-14)	(7-16)	(6-20)	
Açık kola ilk	Ort ± SEM	236,1 ±	107,2 ± 48,6	195,6 ±	
geçiş süresi		42,9		45,98	>0,05
(sn)	Ortanca	301	13	262	
	(Min-Maks)	(6-301)	(0-301)	(1-301)	
Kapalı kola ilk	Ort ± SEM	11,9 ± 6,3	31,6 ± 9,1	10,2 ± 3,2	
geçiş süresi	Ortanca	3	29	7	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(0-58)	(2-70)	(2-33)	

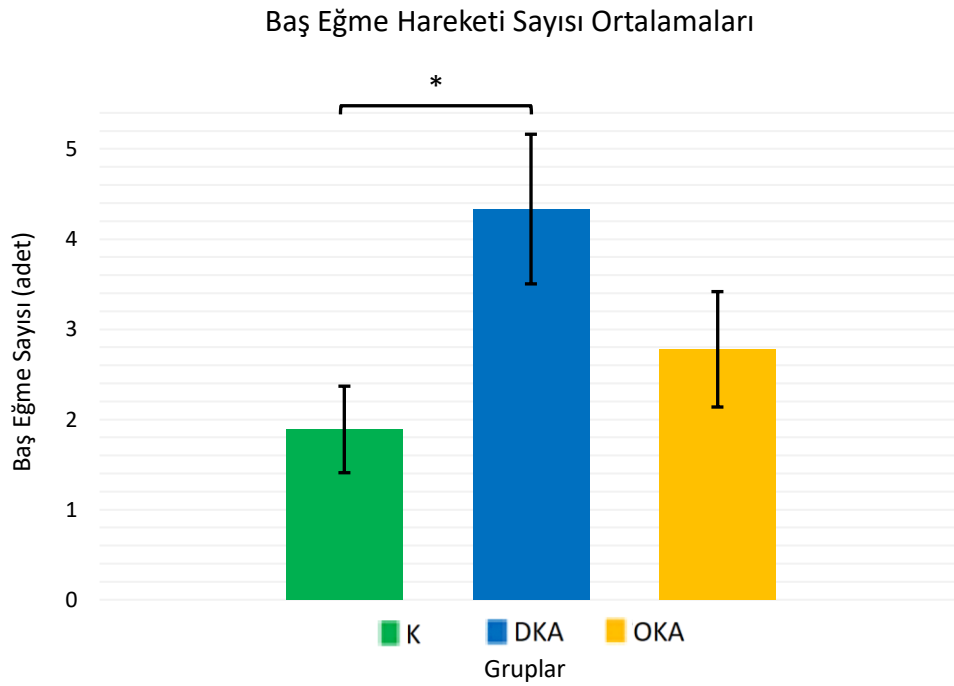
Açık kolda geçen süreler, açık kolda geçen sürelerin yüzdeleri, açık kola geçiş sayıları, açık kola ilk geçiş süreleri ve kapalı kola ilk geçiş süreleri karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır. Kapalı kolda geçen süreler, kapalı kola geçiş sayıları ve toplam geçiş sayıları karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA ile yapılmıştır.

Yükseltilmiş labirent testindeki risk davranışı hareketleri de incelenip sayılmıştır. Bu verilerin istatistiksel analizi yapılmış ve temkinli uzanma hareketi sayısında, gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.10). Baş eğme hareketi sayılarına bakıldığında ise kontrol ve düşük düzeyde kaprilik asit verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur. Düşük düzeyde kaprilik asit grubunun daha fazla sayıda baş eğme hareketi yaptığı saptanmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 4.6).

Tablo 4.10. Yükseltilmiş artı labirent deneyi risk davranışı hareketleri sayısı

		K (n=9)	DKA (n=9)	OKA (n=9)	P değeri
Baş Eğme Hareketi	Ort ± SEM	1,89 ± 0,48	4,33 ± 0,83	2,78 ± 0,64	
	Ortanca (Min-Maks)	2 (0-5)	5 (1-9)	2 (0-6)	<0,05
Temkinli Uzanma Hareketi	Ort ± SEM	7,22 ± 0,46	8,67 ± 0,73	8,56 ± 1	
	Ortanca (Min-Maks)	7 (5-10)	8 (6-12)	8 (4-14)	>0,05

Her iki karşılaştırma da tek yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır.



Şekil 4.6. Baş eğme hareketi sayılarının ortalamaları (adet)

* $P < 0,05$. Fark K grubu ile DKA grubu arasındadır.

Karşılaştırmalar Tukey çoklu karşılaştırma analizi ile yapılmıştır.

Aydınlık/karanlık kutu testi analizinde hayvanların aydınlık ve karanlık alanlarda geçirdikleri süreler ve aydınlığa geçiş sayıları kaydedilmiştir. Bu verilerde gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Aydınlık/karanlık kutu deneyi süre ve geçiş sayıları

		K (n=10)	DKA (n=10)	OKA (n=10)	P değeri
Aydınlıkta	Ort ± SEM	42,3 ± 12,7	36,5 ± 10,5	22,2 ± 11,8	
geçen süre	Ortanca	49,5	36,5	0	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(0-119)	(0-95)	(0-112)	
Karanlıkta	Ort ± SEM	224,9 ± 18,3	228,7 ± 14,8	241,1 ± 14,6	
geçen süre	Ortanca	212	227	248,5	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(137-301)	(168-299)	(151-294)	
Aydınlıkta	Ort ± SEM	16,7 ± 5	14,1 ± 4,1	8,6 ± 4,5	
geçen süre	Ortanca	19,76	12,78	0	>0,05
yüzdesi (%)	(Min-Maks)	(0-46,5)	(0-36,1)	(0-42,6)	
Aydınlığa İlk	Ort ± SEM	152,1 ± 36,5	126,9 ± 40	214,8 ± 39,1	
Geçiş Süresi	Ortanca	108,5	44,5	301	>0,05
(sn)	(Min-Maks)	(35-301)	(25-301)	(26-301)	
Aydınlığa	Ort ± SEM	2,4 ± 0,78	2,7 ± 0,73	1,2 ± 0,59	
Geçiş Sayısı	Ortanca	2	3	0	>0,05
	(Min-Maks)	(0-7)	(0-7)	(0-5)	

Aydınlıkta geçen süreler, aydınlıkta geçen sürelerin yüzdeleri, aydınlığa ilk geçiş süreleri ve aydınlığa geçiş sayıları karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile; karanlıkta geçen sürelerin karşılaştırmaları tek yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır.

5. TARTIŞMA

Açlık hormonu olarak da bilinen ghrelin sıra dışı bir hormondur, çünkü şu ana kadar oreksijenik etkiye sahip olduğu gösterilen tek peptiddir. Başta mide olmak üzere pek çok dokudan salgılanan ghrelin gıda alımı, vücut ağırlığının düzenlenmesi, kısa ve uzun dönem enerji homeostazında hayati işleve sahiptir. Ghrelin, besin alımını artırmanın yanı sıra yağların metabolik yakıt olarak kullanımını azaltan ve yağ depolamasını teşvik eden anabolik bir hormondur. Ghrelin besin alımının kontrolü ile ilişkili işlevlerine ek olarak, hipofiz bezinden büyüme hormonu salgısını artırır, insülin salgısını ve kan şekerini düzenler (2, 3).

Ghrelinin sıra dışı bir hormon olmasının bir başka nedeni, bir yağ asidi tarafından modifiye edildiği gösterilen ilk ve tek peptid hormon olmasıdır. Ghrelinin aktive olabilmesi için peptidin N-terminal ucundaki 3. aminoasit olan serine bir oktanoil grubu bağlanır. Bu açil modifikasyonda bir orta zincirli yağ asidi olan kaprilik asit kullanılır. Her ne kadar vücutta üretilen ghrelinin %10'dan azı açılense de açil modifikasyon ghrelinin aktive olabilmesi için esansiyeldir (183). GOAT, ghrelinin açil modifikasyonunda rol oynayan, daha fazla oranda mide ve bağırsaklarda üretilen bir enzimdir. Kaprilik asit, ghrelinin aktif formu olan açil ghreline çevrilmesinde GOAT enzimi tarafından substrat olarak kullanılır. GOAT diğer orta zincirli yağ asitlerini de bu tepkimede kullanabilir ancak kaprilik aside daha yüksek bir afinite gösterir ve reaksiyon sırasında ana substrat olarak kaprilik asidi kullanır (81). Plazmada ghrelin hem açillenmiş hem de açillenmemiş formlarda bulunur. Ancak yalnızca açil ghrelin, hipofiz bezi ve hipotalamusta bulunan büyüme hormonu sekretagog reseptör 1a'ya (GHSR-1a) bağlanarak büyüme hormonunun salgılanması, iştahın ve gıda alımının uyarılması da dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreci düzenler (115).

Kaprilik asit orta zincirli yağ asidi ailesinin 8 karbonlu üyesidir. Orta zincirli yağ asitleri süt ürünleri, hurma çekirdeği yağı ve Hindistan cevizi yağı gibi belirli yağlarda bulunur. Orta zincirli yağ asitleri uzun zincirli doymuş yağ asitlerine kıyasla hızlı gastrointestinal hidroliz ve emilim, portal ven yoluyla taşınma ve karaciğerde hızlı

beta oksidasyona uğrama gibi farklı fiziksel ve metabolik özelliklere sahiptir (7, 8). Orta zincirli yağ asitlerinin bu özellikleri, özellikle yağ dokusunda yüksek katabolizmaya ve düşük depolamaya yol açar. Bu nedenle diyetle alınan orta zincirli yağ asitlerinin uzun zincirli yağ asitlerine kıyasla daha fazla olumlu etkileri bulunmaktadır (9). Gerçekten de uzun zincirli trigliserit içeren diyetlerle karşılaştırıldığında, orta zincirli yağ asitlerini içeren diyetler sıçanlarda daha az yağ depolanmasına yol açmıştır (35). Fazla kilolu insanlarda, orta zincirli yağ asitlerinden zengin eş kalorili diyet tüketiminin yağ depolanmasını azalttığı ve enerji tüketimini arttırdığı görülmüştür (184). Bir yandan ghrelin hormonunun aktivasyonuna yol açarak büyüme hormonu salgısında ve yağ depolanmasında artışa yol açan kaprilik asit, diğer yandan orta zincirli yağ asitlerinin tipik özelliklerini göstererek yağ katabolizmasını artırmaktadır (14). Dolayısıyla kaprilik asit tüketen kişilerde, özellikle de büyüme çağındaki çocuklarda kaprilik asit tüketiminin büyümeyi nasıl etkileyebileceği bilinmemektedir. Diyet yoluyla ghrelinin aktif formunun artabileceği bulgusu, büyüme hormonu salgısını artırmaya yönelik bir yaklaşım olarak büyük bir potansiyel içermektedir (5, 6).

Ghrelinin büyüme hormonu ve beslenme davranışı üzerindeki etkileri bilinmekle beraber, aktif formuna dönüşümünde kullanılan kaprilik asidin diyetteki düzeyinin aktif ghrelin salgısını nasıl değiştirdiği ve bu değişikliğin hormonun işlevlerini nasıl etkilediğini inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır (13, 19). Üstelik literatürde uzun dönem kaprilik asit uygulamasının aktif açıl ghrelin salgısı, büyümeyle ilişkili hormonların düzeyleri ile büyüme parametreleri ve iştah üzerine etkisini beraberce değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı sıçanlara uzun dönem oral olarak verilen kaprilik asidin açıl ghrelin, büyüme hormonu, IGF-1 ve insülin hormonu düzeylerine olan etkisini, buna bağlı olarak da büyüme ve iştah üzerinde değişiklik oluşturup oluşturmadığını incelemektir. Çalışmamız daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak kaprilik asidin aktif ghrelin hormonu düzeylerini değiştirerek büyümeyi uyarıp uyarmadığını araştırması bakımından önemlidir ve bildiğimiz kadarıyla bu konuda yapılmış ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonucunda büyüme çağındaki sağlıklı sıçanlara oral olarak uygulanan kaprilik asidin serum ghrelin düzeylerinde bir artışa yol açmadığı

bulunmuştur. Çalışmamızda kontrol grubu ile kaprilik asit grupları arasında ya da kaprilik asidin farklı dozları arasında açıl ghrelin düzeyleri açısından herhangi bir fark bulunamamıştır. Literatürde diyetle kaprilik asit takviyesinin aktif ghrelin salgısı üzerine etkisini inceleyen çalışmalar çelişkili sonuçlara sahiptir. Kaşektik hastalarda yapılan bir çalışmada, kaprilik asit içeren bir gıda takviyesinin plazma açıl ghrelin düzeylerini hem tek uygulamadan ve hem de 2 haftalık kullanımdan sonra anlamlı düzeyde arttırdığı gösterilmiştir (13). Başka bir çalışmada orta zincirli trigliserit veya orta zincirli yağ asitlerinden zengin diyetin, farelerde midede toplam ghrelin miktarını değiştirmeden açıl ghrelin düzeylerini arttırdığı bulunmuştur (5). Ayrıca, %65-75 kaprilik asit içeren orta zincirli bir trigliserit karışımı ile diyet takviyesi, domuzlarda dolaşımdaki açıl ghrelin seviyelerinde doz bağımlı bir artışa yol açmıştır (185). Kaur ve ark. tarafından 2020 yılında yapılan diğer bir çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde kaprilik asit takviyesinin total veya açıl ghrelin düzeyleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür (19). Başka bir çalışmada, kaprilik asit takviyesi dolaşımdaki açıl ghrelin düzeyinde herhangi bir değişiklik yapmazken, mide açıl ghrelin ekspresyonunu ve mide kaprilik asit içeriğini artırmıştır (14).

Literatürde kaprilik asit takviyesinin açıl ghrelin düzeyi üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır. Bu durum kaprilik asit takviyesinin süresi ve dozu ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda kaprilik asit takviyesine bağlı olarak açıl ghrelin seviyelerinde bir artış tespit edemeyişimizin nedeni uyguladığımız dozların nispeten günlük tüketim aralığında olması olabilir. Batı tarzı diyetle, orta zincirli yağ asitleri total enerjinin %2'sinden daha az bir oranda yer alır. Kaprilik asidin ise, anne sütü ile beslenme dönemi sona erdiğinde diyetle tek kaynağı inek sütü haline gelir. İnek sütündeki kaprilik asit ise sütün içeriğindeki yağ asitlerinin %1-2'sini oluşturur (186). Kişi başı günlük kaprilik asit tüketimi ortalama 0,28 g'dır (72). Çalışmamızda yer alan kontrol grubuna sadece %0,9'luk sodyum klorür uygulanırken; ikinci gruba 3 mg/kg kaprilik asit ve üçüncü gruba da 6 mg/kg kaprilik asit %0,9'luk sodyum klorür içinde çözülerek uygulanmıştır.

Literatürde bu konu ile ilgili farklı sonuçların elde edilmiş olmasının bir diğer nedeni ghrelinin açıl modifikasyonu için gerekli olan ester bağının hem kimyasal hem

de enzimatik olarak kararsız olması olabilir. Aktif açıl ghrelin, dolaşımında bulunan esterazlar nedeniyle hızlıca parçalanmaktadır. Dolayısıyla hormondaki artışları yakalamak oldukça zordur. Ayrıca dolaşımdaki açıl ghrelin düzeyleri beslenme zamanlarına yakın belirgin artışlar göstermekte, açlık uzadıkça düşmektedir (187). Bu nedenle, dolaşımdaki bazal açıl ghrelin seviyeleri üzerine diyetin etkisini incelemek için deney hayvanlarından aktif beslenme dönemi içinde birkaç saatlik açlık sonrası kan toplamak ve hormon düzeyi ölçmek daha doğru sonuç verebilir. Bizim çalışmamızda sıçanlardan gece açlığını takiben kan örnekleri toplanmıştır. Dolayısıyla kan ghrelin seviyelerindeki artışın yakalanamamış olması söz konusu olabilir.

Çalışmamızın sonucunda gruplar arasında büyüme hormonu düzeyleri karşılaştırıldığında, orta düzey kaprilik asit grubunda kontrol grubuna kıyasla azalma tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Bu azalmanın sebebi kaprilik asidin ghrelini aktive edici etkisinden ziyade büyüme hormonu üzerine doğrudan baskılamasından kaynaklanıyor olabilir. 1980-90'larda yapılmış birkaç hücre kültürü çalışmasında kaprilik asidin büyüme hormonu salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir. Bu makaleler ghrelinin keşfinden önce yayımlanmış olup kaprilik asit ile ghrelin ilişkisinden bahsedilmemektedir. Fakat hücresel düzeyde açıl ghrelin etkisinin aracı olması olası gözükmemekte, dolayısıyla burada başka bir mekanizma üzerinden bu sonuçların ortaya çıktığı düşünülmektedir (188-190). Bir insan çalışmasında, serbest yağ asitleri infüzyonuyla büyüme hormonu salgısının azaldığı, bunun da JAK-STAT yolağı üzerinden olduğu gösterilmiştir. Bahsedilen çalışmada verilen yağ asitleri içinde kaprilik asit yer almamaktadır (191). Yine de tez çalışmamızdaki sonuçlarla beraber ele alındığında, kaprilik asidin açıl ghrelin üzerinden büyüme hormonunu artırması mümkün olsa da diğer yağ asitleri gibi reseptör düzeyinde hormon salgısını baskılaması söz konusu olabilir. Daha uzun süre kaprilik asit takviyesinin uygulandığı bir çalışma planlandığı takdirde büyüme hormonundaki baskılanmanın büyüme parametrelerini etkileyip etkilemediği daha net olarak anlaşılabilir. Çalışmamızda düzeyini ölçtüğümüz büyümeyle ilişkili olan diğer hormonlar olan IGF-1 ve insülin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır.

Çalışmamıza benzer şekilde yapılan bir çalışmada, değişen oranlarda kaprilik asit içerenler yemler uzun dönem verildiğinde plazma açıl ghrelin düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bununla beraber de-açıl ghrelin düzeylerinin, kaprilik asit alan sıçanlarda kontrol grubuna göre azaldığı ve buna bağlı olarak açıl ghrelin/total ghrelin oranlarının da artış gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada IGF-1 düzeylerinin de kaprilik asit alımıyla artış gösterdiği sonucuna da ulaşılmıştır. Ancak bu artışlar hayvan ağırlıklarında veya yem tüketiminde gruplar arası bir farklılığa yol açmamıştır. Bahsi geçen çalışmada yemlerin enerji içerikleri uzun zincirli yağ asitleriyle tamamlanmıştır (14).

Orta zincirli yağ asitlerinin veya tek başına kaprilik asidin canlılarda insülin salgısını artırdığı, bunu da pankreas beta hücrelerinin zar potansiyelini arttırarak yaptığına dair veriler bulunmaktadır (192, 193). Akut dönemdeki bu etkilerinin dışında, orta zincirli yağ asitlerinin insülin metabolizmasını iyileştirdiği, uzun zincirli yağ asitlerinin aksine insülin duyarlılığında bozulmaya yol açmadığı insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Hatta tip 2 diyabet hastalarında insülin direncinin göstergesi olan HOMA-IR değerinde düşüşe yol açtığı gözlemlenmiştir (45, 43). Bizim çalışmamızda insülin hormonu düzeyi, kan glukozu ve glukoz homeostazı göstergeleri açısından gruplar arasında bir fark gözlemlenmemiştir (Tablo 4.6) (Tablo 4.7). Çalışmamızda sağlıklı sıçanlar kullanılması, seçilen kaprilik asit dozu ve uzun zincirli yağ asidi verilen bir grubun bulunmaması gruplar arası fark oluşmamasında etkili olmuş olabilir.

Çalışmamızda oral kaprilik asit uygulamasına başlanmadan önce ve 30 günlük uygulama boyunca sıçanların kilo ve yem tüketimi takipleri yapılmıştır. Her üç grupta da sıçanların haftalık olarak kilo almaya devam ettikleri ancak gruplar arasında anlamlı bir farkın oluşmadığı gözlemlenmiştir. Hayvanların 5'er günlük yem tüketimleri değerlendirildiğinde yem tüketimlerinin her grupta zamana bağlı olarak arttığı görülmüştür. Kaprilik asit gruplarında uygulamanın 33. ve 48. günlerinde yem tüketiminde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış ortaya çıkmışsa da grafikte eğri altı alanların karşılaştırılması sonucu kümülatif yem tüketimi açısından gruplar arasında bir fark yoktur. Hayvanların tükettikleri yem miktarı ağırlığa göre

oranlanarak değerlendirildiğinde yine her grupta zamana bağlı anlamlı değişimler saptanırken, gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kaprilik asidin iştah üzerine akut etkilerini inceleyen çalışmalarda %0,9'luk sodyum klorür veya uzun zincirli yağ asidi verilen kontrol gruplarına göre besin alımında azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Kaprilik asidin anoreksijenik etkisini arkuat nükleustaki propiomelanokortin (POMC) nöronları aracılığıyla gösterdiği ortaya konmuş olup bu makalelerde açıl ghrelinden bahsedilmemektedir (12, 11). Buna karşın besin alımı üzerine anlamlı bir etki ortaya çıkarmadığını gösteren ya da iştahı arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bahsedilen bu çalışmaların ortak noktası ise bu etkilerin akut olarak değil, uzun dönemde değerlendirilmiş olmasıdır (14, 13, 15). Bizim çalışmamızda kaprilik asit verilen grupla kontrol grubu arasında besin tüketimi açısından bir fark ortaya çıkmamıştır (Şekil 4.3). Yine vücut ağırlığına göre yem tüketiminde de gruplar arasında bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.4).

Çalışmamızın başlangıcında postpartum 21. günde temin edilen Wistar albino erkek sıçanlar, ilk 3 günlük uyum dönemlerinde her grupta 10'ar adet olacak şekilde üç gruba ayrılmışlardır. Bu gruplara ayırma işlemi vücut ağırlıkları ve kuyruk uzunlukları dengeli olacak şekilde yapılmıştır. Yer değişiminden kaynaklanan stres nedeniyle ağırlık ölçümleri hatalı olabileceğinden, deney hayvanlarının gruplara ayrılma işlemi postpartum 22. günde yapılmıştır. Grupların postpartum 22. günde ölçülen vücut ağırlıkları ve kuyruk uzunlukları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1). Bu sonuçlar hayvanların gruplara dağılımının dengeli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızın sonunda 8 haftalık olan hayvanların ağırlıkları, kontrol ve kaprilik asit gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir. Bu çalışma Wistar albino sıçanların çocukluk ve ergenlik dönemlerini kapsayacak şekilde yürütülmüştür. Wistar albino erkek sıçanlar, 8. haftada yaklaşık 274-375 g ağırlığa ulaşmaktadır (163). Bizim çalışmamızda da tüm gruplar 8 haftanın sonunda normal büyüklüğe ulaşmış, hiçbirinde gelişme geriliği ya da obeziteye rastlanmamıştır. Literatüre bakıldığında, diyetteki uzun zincirli yağ asitleri yerine orta zincirli yağ asitleri koymak vücut ağırlığında daha az artışa yol açmaktadır (42, 40). Kaprilik asidin tek başına etkisini inceleyen hayvan çalışmalarında ise herhangi bir yağ takviyesi

yapılmayan kontrol grubuna göre vücut ağırlığında uzun dönemde anlamlı bir fark ortaya çıkmamaktadır (5, 194).

Çalışmamızda sıçanların büyümesinin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer parametre kuyruk uzunluğudur. Kuyruk uzunluğunun değerlendirilmesi literatürde sıçanlar için bir büyüme parametresi olarak kabul edilmektedir. Kuyruk uzunluklarına bakıldığında yine gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadığı görülmüştür (Şekil 4.2). Literatürde kaprilik asit ile kemirgenlerin kuyruk uzunluğu gibi büyüme faktörleri arasındaki ilişkiyi inceleyen başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bir hayvan çalışmasında kaprilik asit ağırlıklı orta zincirli yağ asitleri içeren yemle beslenen grupta nazo-anal uzunluklar, uzun zincirli yağ asitleri içeren yem tüketen kontrol grubuna göre daha kısa ölçülmüştür (15). Başka bir çalışmada, 28 gün boyunca oral Hindistan cevizi yağı verilen sıçanlarla verilmeyen kontrol grubu arasında vücut ağırlığı ve Lee indeksi parametreleri açısından anlamlı fark ortaya çıkmamıştır (195). Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre ise ölçülen nazo-anal uzunluk, Lee indeksi ve beden kütle indeksi açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır (Tablo 4.3). Çalışmamızda ayrıca gruplar arasında organ ağırlıkları bakımından da herhangi bir fark tespit edilememiştir. Orta zincirli trigliseritler hakkındaki toksikolojik çalışmaların derlendiği bir makalede, orta zincirli trigliseritlerin organ ağırlıkları üzerinde uzun dönemde bir değişime yol açmadığı bildirilmiştir (28). Bu sonuç, bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir (Tablo 4.4).

Çalışmamızda sıçanlara yağ asidi takviyesi yapılması nedeniyle lipid profilleri ve total protein düzeyleri değerlendirilmiş ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.8). Bir çalışmada, kaprilik asit takviyesi yapılan kaşektik hastalarda total proteinin arttığı, total kolesterolün ise değişmediği gözlenmiştir (13). Bir sıçan çalışmasında ise kaprilik asit ağırlıklı orta zincirli yağ asitlerinden zengin beslenen deney grubunun kontrol grubuna göre HDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri yüksek iken total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (15).

Ketojenik etkisinin yanında orta zincirli yağ asitlerinin özellikle AMPA reseptörü inhibisyonu ve başka mekanizmalarla, epilepsi kontrolünde ve

nörodejeneratif hastalıklarda terapötik etkisi olduğu bilinmektedir (33). Orta zincirli yağ asitlerinin ve keton cisimciklerinin beyindeki etkileri, bazı araştırmacılara bu maddelerin anksiyete ve diğer ruhsal hastalıklardaki semptomların tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda orta zincirli trigliseritlerin keton cisimcikleriyle beraber veya tek başına verildiğinde yükseltilmiş artı labirent testinde ve aydınlık/karanlık kutu deneyinde anksiyete benzeri davranışlarda azalmaya yol açtığı saptanmıştır (68, 18). Ghrelinin anksiyete üzerindeki etkisi ise netlik kazanmamıştır. Ghrelin uygulamasının hem anksiyeteyi arttırıcı hem de anksiyolitik etkilerini gösteren çalışmalara rastlanmıştır (152, 157). Bir meta-analiz çalışmasında ise akut stresin ghrelin düzeylerini anlamlı düzeyde arttırdığı gösterilmiştir (196).

Bizim çalışmamızda da ergenlik döneminde sık karşılaşılan bir sorun olan anksiyete benzeri davranışlar üzerine kaprilik asit takviyesinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla yükseltilmiş artı labirent testi ve aydınlık/karanlık kutu testi kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında hayvanların deney düzeneklerinde geçirdiği süreler ve geçiş sayıları arasında anlamlı fark ortaya konamamıştır (Tablo 4.9) (Tablo 4.11). Ancak bir risk davranışı hareketi olarak kabul edilen baş eğme hareketi sayıları karşılaştırıldığında düşük düzey kaprilik asit verilen grubun, kontrol grubuna göre baş eğme hareketinin daha fazla olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6). Bir başka risk davranışı olan temkinli uzanma hareketi sayıları açısından gruplar arasında fark görülmemiştir (Tablo 4.10). Yükseltilmiş artı labirentte temel alınan parametreler açık ve kapalı kollarda geçirilen süreler olduğundan, beraberce değerlendirildiğinde tek başına risk davranışı sayısının farklılığının anksiyete göstergesi olmadığı kanısına varılmıştır. Literatürde orta zincirli yağ asitlerinin anksiyeteye etkisini inceleyen çalışma sayısı oldukça az olmakla beraber tek başına kaprilik asidin anksiyete üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmaya rastlanmadığından yorum yapmak güçtür. Ancak bizim çalışmamızda, oral olarak uygulanan kaprilik asit miktarının anksiyete davranışı üzerinde anlamlı bir değişiklik yapacak düzeyde olmadığı söylenebilir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirilirken kısıtlılıkları da göz önüne alınmalıdır:

- Çalışmamızda kullanılan kaprilik asit dozları seçilirken günlük tüketim sınırları içinde seçilmesine özen gösterilmiştir. Daha yüksek kaprilik asit dozlarının kullanılması ölçülen parametrelerde anlamlı sonuçlara neden olabilir ancak kaprilik asit miktarını arttırdıkça daha fazla kalori alımı nedeniyle büyüme ve iştah da etkilenecektir. Literatürde yüksek düzeyde orta zincirli yağ asidi kullanılan çalışmalarda genellikle kontrol grubunun diyetine izokalorik değerde uzun zincirli yağ asitleri veya başka bir yağ eklenmektedir. Eklenen yağın ortaya çıkarabileceği etkiler göz ardı edilemeyeceğinden, bu çalışmada kontrol grubuna sadece kaprilik asidin çözücüsü olan %0,9'luk sodyum klorür verilmiştir.
- Çalışmamızda sıçanlardan kan keton düzeyi ölçümü yapılmamıştır. Kaprilik asit bir orta zincirli yağ asidi olarak keton cisimciklerinin artışına yol açmaktadır. Elde ettiğimiz bulguların kan keton düzeyleriyle beraber değerlendirilmesi, verilen kaprilik asit ile büyüme, glukoz homeostazı ve anksiyete düzeyi arasındaki ilişkinin daha doğru olarak yorumlanmasını sağlayacaktır.
- Çalışmamızda açıl ghrelin ve ona bağlı olarak düzeyinin değişmesini beklediğimiz diğer hormon düzeyleri sadece uygulamanın sonunda ölçülmüştür. Bunun nedeni sık kan örneği toplamanın sıçanlar üzerinde stres yaratarak büyümeyi olumsuz etkilemesinden kaçınmaktır.
- Çalışmamızda ayrıca serum de-açıl ghrelin düzeyleri bütçe kısıtlılıkları nedeniyle ölçülemedi. Bu çalışmadan çıkardığımız sonuçlardan birisi de benzer çalışmalar planlanırken total ve de-açıl ghrelin düzeylerinin beraberce ölçülmesi gerektiğidir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızdaki veriler, sıçanlara uygulanan oral kaprilik asidin besin alımı ve vücut ağırlığı üzerinde değişime yol açmadığını göstermektedir. Büyüme döneminde olan sıçanların kuyruk uzamasında gruplar arasında farklılık ortaya çıkmamış, deney sonunda ölçülen nazo-anal uzunluk ve bu değer ile hesaplanan Lee indeksi ve beden kütle indeksi ortalamaları kaprilik asit alımıyla değişmemiştir. Plazma açıl ghrelin, IGF-1 ve insülin hormonu düzeyleri gruplar arasında anlamlı bir farka sahip değildir. Ancak orta düzey kaprilik asit grubunda büyüme hormonu düzeyi kontrol grubuna kıyasla daha düşük olarak bulunmuştur. Büyüme hormonu düzeyindeki bu azalma büyümede herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır. Plazma total protein, trigliserit, total kolesterol, HDL ve LDL kolesterol düzeyleri yine gruplar arasında anlamlı farka sahip değildir. Kan glukozu için başlangıçta ve sonda ölçülen değerler arasında belirgin bir fark bulunamamıştır. Glukoz homeostazi göstergeleri olan HOMA-IR ile QUICKI değerleri hesaplanmış ve gruplar arasında anlamlı farklılık saptanamamıştır. Sıçanların anksiyete düzeyleri karşılaştırıldığında yine anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Bu tez çalışması, kaprilik asidin büyüme çağındaki sıçanlarda büyüme, besin tüketimi ile açıl ghrelin, büyüme hormonu ve anksiyete düzeylerini beraberce inceleyen ilk çalışma olması bakımından önemlidir. Kaprilik asit ve ghrelin hormonu arasındaki etkileşimi ve bu etkileşimin büyüme ile ilişkili hormon düzeyleri, büyüme parametreleri, iştah ve anksiyete üzerine etkisini aydınlatacak daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Konu ile ilgili yapılacak olan yeni çalışmaların insanlar üzerinde yapılması ve farklı doz ve sürelerin denenmesi kaprilik asit-ghrelin arasındaki etkileşime ışık tutacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H. ve Kangawa, K. (1999), Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762), 656-660.
2. Delporte, C. (2013), Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)*, 2013, 518909.
3. Kojima, M. ve Kangawa, K. (2005), Ghrelin: Structure and function. *Physiological Reviews*, 85(2), 495-522.
4. Kojima, M., Ida, T. ve Sato, T. (2008), Structure of mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm*, 77, 31-46.
5. Nishi, Y., Hiejima, H., Hosoda, H., Kaiya, H., Mori, K., Fukue, Y. ve ark. (2005), Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology*, 146(5), 2255-2264.
6. Kirchner, H., Gutierrez, J.A., Solenberg, P.J., Pfluger, P.T., Czyzyk, T.A., Willency, J.A. ve ark. (2009), GOAT links dietary lipids with the endocrine control of energy balance. *Nat Med*, 15(7), 741-745.
7. Marten, B., Pfeuffer, M. ve Schrezenmeir, J. (2006), Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16(11), 1374-1382.
8. Bach, A.C. ve Babayan, V.K. (1982), Medium-Chain Triglycerides - an Update. *American Journal of Clinical Nutrition*, 36(5), 950-962.
9. Papamandjaris, A.A., MacDougall, D.E. ve Jones, P.J.H. (1998), Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: Obesity treatment implications. *Life Sciences*, 62(14), 1203-1215.
10. Nagao, K. ve Yanagita, T. (2010), Medium-chain fatty acids: functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Pharmacol Res*, 61(3), 208-212.

11. Haynes, V.R., Michael, N.J., van den Top, M., Zhao, F.Y., Brown, R.D., De Souza, D. ve ark. (2020), A Neural basis for Octanoic acid regulation of energy balance. *Mol Metab*, 34, 54-71.
12. Jambor de Sousa, U.L., Arnold, M., Langhans, W., Geary, N. ve Leonhardt, M. (2006), Caprylic acid infusion acts in the liver to decrease food intake in rats. *Physiol Behav*, 87(2), 388-395.
13. Ashitani, J., Matsumoto, N. ve Nakazato, M. (2009), Effect of octanoic acid-rich formula on plasma ghrelin levels in cachectic patients with chronic respiratory disease. *Nutrition Journal*, 8, 25.
14. Lemarie, F., Beauchamp, E., Dayot, S., Duby, C., Legrand, P. ve Rioux, V. (2015), Dietary Caprylic Acid (C8:0) Does Not Increase Plasma Acylated Ghrelin but Decreases Plasma Unacylated Ghrelin in the Rat. *PLoS One*, 10(7), e0133600.
15. Marcal, A.C., Camporez, J.P.G., Lima-Salgado, T.M., Cintra, D.E., Akamine, E.H., Ribeiro, L.M. ve ark. (2013), Changes in food intake, metabolic parameters and insulin resistance are induced by an isoenergetic, medium-chain fatty acid diet and are associated with modifications in insulin signalling in isolated rat pancreatic islets. *British Journal of Nutrition*, 109(12), 2154-2165.
16. Shinohara, H., Fukumitsu, H., Seto, A. ve Furukawa, S. (2013), Medium-chain fatty acid-containing dietary oil alleviates the depression-like behaviour in mice exposed to stress due to chronic forced swimming. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 601-606.
17. Wang, D. ve Mitchell, E.S. (2016), Cognition and Synaptic-Plasticity Related Changes in Aged Rats Supplemented with 8- and 10-Carbon Medium Chain Triglycerides. *PLoS One*, 11(8), e0160159.
18. Hollis, F., Mitchell, E.S., Canto, C., Wang, D. ve Sandi, C. (2018), Medium chain triglyceride diet reduces anxiety-like behaviors and enhances social competitiveness in rats. *Neuropharmacology*, 138, 245-256.
19. Kaur, H., Muhlhausler, B.S., Sim, P.S.-L., Page, A.J., Li, H., Nunez-Salces, M. ve ark. (2020), Pregnancy, but not dietary octanoic acid supplementation, stimulates the ghrelin-pituitary growth hormone axis in mice. *Journal of Endocrinology*, 245(2), 327-342.

20. Finley, J.W. ve deMan, J.M. (2018), Lipids. Principles of Food Chemistry. 39-116.
21. Olzmann, J.A. ve Carvalho, P. (2019), Dynamics and functions of lipid droplets. Nat Rev Mol Cell Biol, 20(3), 137-155.
22. Costa-Pinto, R. ve Gantner, D. (2020), Macronutrients, minerals, vitamins and energy. Anaesthesia and Intensive Care Medicine, 21(3), 157-161.
23. Burdge, G.C. ve Calder, P.C. (2015), Introduction to fatty acids and lipids. World Rev Nutr Diet, 112, 1-16.
24. Rustan, A.C. ve Drevon, C.A. (2001), Fatty acids: structures and properties. e LS.
25. Tvrzicka, E., Kremmyda, L.S., Stankova, B. ve Zak, A. (2011), Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease--a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 155(2), 117-130.
26. Bezard, J. ve Bugaut, M. (1986), Absorption of glycerides containing short, medium, and long chain fatty acids. Fat absorption, 1, 119-158.
27. Ratnayake, W.M.N. ve Galli, C. (2009), Fat and Fatty Acid Terminology, Methods of Analysis and Fat Digestion and Metabolism: A Background Review Paper. Annals of Nutrition and Metabolism, 55(1-3), 8-43.
28. Traul, K.A., Driedger, A., Ingle, D.L. ve Nakhasi, D. (2000), Review of the toxicologic properties of medium-chain triglycerides. Food and Chemical Toxicology, 38(1), 79-98.
29. Clark, S.B., Brause, B. ve Holt, P.R. (1969), Lipolysis and absorption of fat in the rat stomach. Gastroenterology, 56(2), 214-222.
30. Faber, J., Goldstein, R., Blondheim, O., Stankiewicz, H., Darwashi, A., Bar-Maor, J.A. ve ark. (1988), Absorption of medium chain triglycerides in the stomach of the human infant. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 7(2), 189-195.

31. Lemarie, F., Beauchamp, E., Drouin, G., Legrand, P. ve Rioux, V. (2018), Dietary caprylic acid and ghrelin O-acyltransferase activity to modulate octanoylated ghrelin functions: What is new in this nutritional field? *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 135, 121-127.
32. Pietrocola, F., Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J.M., Madeo, F. ve Kroemer, G. (2015), Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. *Cell Metab*, 21(6), 805-821.
33. Augustin, K., Khabbush, A., Williams, S., Eaton, S., Orford, M., Cross, J.H. ve ark. (2018), Mechanisms of action for the medium-chain triglyceride ketogenic diet in neurological and metabolic disorders. *Lancet Neurol*, 17(1), 84-93.
34. Dhillon, K.K. ve Gupta, S. (2022), *Biochemistry, Ketogenesis*. StatPearls.
35. Baba, N., Bracco, E.F. ve Hashim, S.A. (1982), Enhanced Thermogenesis and Diminished Deposition of Fat in Response to Overfeeding with Diet Containing Medium Chain Triglyceride. *American Journal of Clinical Nutrition*, 35(4), 678-682.
36. Seaton, T.B., Welle, S.L., Warenko, M.K. ve Campbell, R.G. (1986), Thermic effect of medium-chain and long-chain triglycerides in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44(5), 630-634.
37. Cisneros, L.C.V., Moreno, A.G.M., Lopez-Espinoza, A. ve Espinoza-Gallardo, A.C. (2019), Effect of the fatty acid composition of meals on postprandial energy expenditure: a systematic review. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 65(7), 1022-1031.
38. Bach, A.C., Ingenbleek, Y. ve Frey, A. (1996), The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J Lipid Res*, 37(4), 708-726.
39. Swinburn, B.A., Sacks, G., Hall, K.D., McPherson, K., Finegood, D.T., Moodie, M.L. ve ark. (2011), The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*, 378(9793), 804-814.

40. Mumme, K. ve Stonehouse, W. (2015), Effects of medium-chain triglycerides on weight loss and body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Acad Nutr Diet*, 115(2), 249-263.
41. Rothwell, N.J. ve Stock, M.J. (1987), Stimulation of thermogenesis and brown fat activity in rats fed medium chain triglyceride. *Metabolism*, 36(2), 128-130.
42. Lasekan, J.B., Rivera, J., Hirvonen, M.D., Keeseey, R.E. ve Ney, D.M. (1992), Energy expenditure in rats maintained with intravenous or intragastric infusion of total parenteral nutrition solutions containing medium- or long-chain triglyceride emulsions. *J Nutr*, 122(7), 1483-1492.
43. Wein, S., Wolffram, S., Schrezenmeir, J., Gasperikova, D., Klimes, I. ve Sebokova, E. (2009), Medium-chain fatty acids ameliorate insulin resistance caused by high-fat diets in rats. *Diabetes Metab Res Rev*, 25(2), 185-194.
44. Eckel, R.H., Hanson, A.S., Chen, A.Y., Berman, J.N., Yost, T.J. ve Brass, E.P. (1992), Dietary substitution of medium-chain triglycerides improves insulin-mediated glucose metabolism in NIDDM subjects. *Diabetes*, 41(5), 641-647.
45. Han, J.R., Deng, B., Sun, J., Chen, C.G., Corkey, B.E., Kirkland, J.L. ve ark. (2007), Effects of dietary medium-chain triglyceride on weight loss and insulin sensitivity in a group of moderately overweight free-living type 2 diabetic Chinese subjects. *Metabolism*, 56(7), 985-991.
46. Han, J., Hamilton, J.A., Kirkland, J.L., Corkey, B.E. ve Guo, W. (2003), Medium-chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic genes in rats. *Obes Res*, 11(6), 734-744.
47. Tantibhedhyangkul, P. ve Hashim, S.A. (1975), Medium-Chain Triglyceride Feeding in Premature-Infants - Effects on Fat and Nitrogen Absorption. *Pediatrics*, 55(3), 359-370.
48. Tantibhedhyangkul, P. ve Hashim, S.A. (1978), Medium-Chain Triglyceride Feeding in Premature-Infants - Effects on Calcium and Magnesium Absorption. *Pediatrics*, 61(4), 537-545.
49. Musunuru, K. (2010), Atherogenic dyslipidemia: cardiovascular risk and dietary intervention. *Lipids*, 45(10), 907-914.

50. American Heart Association Nutrition, C., Lichtenstein, A.H., Appel, L.J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S. ve ark. (2006), Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114(1), 82-96.
51. Chowdhury, R., Warnakula, S., Kunutsor, S., Crowe, F., Ward, H.A., Johnson, L. ve ark. (2014), Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 160(6), 398-406.
52. Panth, N., Abbott, K.A., Dias, C.B., Wynne, K. ve Garg, M.L. (2018), Differential effects of medium- and long-chain saturated fatty acids on blood lipid profile: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108(4), 675-687.
53. Nordestgaard, B.G., Madsen, C.M. ve Varbo, A. (2017), Extreme High High-Density Lipoprotein Cholesterol Is Paradoxically Associated with High Mortality in Men and Women: Two Prospective Cohort Studies. *Atherosclerosis*, 263, E89-E89.
54. Mazidi, M., Mikhailidis, D.P. ve Banach, M. (2019), Associations between risk of overall mortality, cause-specific mortality and level of inflammatory factors with extremely low and high high-density lipoprotein cholesterol levels among American adults. *International Journal of Cardiology*, 276, 242-247.
55. Jensen, N.J., Wodschow, H.Z., Nilsson, M. ve Rungby, J. (2020), Effects of Ketone Bodies on Brain Metabolism and Function in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*, 21(22).
56. Wheless, J.W. (2008), History of the ketogenic diet. *Epilepsia*, 49 Suppl 8, 3-5.
57. Baranano, K.W. ve Hartman, A.L. (2008), The ketogenic diet: uses in epilepsy and other neurologic illnesses. *Curr Treat Options Neurol*, 10(6), 410-419.
58. Winesett, S.P., Bessone, S.K. ve Kossoff, E.H.W. (2015), The ketogenic diet in pharmaco-resistant childhood epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 15(6), 621-628.

59. Huttenlocher, P.R., Wilbourn, A.J. ve Signore, J.M. (1971), Medium-Chain Triglycerides as a Therapy for Intractable Childhood Epilepsy. *Neurology*, 21(11), 1097-1103.
60. Liu, Y.M.C. (2008), Medium-chain triglyceride (MCT) ketogenic therapy. *Epilepsia*, 49, 33-36.
61. Gasior, M., Rogawski, M.A. ve Hartman, A.L. (2006), Neuroprotective and disease-modifying effects of the ketogenic diet. *Behav Pharmacol*, 17(5-6), 431-439.
62. Avgerinos, K.I., Egan, J.M., Mattson, M.P. ve Kapogiannis, D. (2020), Medium Chain Triglycerides induce mild ketosis and may improve cognition in Alzheimer's disease. A systematic review and meta-analysis of human studies. *Ageing Research Reviews*, 58.
63. Yomogida, Y., Matsuo, J., Ishida, I., Ota, M., Nakamura, K., Ashida, K. ve ark. (2021), An fMRI Investigation into the Effects of Ketogenic Medium-Chain Triglycerides on Cognitive Function in Elderly Adults: A Pilot Study. *Nutrients*, 13(7).
64. Ota, M., Matsuo, J., Ishida, I., Hattori, K., Teraishi, T., Tonouchi, H. ve ark. (2016), Effect of a ketogenic meal on cognitive function in elderly adults: potential for cognitive enhancement. *Psychopharmacology (Berl)*, 233(21-22), 3797-3802.
65. Whiteford, H.A., Degenhardt, L., Rehm, J., Baxter, A.J., Ferrari, A.J., Erskine, H.E. ve ark. (2013), Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 382(9904), 1575-1586.
66. Norwitz, N.G. ve Naidoo, U. (2021), Nutrition as Metabolic Treatment for Anxiety. *Front Psychiatry*, 12, 598119.
67. Sarris, J., Logan, A.C., Akbaraly, T.N., Amminger, G.P., Balanza-Martinez, V., Freeman, M.P. ve ark. (2015), Nutritional medicine as mainstream in psychiatry. *Lancet Psychiatry*, 2(3), 271-274.

68. Ari, C., Kovacs, Z., Juhasz, G., Murdun, C., Goldhagen, C.R., Koutnik, A.P. ve ark. (2016), Exogenous Ketone Supplements Reduce Anxiety-Related Behavior in Sprague-Dawley and Wistar Albino Glaxo/Rijswijk Rats. *Front Mol Neurosci*, 9, 137.
69. PubChem Compound Summary for CID 379, Octanoic acid. Erişim adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Octanoic-acid>.
70. The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals (2006), 286.
71. Jenner, P.M., Hagan, E.C., Jean M. Taylor, J.M., Cook, E.L. ve Fitzhugh, O.G. (1964), Food flavourings and compounds of related structure I. Acute oral toxicity. *Food and Cosmetics Toxicology*, 2, 327-343.
72. US Department of Agriculture, A.R.S. Nutrient Intakes from Food and Beverages: Mean Amounts Consumed per Individual, by Gender and Age in the United States, 2017-2018. Erişim adresi: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400530/pdf/1718/tables_1-56_2017-2018.pdf.
73. Yamato, M., Sakata, I., Wada, R., Kaiya, H. ve Sakai, T. (2005), Exogenous administration of octanoic acid accelerates octanoylated ghrelin production in the proventriculus of neonatal chicks. *Biochem Biophys Res Commun*, 333(2), 583-589.
74. Fukumori, R., Sugino, T., Shingu, H., Moriya, N., Kobayashi, H., Hasegawa, Y. ve ark. (2013), Ingestion of medium chain fatty acids by lactating dairy cows increases concentrations of plasma ghrelin. *Domest Anim Endocrinol*, 45(4), 216-223.
75. Lemarie, F., Cavalier, J.F., Garcia, C., Boissel, F., Point, V., Catheline, D. ve ark. (2016), Effect of preduodenal lipase inhibition in suckling rats on dietary octanoic acid (C8:0) gastric absorption and plasma octanoylated ghrelin concentration. *Biochim Biophys Acta*, 1861(9 Pt A), 1111-1120.
76. Sato, T., Nakamura, Y., Shiimura, Y., Ohgusu, H., Kangawa, K. ve Kojima, M. (2012), Structure, regulation and function of ghrelin. *Journal of Biochemistry*, 151(2), 119-128.

77. Yin, Y., Li, Y. ve Zhang, W.Z. (2014), The Growth Hormone Secretagogue Receptor: Its Intracellular Signaling and Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3), 4837-4855.
78. Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H. ve Kangawa, K. (2000), Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun*, 279(3), 909-913.
79. Yang, J., Brown, M.S., Liang, G., Grishin, N.V. ve Goldstein, J.L. (2008), Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell*, 132(3), 387-396.
80. Lim, C.T., Kola, B., Grossman, A. ve Korbonits, M. (2011), The expression of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) in human tissues. *Endocrine Journal*, 58(8), 707-710.
81. Kojima, M., Hamamoto, A. ve Sato, T. (2016), Ghrelin O-acyltransferase (GOAT), a specific enzyme that modifies ghrelin with a medium-chain fatty acid. *Journal of Biochemistry*, 160(4), 189-194.
82. Inui, A., Asakawa, A., Bowers, C.Y., Mantovani, G., Laviano, A., Meguid, M.M. ve ark. (2004), Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *Faseb Journal*, 18(3), 439-456.
83. Khatib, N., Gaidhane, S., Gaidhane, A.M., Khatib, M., Simkhada, P., Gode, D. ve ark. (2014), Ghrelin: Ghrelin as a Regulatory Peptide in Growth Hormone Secretion. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(8), 13-27.
84. Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T. ve ark. (2001), Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(10), 4753-4758.
85. Dornonville de la Cour, C., Björkqvist, M., Sandvik, A.K., Bakke, I., Zhao, C.M., Chen, D. ve ark. (2001), A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regulatory Peptides*, 99(2-3), 141-150.

86. Banks, W.A., Tschop, M., Robinson, S.M. ve Heiman, M.L. (2002), Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(2), 822-827.
87. Date, Y. (2012), Ghrelin and the Vagus Nerve. *Ghrelin*, 514, 261-269.
88. Date, Y., Murakami, N., Toshinai, K., Matsukura, S., Nijijima, A., Matsuo, H. ve ark. (2002), The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*, 123(4), 1120-1128.
89. Cowley, M.A., Smith, R.G., Diano, S., Tschop, M., Pronchuk, N., Grove, K.L. ve ark. (2003), The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 37(4), 649-661.
90. Patterson, M., Murphy, K.G., le Roux, C.W., Ghatgei, M.A. ve Bloom, S.R. (2005), Characterization of ghrelin-like immunoreactivity in human plasma. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(4), 2205-2211.
91. Purnell, J.Q., Weigle, D.S., Breen, P. ve Cummings, D.E. (2003), Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(12), 5747-5752.
92. Bellone, S., Rapa, A., Vivenza, D., Castellino, N., Petri, A., Bellone, J. ve ark. (2002), Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *Journal of Endocrinological Investigation*, 25(5), Rc13-Rc15.
93. Liu, Y.L., Yakar, S., Otero-Corchon, V., Low, M.J. ve Liu, J.L. (2002), Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-I. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 189(1-2), 97-103.
94. Yin, Y. ve Zhang, W. (2016), The Role of Ghrelin in Senescence: A Mini-Review. *Gerontology*, 62(2), 155-162.

95. Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K. ve ark. (2001), A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 409, 194-198.
96. Tschop, M., Smiley, D.L. ve Heiman, M.L. (2000), Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407(6806), 908-913.
97. Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, M.A., Brynes, A.E., Frost, G.S., Murphy, K.G. ve ark. (2001), Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(12), 5992.
98. Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E. ve Heiman, M.L. (2001), Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 50(4), 707-709.
99. McLaughlin, T., Abbasi, F., Lamendola, C., Frayo, R.S. ve Cummings, D.E. (2004), Plasma ghrelin concentrations are decreased in insulin-resistant obese adults relative to equally obese insulin-sensitive controls. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(4), 1630-1635.
100. Cummings, D.E., Weigle, D.S., Frayo, R.S., Breen, P.A., Ma, M.K., Dellinger, E.P. ve ark. (2002), Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med*, 346(21), 1623-1630.
101. Nagaya, N., Uematsu, M., Kojima, M., Date, Y., Nakazato, M., Okumura, H. ve ark. (2001), Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure - Relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation*, 104(17), 2034-2038.
102. Wisse, B.E., Frayo, R.S., Schwartz, M.W. ve Cummings, D.E. (2001), Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in rats. *Endocrinology*, 142(8), 3292-3301.
103. Foster-Schubert, K.E., Overduin, J., Prudom, C.E., Liu, J., Callahan, H.S., Gaylann, B.D. ve ark. (2008), Acyl and total ghrelin are suppressed strongly by ingested proteins, weakly by lipids, and biphasically by carbohydrates. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(5), 1971-1979.

104. Chen, H.Y., Trumbauer, M.E., Chen, A.S., Weingarh, D.T., Adams, J.R., Frazier, E.G. ve ark. (2004), Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*, 145(6), 2607-2612.
105. Kirchner, H., Heppner, K.M. ve Tschop, M.H. (2012), The role of ghrelin in the control of energy balance. *Handb Exp Pharmacol*, (209), 161-184.
106. Liu, J., Prudom, C.E., Nass, R., Pezzoli, S.S., Oliveri, M.C., Johnson, M.L. ve ark. (2008), Novel ghrelin assays provide evidence for independent regulation of ghrelin acylation and secretion in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(5), 1980-1987.
107. Frecka, J.M. ve Mattes, R.D. (2008), Possible entrainment of ghrelin to habitual meal patterns in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 294(3), G699-707.
108. Theander-Carrillo, C., Wiedmer, P., Cettour-Rose, P., Nogueiras, R., Perez-Tilve, D., Pfluger, P. ve ark. (2006), Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *J Clin Invest*, 116(7), 1983-1993.
109. Murray, P.G. ve Clayton, P.E. (2013), Endocrine control of growth. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 163C(2), 76-85.
110. Rosenbloom, A.L. (2007), Physiology of Growth. *Annales Nestlé*, 65, 97-108.
111. Meinhardt, U.J. ve Ho, K.K. (2006), Modulation of growth hormone action by sex steroids. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 65(4), 413-422.
112. Muller, E.E., Locatelli, V. ve Cocchi, D. (1999), Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiol Rev*, 79(2), 511-607.
113. Zeitler, P., Vician, L., Chowen-Breed, J.A., Argente, J., Tannenbaum, G.S., Clifton, D.K. ve ark. (1990), Regulation of somatostatin and growth hormone-releasing hormone gene expression in the rat brain. *Metabolism*, 39(9 Suppl 2), 46-49.
114. Benyi, E. ve Savendahl, L. (2017), The Physiology of Childhood Growth: Hormonal Regulation. *Horm Res Paediatr*, 88(1), 6-14.

115. van der Lely, A.J., Tschop, M., Heiman, M.L. ve Ghigo, E. (2004), Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews*, 25(3), 426-457.
116. Bowers, C.Y., Momany, F., Reynolds, G.A., Chang, D., Hong, A. ve Chang, K. (1980), Structure-Activity-Relationships of a Synthetic Pentapeptide That Specifically Releases Growth-Hormone In vitro. *Endocrinology*, 106(3), 663-667.
117. Howard, A.D., Feighner, S.D., Cully, D.F., Arena, J.P., Liberators, P.A., Rosenblum, C.I. ve ark. (1996), A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 273(5277), 974-977.
118. McKee, K.K., Palyha, O.C., Feighner, S.D., Hreniuk, D.L., Tan, C.P., Phillips, M.S. ve ark. (1997), Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Molecular Endocrinology*, 11(4), 415-423.
119. Ueberberg, B., Unger, N., Saeger, W., Mann, K. ve Petersenn, S. (2009), Expression of Ghrelin and its Receptor in Human Tissues. *Hormone and Metabolic Research*, 41(11), 814-821.
120. Pombo, M., Pombo, C.M., Garcia, A., Caminos, E., Gualillo, O., Alvarez, C.V. ve ark. (2001), Hormonal control of growth hormone secretion. *Hormone Research*, 55, 11-16.
121. Shimada, M., Date, Y., Mondal, M.S., Toshinai, K., Shimbara, T., Fukunaga, K. ve ark. (2003), Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 302(3), 520-525.
122. Date, Y., Murakami, N., Kojima, M., Kuroiwa, T., Matsukura, S., Kangawa, K. ve ark. (2000), Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275(2), 477-480.
123. Cordido, F., Isidro, M.L., Nemina, R. ve Sangiao-Alvarellos, S. (2009), Ghrelin and growth hormone secretagogues, physiological and pharmacological aspect. *Curr Drug Discov Technol*, 6(1), 34-42.

124. Veldhuis, J.D., Reynolds, G.A., Iranmanesh, A. ve Bowers, C.Y. (2008), Twenty-four hour continuous ghrelin infusion augments physiologically pulsatile, nycthemeral, and entropic (feedback-regulated) modes of growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(9), 3597-3603.
125. Organization, W.H. (2006), WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development. World Health Organization.
126. van Gool, S.A., Wit, J.M., De Schutter, T., De Clerck, N., Postnov, A.A., Kremer Hovinga, S. ve ark. (2010), Impaired body weight and tail length gain and altered bone quality after treatment with the aromatase inhibitor exemestane in male rats. *Horm Res Paediatr*, 73(5), 376-385.
127. Figueiredo, I.L., Frota, P.B., da Cunha, D.G., da Silva Raposo, R., Canuto, K.M., de Andrade, G.M. ve ark. (2016), Prolonged maternal separation induces undernutrition and systemic inflammation with disrupted hippocampal development in mice. *Nutrition*, 32(9), 1019-1027.
128. Mitchell, J.A., Hutchins, M., Schindler, W.J. ve Critchlow, V. (1973), Increases in Plasma Growth-Hormone Concentration and Naso-Anal Length in Rats Following Isolation of Medial Basal Hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 12(3), 161-173.
129. Crawford, M.S., Gumprich, E. ve Sweazea, K.L. (2019), A novel organic mineral complex prevented high fat diet-induced hyperglycemia, endotoxemia, liver injury and endothelial dysfunction in young male Sprague-Dawley rats. *PLoS One*, 14(8), e0221392.
130. Trieb, G., Pappritz, G. ve Lutzen, L. (1976), Allometric Analysis of Organ Weights .1. Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 35(3), 531-542.
131. Mirfazaelian, A. ve Fisher, J.W. (2007), Organ growth functions in maturing male Sprague-Dawley rats based on a collective database. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues*, 70(11-12), 1052-1063.
132. Alamri, B.N., Shin, K., Chappe, V. ve Anini, Y. (2016), The role of ghrelin in the regulation of glucose homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 26(1), 3-11.

- 133.** Broglio, F., Arvat, E., Benso, A., Gottero, C., Muccioli, G., Papotti, M. ve ark. (2001), Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(10), 5083-5086.
- 134.** Barnett, B.P., Hwang, Y., Taylor, M.S., Kirchner, H., Pfluger, P.T., Bernard, V. ve ark. (2010), Glucose and weight control in mice with a designed ghrelin O-acyltransferase inhibitor. *Science*, 330(6011), 1689-1692.
- 135.** Zhao, T.J., Liang, G.S., Li, R.L., Xie, X.F., Sleeman, M.W., Murphy, A.J. ve ark. (2010), Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is essential for growth hormone-mediated survival of calorie-restricted mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(16), 7467-7472.
- 136.** Salehi, A., de la Cour, C.D., Hakanson, R. ve Lundquist, I. (2004), Effects of ghrelin on insulin and glucagon secretion: a study of isolated pancreatic islets and intact mice. *Regulatory Peptides*, 118(3), 143-150.
- 137.** Reimer, M.K., Pacini, G. ve Ahren, B. (2003), Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 144(3), 916-921.
- 138.** Lee, H.M., Wang, G.Y., Englander, E.W., Kojima, M. ve Greeley, G.H. (2002), Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: Enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology*, 143(1), 185-190.
- 139.** Poykko, S.M., Kellokoski, E., Horkko, S., Kauma, H., Kesaniemi, Y.A. ve Ukkola, O. (2003), Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes*, 52(10), 2546-2553.
- 140.** Mani, B.K., Shankar, K. ve Zigman, J.M. (2019), Ghrelin's Relationship to Blood Glucose. *Endocrinology*, 160(5), 1247-1261.
- 141.** Gauna, C., Delhanty, P.J.D., Hofland, L.J., Janssen, J.A.M.J.L., Broglio, F., Ross, R.J.M. ve ark. (2005), Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(2), 1055-1060.

142. Sakurada, T., Ro, S., Onouchi, T., Ohno, S., Aoyama, T., Chinen, K. ve ark. (2010), Comparison of the actions of acylated and desacylated ghrelin on acid secretion in the rat stomach. *Journal of Gastroenterology*, 45(11), 1111-1120.
143. Fukumoto, K., Nakahara, K., Katayama, T., Miyazatao, M., Kangawa, K. ve Murakami, N. (2008), Synergistic action of gastrin and ghrelin on gastric acid secretion in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374(1), 60-63.
144. Chen, C.Y. ve Tsai, C.Y. (2012), Ghrelin and Motilin in the Gastrointestinal System. *Current Pharmaceutical Design*, 18(31), 4755-4765.
145. Arvat, E., Maccario, M., Di Vito, L., Broglio, F., Benso, A., Gottero, C. ve ark. (2001), Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: Comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3), 1169-1174.
146. Muccioli, G., Tschop, M., Papotti, M., Deghenghi, R., Heiman, M. ve Ghigo, E. (2002), Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *European Journal of Pharmacology*, 440(2-3), 235-254.
147. Takaya, K., Ariyasu, H., Kanamoto, N., Iwakura, H., Yoshimoto, A., Harada, M. ve ark. (2000), Ghrelin strongly stimulates growth hormone (GH) release in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(12), 4908-4911.
148. Benso, A., Calvi, E., Gramaglia, E., Olivetti, I., Tomelini, M., Ghigo, E. ve ark. (2013), Other than Growth Hormone Neuroendocrine Actions of Ghrelin. *Ghrelin System*, 25, 59-68.
149. Lanfranco, F., Bonelli, L., Baldi, M., Me, E., Broglio, F. ve Ghigo, E. (2008), Acylated ghrelin inhibits spontaneous luteinizing hormone pulsatility and responsiveness to naloxone but not that to gonadotropin-releasing hormone in young men: Evidence for a central inhibitory action of ghrelin on the gonadal axis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(9), 3633-3639.
150. Kluge, M., Uhr, M., Bleninger, P., Yassouridis, A. ve Steiger, A. (2009), Ghrelin suppresses secretion of FSH in males. *Clinical Endocrinology*, 70(6), 920-923.

151. Fernandez-Fernandez, R., Tena-Sempere, M., Navarro, V.M., Barreiro, M.L., Castellano, J.M., Aguilar, E. ve ark. (2005), Effects of ghrelin upon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin secretion in adult female rats: In vivo and in vitro studies. *Neuroendocrinology*, 82(5-6), 245-255.
152. Carlini, V.P., Monzon, M.E., Varas, M.M., Cragolini, A.B., Schioth, H.B., Scimonelli, T.N. ve ark. (2002), Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 299(5), 739-743.
153. Kunath, N. ve Dresler, M. (2014), Ghrelin and Memory. *Central Functions of the Ghrelin Receptor*. 167-175.
154. Asakawa, A., Inui, A., Kaga, T., Yuzuriha, H., Nagata, T., Fujimiya, M. ve ark. (2001), A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice. *Neuroendocrinology*, 74(3), 143-147.
155. Jackson, T.M., Ostrowski, T.D. ve Middlemas, D.S. (2019), Intracerebroventricular Ghrelin Administration Increases Depressive-Like Behavior in Male Juvenile Rats. *Front Behav Neurosci*, 13, 77.
156. Lutter, M., Sakata, I., Osborne-Lawrence, S., Rovinsky, S.A., Anderson, J.G., Jung, S. ve ark. (2008), The orexigenic hormone ghrelin defends against depressive symptoms of chronic stress. *Nat Neurosci*, 11(7), 752-753.
157. Jensen, M., Ratner, C., Rudenko, O., Christiansen, S.H., Skov, L.J., Hundahl, C. ve ark. (2016), Anxiolytic-Like Effects of Increased Ghrelin Receptor Signaling in the Amygdala. *Int J Neuropsychopharmacol*, 19(5).
158. Alvarez-Crespo, M., Skibicka, K.P., Farkas, I., Molnar, C.S., Egecioglu, E., Hrabovszky, E. ve ark. (2012), The Amygdala as a Neurobiological Target for Ghrelin in Rats: Neuroanatomical, Electrophysiological and Behavioral Evidence. *PLoS One*, 7(10).
159. Merikangas, K.R., Nakamura, E.F. ve Kessler, R.C. (2009), Epidemiology of mental disorders in children and adolescents. *Dialogues Clin Neurosci*, 11(1), 7-20.
160. Ozmen, S., Seker, A. ve Demirci, E. (2019), Ghrelin and leptin levels in children with anxiety disorders. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 32(10), 1043-1047.

161. Sengupta, P. (2013), The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*, 4(6), 624-630.
162. Roach, H.I., Mehta, G., Oreffo, R.O., Clarke, N.M. ve Cooper, C. (2003), Temporal analysis of rat growth plates: cessation of growth with age despite presence of a physis. *J Histochem Cytochem*, 51(3), 373-383.
163. Average and Range Weights. Rat and Mice Weights. Erişim adresi: https://www.arc.wa.gov.au/?page_id=125.
164. Machholz, E., Mulder, G., Ruiz, C., Corning, B.F. ve Pritchett-Corning, K.R. (2012), Manual restraint and common compound administration routes in mice and rats. *J Vis Exp*, (67).
165. Kadota, Y., Toyoda, T., Hayashi-Kato, M., Kitaura, Y. ve Shimomura, Y. (2015), Octanoic acid promotes branched-chain amino acid catabolisms via the inhibition of hepatic branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase in rats. *Metabolism*, 64(9), 1157-1164.
166. Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C. ve Vasbinder, M.A. (2011), Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 50(5), 600-613.
167. Fernando-Warnakulasuriya, G.J., Staggers, J.E., Frost, S.C. ve Wells, M.A. (1981), Studies on fat digestion, absorption, and transport in the suckling rat. I. Fatty acid composition and concentrations of major lipid components. *J Lipid Res*, 22(4), 668-674.
168. Montgomery, K.C. (1955), The Relation between Fear Induced by Novel Stimulation and Exploratory Behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48(4), 254-260.
169. Handley, S.L. ve Mithani, S. (1984), Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 327(1), 1-5.
170. Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. ve Briley, M. (1985), Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 14(3), 149-167.

171. Cruz, A.P., Frei, F. ve Graeff, F.G. (1994), Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 49(1), 171-176.
172. Hogg, S. (1996), A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 54(1), 21-30.
173. Grant, E.C. ve Mackintosh, J.H. (1963), A comparison of the social postures of some common laboratory rodents. *Behaviour*, 21(3-4), 246-259.
174. File, S.E. ve Wardill, A.G. (1975), Validity of Head-Dipping as a Measure of Exploration in a Modified Hole-Board. *Psychopharmacologia*, 44(1), 53-59.
175. Rodgers, R.J. ve Cole, J.C. (1993), Anxiety Enhancement in the Murine Elevated Plus Maze by Immediate Prior Exposure to Social Stressors. *Physiology & Behavior*, 53(2), 383-388.
176. Walf, A.A. ve Frye, C.A. (2007), The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2(2), 322-328.
177. Crawley, J. ve Goodwin, F.K. (1980), Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav*, 13(2), 167-170.
178. Munhoz, A.C., Vilas-Boas, E.A., Panveloski-Costa, A.C., Leite, J.S.M., Lucena, C.F., Riva, P. ve ark. (2020), Intermittent Fasting for Twelve Weeks Leads to Increases in Fat Mass and Hyperinsulinemia in Young Female Wistar Rats. *Nutrients*, 12(4).
179. Novelli, E.L.B., Diniz, Y.S., Galhardi, C.M., Ebaid, G.M.X., Rodrigues, H.G., Mani, F. ve ark. (2007), Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41(1), 111-119.
180. Friedewald, W.T., Levy, R.I. ve Fredrickson, D.S. (1972), Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499-502.

181. Katz, A., Nambi, S.S., Mather, K., Baron, A.D., Follmann, D.A., Sullivan, G. ve ark. (2000), Quantitative insulin sensitivity check index: A simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(7), 2402-2410.
182. Haffner, S.M., Miettinen, H. ve Stern, M.P. (1997), The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care*, 20(7), 1087-1092.
183. Wang, Y., Guo, S., Zhuang, Y., Yun, Y., Xu, P., He, X. ve ark. (2021), Molecular recognition of an acyl-peptide hormone and activation of ghrelin receptor. *Nat Commun*, 12(1), 5064.
184. St-Onge, M.P., Ross, R., Parsons, W.D. ve Jones, P.J. (2003), Medium-chain triglycerides increase energy expenditure and decrease adiposity in overweight men. *Obes Res*, 11(3), 395-402.
185. Miller, D.W., Prosser, Z., Chee, E.Y.W., Hansen, C.F., Dunshea, F.R., Mullan, B.P. ve ark. (2016), Dietary stimulation of the endogenous somatotrophic axis in weaner and grower-finisher pigs using medium chain triglycerides and cysteamine hydrochloride. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7.
186. Rioux, V. (2016), Fatty acid acylation of proteins: specific roles for palmitic, myristic and caprylic acids. *Ocl-Oilseeds and Fats Crops and Lipids*, 23(3).
187. Delhanty, P.J.D., Huisman, M., Julien, M., Mouchain, K., Brune, P., Themmen, A.P.N. ve ark. (2015), The acylated (AG) to unacylated (UAG) ghrelin ratio in esterase inhibitor-treated blood is higher than previously described. *Clinical Endocrinology*, 82(1), 142-146.
188. Taylor, L.M. ve Blackard, W.G. (1971), Effect of lipids on growth hormone synthesis by isolated pituitaries. *Proc Soc Exp Biol Med*, 137(3), 1026-1028.
189. Casanueva, F.F., Villanueva, L., Dieguez, C., Diaz, Y., Cabranes, J.A., Szoke, B. ve ark. (1987), Free fatty acids block growth hormone (GH) releasing hormone-stimulated GH secretion in man directly at the pituitary. *J Clin Endocrinol Metab*, 65(4), 634-642.
190. Renier, G., Abribat, T., Brazeau, P., Deslauriers, N. ve Gaudreau, P. (1990), Cellular mechanism of caprylic acid-induced growth hormone suppression. *Metabolism*, 39(10), 1108-1112.

- 191.** Moller, N., Gormsen, L.C., Schmitz, O., Lund, S., Jorgensen, O.L. ve Jessen, N. (2009), Free Fatty Acids Inhibit Growth Hormone/Signal Transducer and Activator of Transcription-5 Signaling in Human Muscle: A Potential Feedback Mechanism. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(6), 2204-2207.
- 192.** Greenberger, N.J. ve Skillman, T.G. (1969), Medium-Chain Triglycerides - Physiologic Considerations and Clinical Implications. *New England Journal of Medicine*, 280(19), 1045-1058.
- 193.** Zhang, T.T., Chen, P., Stanley, C.A., Hoshi, T. ve Li, C.H. (2019), Mechanisms of octanoic acid potentiation of insulin secretion in isolated islets. *Islets*, 11(4), 77-88.
- 194.** Nishi, Y., Mifune, H., Yabuki, A., Tajiri, Y., Hirata, R., Tanaka, E. ve ark. (2013), Changes in Subcellular Distribution of n-Octanoyl or n-Decanoyl Ghrelin in Ghrelin-Producing Cells. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 4, 84.
- 195.** Resende, N.M., Felix, H.R., Sore, M.R., Neto, A.M.M., Campos, K.E. ve Volpato, G.T. (2016), The effects of coconut oil supplementation on the body composition and lipid profile of rats submitted to physical exercise. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 88(2), 933-940.
- 196.** Bouillon-Minois, J.B., Trousselard, M., Thivel, D., Gordon, B.A., Schmidt, J., Moustafa, F. ve ark. (2021), Ghrelin as a Biomarker of Stress: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 13(3).