

TC
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI



KISA VE UZUN SÜRELİ YÜKSEK VE ÇOK YÜKSEK YAĞLI
DİYETLERİN SİSTEMİK VE DOKU DÜZEYİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. MELTEM İÇKİN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. AYSEL GÜVEN BAĞLA

Çanakkale/2013

TC
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KISA VE UZUN SÜRELİ YÜKSEK VE ÇOK YÜKSEK YAĞLI
DİYETLERİN SİSTEMİK VE DOKU DÜZEYİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. MELTEM İÇKİN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. AYSEL GÜVEN BAĞLA

Çanakkale/2013

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından 111S302 sayı ile desteklenmiştir.

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Histoloji ve Embriyoloji uzmanlık
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/03/2013

TEZ KONU BAŞLIĞI

Kısa Ve Uzun Süreli Yüksek Ve Çok Yüksek Yağlı Diyetlerin
Sistemik Ve Doku Düzeyindeki Etkilerinin Karşılaştırılması

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aysel GÜVEN BAĞLA

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

İmzası

Prof. Dr. Feriha ERCAN

Doç. Dr. Nihal KILINÇ

Doç. Dr. Aysel GÜVEN BAĞLA

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 05/09/2013 tarih ve 1.2013/1.14.. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.....
Dekan
Prof. Dr. Hüseyin ÖZDEMİR

TEŞEKKÜR

Gerek tez çalıőmam sırasında yoğun emek harcayan, gerek uzmanlık eğitimim süresince yeterli bilgi ve deneyimi edinmem için her zaman beni destekleyen değerli hocam Doç. Dr. Aysel GÜVEN BAğLA'ya teőekkürü borç bilirim.

Çalışmamızın biyokimyasal bölümünü özveriyle gerçekleőtiren Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Özlem YAVUZ'a emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerin yapılmasındaki desteklerinden dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı'na teşekkür ederim.

Çalışmamızın deneysel bölümünü gerçekleőtirdięimiz Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi çalıőanlarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Dr. Meltem İÇKİN

ÖZET

KISA VE UZUN SÜRELİ YÜKSEK VE ÇOK YÜKSEK YAĞLI DİYETLERİN SİSTEMİK VE DOKU DÜZEYİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Giriş: Orexin A (OXA) pankreasta orexin 1 reseptörü (OX1R) reseptörü aracılığıyla glukoz ve enerji homeostazında görev almaktadır. Adiponektin'in iskelet kasındaki reseptörü AdipoR1 aracılığıyla insülin sensitivitesini artırdığı gösterilmiştir.

Amaç: Yüksek yağlı ve çok yüksek yağlı diyetlerin kısa süreli ve uzun süreli etkilerini incelemek için biyokimyasal parametrelerle birlikte, kasta AdipoR1, pankreasta OXA ve OX1R'i değerlendirerek, insülin direncindeki ilişkilerinin tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Wistar sıçanlar, 3 grup kısa (3 hafta), 3 grup uzun (8 hafta) süreyle; standart, yüksek (%45) ve çok yüksek yağlı besinle (%60) beslendi. Serumda biyokimyasal parametreler ile beraber, Tümör Nekrozis Faktor- α (TNF- α), İnterlökin-6 (IL-6) değerlendirildi. Pankreas ve kasta ışık mikroskopik ve İmmunohistokimyasal (pankreasta OXA, OX1R, İnsülin, Transforming growth factor β 1 (TGF β 1), IL-6, Desmin, kasta AdipoR1) incelemeler yapıldı.

Bulgular: Yağlı beslenme ile insülin direnci ve adacık alanlarında artış, pankreas ve kasta histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Yüksek yağlı beslenmeyle kısa sürede OXA ve OX1R boyanma yoğunlukları artarken, AdipoR1'de değişiklik olmadı. Çok yüksek yağlı beslenmeyle, kısa sürede OXA ve OX1R, uzun sürede AdipoR1 boyanma yoğunluğunda azalma gözlemlendi ($p=0.005$). Beslenme süresinin uzamasıyla, yüksek ve çok yüksek yağlı beslenmede OXA ve OX1R yoğunlukları azaldı ($p<0,001$).

Sonuç: Yağlı beslenmenin sistemik etkisi olarak insülin direnci kısa ve uzun sürede artmaktadır. Yüksek yağlı beslenme ile kısa sürede pankreasta OXA immün boyanması artarken, yağlı beslenmeye devam edildikçe

azalmaktadır. Besinde yağ oranı arttıkça kasta AdipoR1 boyanması da azalmaktadır. Yağlı beslenmeye bağlı gelişen insülin direnci, kısa sürede pankreas dokusunda değişikliklere neden olmaktadır. Uzun sürede ve besinde yağ oranı artması ile kas dokusunun da etkilenmesiyle, sistemik ve doku düzeyinde insülin direncinin ilerlediği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yüksek yağlı diyet, orexin, adiponektin, pankreas

ABSTRACT

COMPARISON OF SHORT AND LONG TERM HIGH AND VERY HIGH FAT DIETS' EFFECTS REGARDING SYSTEMIC AND TISSUE LEVEL

Introduction: OrexinA (OXA) functions in glucose and energy homeostasis through Orexin1 receptor (OX1R) in pancreas. Adiponectin was shown to improve insulin sensitivity via AdipoR1 in skeletal muscle.

Objective: The aim is to determine short-term and long-term effects of high-fat and very high-fat diets, examining effects on biochemical parameters, muscle AdipoR1, pancreas OXA and OX1R and to identify their relationships in insulin resistance.

Methods: Wistar rats, 3 groups for short (3 weeks), 3 groups for long (8 weeks) time fed standard, high (45%), very high-fat (60%) diets. Biochemical parameters, Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) were evaluated. Light microscopy performed in pancreas and muscle. OXA, OX1R, Insulin, Transforming growth factor β 1 (TGF β 1), IL-6, Desmin in pancreas, AdipoR1 in muscle were analyzed immunohistochemically.

Results: Increase in insulin resistance and islet areas, histopathological changes in pancreas and muscle were observed with fat feeding. With short term high-fat-diet, OXA and OX1R intensities increased, AdipoR1 did not change. With very high-fat-diet, decrease observed in OXA and OX1R intensities in short period, AdipoR1 intensity in long period ($p=0.005$). Extending high and very high-fat feeding periods decreased OXA and OX1R ($p<0.001$).

Conclusion: Short-term and long-term fat feeding causes increase in insulin resistance systemically. OXA staining intensity increased with short term high-fat diet, whereas it decreased with continued feeding. AdipoR1 intensity also decreased with increased fat content. Insulin resistance induced with fat feeding causes changes in pancreas rapidly. Muscle is affected with higher fat

content and longer duration of fat feeding, insulin resistance keeps on systemically and at tissue level.

Keywords: High fat diet, orexin, adiponectin, pancreas

İÇİNDEKİLER

İç kapak	i
Kabul-onay sayfası	ii
Teşekkür	iii
Özet	iv
Abstract	vi
İçindekiler	viii
Kısaltmalar ve simgeler dizini	xi
Şekiller dizini	xiii
Tablolar dizini	xiv
Giriş ve Amaç	1
Genel Bilgiler	4
2.1. Pankreas Embriyolojisi	4
2.2. Pankreas Histolojisi	6
2.2.1. Ekzokrin Pankreas	7
2.2.2. Endokrin Pankreas	8
2.3. Pankreas Histopatolojisi	8
2.3.1. Lipomatozis ve Fibrozis	8
2.3.2. Langerhans Adacıklarının Histopatolojisi	9
2.3.3. Asinus Histopatolojisi	9
2.3.4. Duktusların Histopatolojisi	10
2.4. İskelet Kası Embriyolojisi	10
2.5. İskelet Kası Histolojisi	12
2.5.1. İskelet Kası Enerji Metabolizması	15
2.6. Yüksek Yağlı Diyet	15
2.6.1. Yağ Tüketimi Hakkında WHO'nun Önerisi	17
2.7. Lipidler	17
2.7.1. Yağ Asitleri	18
2.7.2. Diyetle Alınan Lipidler	19
2.7.3. Depo Lipidleri	20
2.8. Lipotoksisite	22
2.9. İnsülin	23

2.9.1. İnsülin Direnci	24
2.10. Orexinler ve Orexin Reseptörleri	25
2.11. Adiponektin	26
2.12. Leptin	28
2.13. Tümör Nekrozis Faktör- α	29
2.14. İnterlökin-6	30
2.15. Transforming Growth Factor- β	30
2.16. Desmin	31
Gereç ve Yöntem	33
Bulgular	45
4.1. Pankreas Dokusu Işık Mikroskopik Değerlendirmesi	45
4.1.1. Langerhans Adacıklarının Alan Ortalamaları	45
4.1.2. Vakuolizasyon	46
4.1.3. İnflamasyon	46
4.1.4. Lenf Nodülü	50
4.1.5. Dejenere Adacık	50
4.1.6. Hemoraji	50
4.1.7. İnter/İntralobüler Adiposit Birikimi	56
4.2. Kas Dokusu Işık Mikroskopik Değerlendirmesi	58
4.2.1. Dejenere Lifler	58
4.2.2. İnküzyonlu Lifler	58
4.2.3. Epimisyumda adiposit birikimi	58
4.3. Pankreas Dokusu İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi	63
4.3.1. OXA ile pankreas dokusu immün boyaması	63
4.3.2. OX1R ile pankreas dokusu immün boyaması	66
4.3.3. İnsülin ile pankreas dokusu immün boyaması	69
4.3.4. TGF- β 1 ile pankreas dokusu immün boyaması	71
4.3.5. IL-6 ile pankreas dokusu immün boyaması	73
4.3.6. Desmin ile pankreas dokusu immün boyaması	75
4.4. Kas Dokusu İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi	76
4.4.1 AdipoR1 ile kas dokusu immün boyaması	76

4.5. Biyokimyasal Sonuçlar	79
4.5.1. Leptin	79
4.5.2. Glukoz	79
4.5.3. İnsülin	79
4.5.4. İnsülin direnci	80
4.5.5. Glukagon	80
4.5.6. HDL	80
4.5.7. TNF- α	81
4.5.8. IL-6	81
4.5.9. Total kolesterol	83
4.5.10 Trigliserit	83
4.5.11 VLDL	84
4.6. Sıçan Ağırlıkları	85
Tartışma	88
Sonuç ve Öneriler	100
Kaynaklar	102

KISALTMALAR VE SİMGELER

AdipoR	: Adiponektin reseptörü
AdipoR1	: Adiponektin reseptör 1
AdipoR2	: Adiponektin reseptör 2
CoA	: Koenzim A
DM	: Diabetes Mellitus
GSIS	: Glukozla stimüle olan insülin sekresyonu
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA-IR	: Homeostasis model index of insulin resistance
IL-6	: İnterlökin-6
kDa	: Kilo dalton
LHA	: Lateral hipotalamik alan
LN	: Lenf nodülü
OXA	: Orexin A
OXB	: Orexin B
OX1R	: Orexin-1 reseptör
OX2R	: Orexin-2 reseptör
PF	: Perifornikal alan
PP hücresi	: Pankreatik polipeptid hücresi
PSC	: Pankreas stellat hücreleri
SHH	: Sonic hedgehog
SSS	: Santral sinir sistemi
SYA	: Serbest yağ asidi
TC	: Total kolesterol
TG	: Trigliserit
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YA	: Yağ asidi

YB	: Yağlı beslenen
YYD	: Y¼ksek yağlı diyet
%45YB	: %45 yağlı beslenen
%60YB	: %60 yağlı beslenen
α-h¼cresi	: Alfa h¼cresi
α-SMA	: α -smooth muscle antigen
β-h¼cresi	: Beta h¼cresi
δ-h¼cresi	: Delta h¼cresi
ω-3 YA	: Omega 3 yağ asidi
ω-6 YA	: Omega 6 yağ asidi

ŞEKİLLER

1. ŞEKİLLER

Şekil 1: Pankreas embriyolojisi 6

2. GRAFİKLER

Grafik 1: Pankreas dokusunda OXA ile immünohistokimyasal boyanma 64

Grafik 2: Pankreas dokusunda OX1R ile immünohistokimyasal boyanma 67

Grafik 3: Sıçan ağırlıkları (Tüm sıçanların ilk 3 haftada ölçülen ağırlıkları) 86

Grafik 4: Sıçan ağırlıkları (8 hafta beslenen sıçanların ağırlıkları)

86

3. RESİMLER

Resim 1: Pankreas dokusunda vakuolizasyon 48

Resim 2: Pankreas dokusunda inflamasyon 49

Resim 3: Pankreas dokusunda lenf nodülü 52

Resim 4a: Pankreas dokusunda dejenere adacık 53

Resim 4b: Pankreas dokusunda dejenere adacık 54

Resim 5: Pankreas dokusunda hemoraji 55

Resim 6: Pankreas dokusunda inter/intralobüler adiposit birikimi 57

Resim 7: Kas dokusunda dejenere lifler 60

Resim 8: Kas dokusunda inklüzyonlu lifler 61

Resim 9: Kas dokusunda epimisyumda adiposit birikimi 62

Resim 10: OXA ile pankreas dokusu immün boyaması 65

Resim 11: OX1R ile pankreas dokusu immün boyaması 68

Resim 12: İnsülin ile pankreas dokusu immün boyaması 70

Resim 13: TGF- β 1 ile pankreas dokusu immün boyaması 72

Resim 14: IL-6 ile pankreas dokusu immün boyaması 74

Resim 15: Desmin ile pankreas dokusu immün boyaması 75

Resim 16: AdipoR1 ile kas dokusu immün boyaması 77

Resim 17: Negatif kontroller 78

TABLULAR

Tablo 1: Pankreas dokusunda Langerhans adacıklarının alan ortalamaları	45
Tablo 2: Pankreas dokusunda vakuolizasyon ve inflamasyon	47
Tablo 3: Pankreas dokusunda lenf nodülü, dejenere adacık, hemoraji	51
Tablo 4: Pankreas dokusunda inter/intralobüler adiposit	56
Tablo 5: Kas dokusunda dejenere lifler ve inklüzyonlu lifler	59
Tablo 6: Kas dokusunda epimisyumda adiposit birikimi	59
Tablo 7: OXA ile pankreas dokusu immün boyaması	64
Tablo 8: OX1R ile pankreas dokusu immün boyaması	67
Tablo 9: İnsülin ile pankreas dokusu immün boyaması	69
Tablo 10: TGF- β 1 ile pankreas dokusu immün boyaması	71
Tablo 11: IL-6 ile pankreas dokusu immün boyaması	73
Tablo 12: AdipoR1 ile kas dokusu immün boyaması	76
Tablo 13: Leptin, Glukoz, İnsülin, İnsülin direnci, Glukagon, HDL, TNF- α , IL-6	82
Tablo 14: Total kolesterol, Trigliserit, VLDL	84
Tablo 15: Sıçan ağırlıkları	87

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde yaşam tarzındaki değişiklikler, özellikle doymuş yağdan zengin yüksek enerjili gıda tüketimine neden olmakta, bu da obezite, diabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar ve farklı kanser türlerini içeren diyete bağlı hastalıklarda artışa yol açmaktadır (1). Kronik olarak yüksek yağlı diyet (YYD) tüketimi, metabolik organlara aşırı miktarda lipid gitmesine, hızlı kilo alımına, insülin sensitivitesinde azalmaya ve glukoz homeostazında bozulmaya yol açmaktadır. Depolanmak üzere düzenlenmemiş lipidlerin dokularda birikmesinin, insülin direncine giden yolda ilk basamak olduğuna dair bulgular giderek artmaktadır (2). İnsülin direnci; karaciğer, yağ dokusu ve kas dokusu gibi hedef dokuların, dolaşımdaki normal konsantrasyonlardaki insüline biyolojik yanıtının azalması olarak tanımlanır (3, 4). İnsülin direnci sonucu oluşan, tip 2 DM'ta pankreas β -hücresi disfonksiyonu da bulunur (4).

İlk defa 1963'te glukoz-yağ asidi (YA) siklusunu tanımlayan Randle Hipotezi, YA'lerinin intrasellüler metabolizmasının, glukoz metabolizmasını kontrol ettiğini öne sürmüştür (5). Unger, 1995'te lipotoksisite terimini tanımlamış ve doymuş YA'lerinin pankreas β - hücre lipotoksisitesine yol açtığını öne sürmüştür (6). Trigliserit (TG) birikmesinin kas hücrelerinde, insülinle stimüle olan glukoz alımını ve glukoz oksidasyonunu azalttığı düşünülmektedir. Pankreas β -hücrelerinde TG birikmesinin ise insülin sekresyonunun azalmasına ve DM oluşumuna yol açabileceği belirtilmiştir. Sonuçta düzenli olarak yüksek oranda doymuş yağ tüketiminin insülin direncine ve genetik olarak yatkın bireylerde lipotoksisite yoluyla DM oluşumuna yol açabileceği öne sürülmüştür (1).

2008'de Tsuneki ve arkadaşlarının, ayrıca 2009'da Funato ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar, temel bir enerji kaynağı olan glukozun, insülin ile indüklenen metabolizmasının, hipotalamik orexin sistemi aracılığıyla hassas bir şekilde ayarlandığını ortaya çıkarmıştır (7, 8).

Orexin etkisi basit bir etki olmayıp, beslenme durumuna göre değişmektedir. Kısa süre önce orexin nöronlarının, koşullu glukoz algılayıcı

olduğu öne sürölmüştür, çünkü bu nöronların glukozu verdiği cevap intrasellöler enerji seviyesine göre değişmektedir (9). Orexinler ve reseptörleri, pankreas, barsak, adrenal bez, böbrek, yağ dokusu ve üreme organları gibi pek çok dokuda gösterilmiştir (10). Çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma, orexinlerin direk pankreas üzerindeki aktiviteleri ile insülin sekresyonunu etkilediklerini göstermiştir (11-14). Sıçan pankreas dokusunda immünohistokimyasal olarak orexin reseptör 1 (OX1R) gösterilmiş, diyabetik sıçanlarda insülin ile ko-lokalizasyonu azalırken, glukagon ile ko-lokalizasyonunun arttığı bildirilmiştir (15).

Biz çalışmamızda orexinin, beslenme ile glukoz homeostazı arasındaki bir köprü olması nedeniyle, yüksek yağlı beslenmede insülin direncine giden yolda pankreas dokusundaki orexin ve reseptörünün ekspresyonunda oluşan değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

Obezite; yağ dokusu artışı ile karakterizedir ve günümüzde yağ dokusu, leptin, rezistin ve adiponektin gibi farklı biyolojik molekülleri sentezleyen bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir (16). Adiponektin, yağ hücreleri dışında kalp ve iskelet kası hücreleri tarafından salgılanan, iskelet kası ve karaciğer düzeyinde yağ ve glukoz metabolizmasını düzenleyen (17), anti-diyabetik, anti-inflamatuar, anti-aterosklerotik etkilere aracılık eden bir protein hormondur (18). Adiponektin, kemirgenlerde tüm vücutta glukoz seviyesini düşürmesi ve iskelet kasında insülin aktivitesini artırması nedeniyle, anti-diyabetik bir adipokin olarak kabul edilmektedir. Adiponektin reseptörleri (AdipoR), AdipoR1 iskelet kasında, AdipoR2 ise karaciğerde bulunur (19) ve adiponektinin insülin sensitize edici etkisini iletirler (20).

İnsülinle stimüle olan glukoz alımının gerçekleştiği temel bölge iskelet kası olduğundan, insülin direnci için de temel bölgedir (21). İskelet kası, farklı metabolik uyarılara cevap verir ve iskelet kası ile yağ dokusu arasında bir etkileşim bulunmaktadır (16). Yang ve arkadaşları 2006'da yaptıkları çalışmada, ilk kez iskelet kası adiponektin içeriği ile diyete bağlı insülin direnci ve dislipidemi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuşlardır (22). Biz çalışmamızda YYD'nin, iskelet kasında AdipoR1 ekspresyonu üzerinde oluşturduğu

değişiklikleri de araştırarak, insülin direnci oluşumunda iskelet kasının rolünü de incelemeyi amaçladık.

Obezite ilişkili patolojilerin oluşmasında, obezite ile indüklenen inflamasyonun önemli rolü olduğunu destekleyen çalışma sayısı giderek artmaktadır (23). YYD'nin, oksidatif stres yoluyla karaciğer hasarı ve insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir (24). Artan yağ dokusu miktarı, yağ dokusu kaynaklı pro-inflamatuar sitokinler olan tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve İnterlökin-6'nın (IL-6) serumda yüksek düzeylere ulaşmasına yol açar. Bu sitokinler insülin sinyalizasyonu ile etkileşerek, insülin direncinin oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (25). Biz çalışmamızda yağlı beslenmenin yol açtığı inflamasyonun da insülin direncine katkısını incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda, %45 ve %60 yağ içeren diyetlerin, 3 ve 8 hafta sürelerde, sıçan pankreas ve iskelet kası dokuları üzerinde oluşturduğu değişiklikleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal metodlarla inceledik. Pankreas ve iskelet kası dokularında YYD'nin neden olduğu değişiklikleri serumda oluşan biyokimyasal değişiklikler ile birlikte değerlendirilerek, bu dokular arasında insülin direncini ortaya çıkaran ilişkinin tanımlanmasına katkıda bulunmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas Embriyolojisi

Beşinci haftada pankreatik primordiumlar, ön barsağın kaudal parçasındaki endodermal hücrelerden oluşan dorsal ve ventral tomurcuklar halinde, mezenter yaprakları arasından gelişirler. Ön barsaktan dışa doğru poşlar şeklinde, karaciğer ve safra kesesini oluşturacak hücrelerle yakın ilişki halinde ortaya çıkarlar. Dorsal pankreas tomurcuğu dorsal mezenter yaprakları arasında hızla büyürken, ventral pankreas tomurcuğu safra kanalının duodenuma girdiği yere yakın gelişir ve ventral mezenter yaprakları arasında hızla büyüyerek safra kanalı ile birleşir. Duodenumun sağa rotasyon yaparak C şeklini alması sonucu, ventral pankreas tomurcuğu safra kanalıyla birlikte arkaya doğru taşınır. Gestasyonun 7. haftasında, dorsal ve ventral tomurcuklar birleşerek tek bir gland halini alırlar. Ventral tomurcuk pankreasın baş kısmının inferior parçasını ve uncinat prosesi oluştururken, dorsal tomurcuk kuyruk, gövde ve baş kısmının anterior parçasını oluşturur. Pankreatik kanal (Wirsung), gövdedeki ana dorsal kanal ile ventral kanalın duodenuma yakın kısmındaki segmentinin birleşmesi ile oluşur. Aksesuar kanal (Santorini) duodenuma komşu dorsal kanal segmentinin persistansından meydana gelir. Popülasyonun %9'unda dorsal kanal ventral kanal ile birleşmez ve pankreasın en yaygın konjenital kanal anomalisi olarak "pankreas divisum" pankreas divisum oluşur. Pankreatik kanal ile safra kanalı birleşerek Vater papillasına açılırlar.

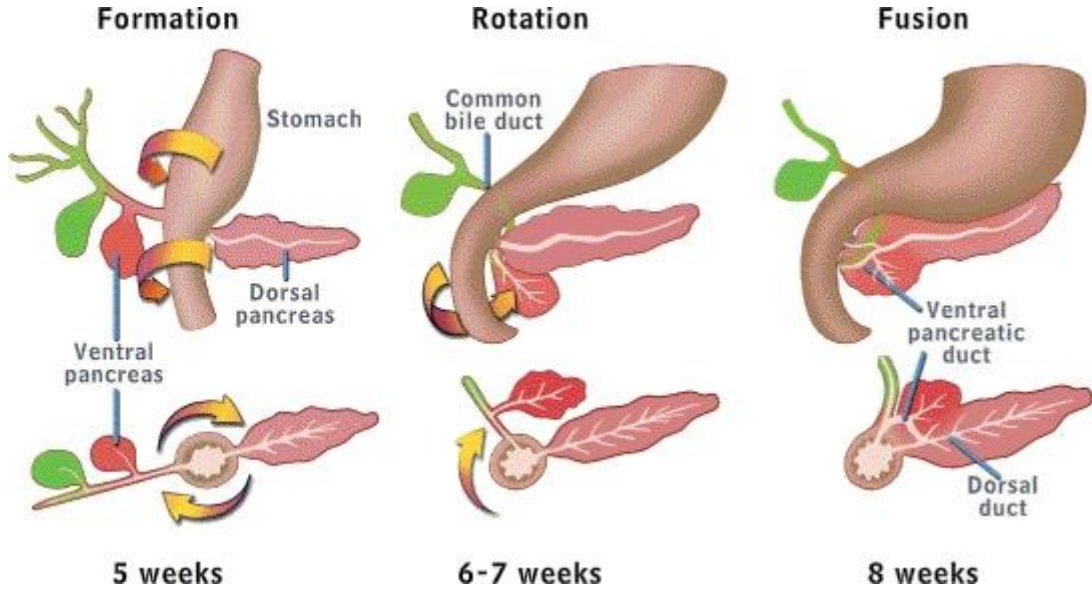
Notokord tarafından salgılanan fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF 2) ve bir transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ailesi üyesi olan aktivin, barsak endoderminde sonic hedgehog (SHH) ekspresyonunu baskılayarak pankreasın gelişmesine olanak verir. SHH ekspresyonunun baskılanmasıyla pankreasın gelişiminde temel role sahip pankreatik ve duodenal homeobox 1 (PDX 1) geninin ekspresyonu artar. Mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte pankreasın endokrin hücrelerinin oluşumu da PAX 4 ve 6 homeobox gen ekspresyonu sayesinde gerçekleşmektedir. Her iki geni birden eksprese eden hücreler β ,B (insülin), δ ,D (somatostatin) ve PP (pankreatik polipeptid)

hücreleri, sadece PAX 6 eksprese edenler de α ,A (glukagon) hücreleri haline dönüşmektedir.

Pankreasın parankimi, pankreas tomurcuklarına ait endodermin oluşturduğu tübüler bir ağdan gelişir. Bu tübüller pankreas kanallarının taslağıdır. Pankreatik asinüsler en küçük kanalların duvarları boyunca ve son kısımlarında oluşurlar, 12. haftaya kadar gelişimlerini tamamlarlar. Endokrin pankreas ekzokrin pankreas ile aynı anda gelişir. Adacık hücreleri, yine aynı endodermal tübüllerden ayrılan bir grup hücre tarafından oluşturulur ve asinuslar arasında uzanır ve 9. hafta civarında belirmeye başlarlar. Endokrin hücreleri ilk kez 12-16. hafta arasında gözlenirler. Pankreasın bağ dokusu kılıfı ve interlobüler septası, çevre splanknik mezenşimden gelişir.

Yenidoğanda, adacık hücrelerinin ve mezenşimin organda kapladığı alan erişkinden daha fazladır, doğumdan sonra asinar bölüm artmaya devam eder. Erişkinde pankreasın ventral tomurcuktan gelişen baş kısmındakiler hariç, adacık hücrelerinin çoğu yuvarlak veya ovoid ve düzgün sınırlara sahiptir. Pankreasın baş kısmı pankreatik polipeptid üreten hücrelerden zengindir ve buradaki adacıklar sınırları düzensizdir, hücreleri trabeküler şekilde düzenlenmiştir, bezin diğer kısmındaki hücrelerden daha fazla dikkat çekicidirler. Erişkinde baş kısmının arkasındakiler hariç Langerhans adacıklarının %70'i β -hücreleri tarafından oluşturulurken, D hücreleri adacıkların %10'undan daha az bir kısmını kaplar, PP hücreleri ise baş kısmındaki bazı özel adacıklar hariç nadir bulunan hücrelerdir ve kanallar boyunca bulunan adacıklarda yer alırlar. (26-28).

Majör pankreatik anomaliler; konjenital kistler, kanal anomalileri, pankreatik dokunun anormal pozisyonları ve organ içinde aksesuar dalak bulunmasından ibarettir. Multipl anomalileri olan bazı ölü doğumlarda total agenezi rapor edilmiştir. Parsiyel agenezi ise oldukça nadirdir.



Şekil 1: Pankreas embriyolojisi: ventral ve dorsal pankreas tomurcukları ortaya çıktıktan sonra ventral pankreas tomurcuğu ortak safra kanalı ile birlikte rotasyon yapar. Daha sonra dorsal pankreas kanalı ile ventral pankreas birleşerek ana kanalı oluştururlar (29).

2.2. Pankreas Histolojisi

Pankreas karın arka duvarında ve midenin arka yüzünde, dalak ile duodenum arasında yer alır. 12-15 cm uzunluğunda transvers olarak uzanan, çok sayıda lobdan oluşan pankreas, retroperitoneal bir bezdir. Kaput, kollum, korpus ve kauda pankreatis olmak üzere dört kısmı vardır. (30).

Pankreas hem endokrin hem de ekzokrin özellikleri olan, hormonların yanı sıra sindirim enzimleri de üreten bir salgı bezidir. İnce bir bağ dokusu kapsülü ile çevrilidir. Kapsülden giren ince bağ dokusu septumları pankreası lob ve lobüllere ayırır. Bu septumlar kan ve lenf damarları, sinirler ve boşaltım kanallarını taşır.

Ekzokrin pankreas sindirim enzimleri sentezi ve salgısı yapan, bazal laminayla çevrili asinüslerden oluşur. Endokrin pankreas Langerhans adacıkları olarak bilinen epitelyal hücre toplulukları şeklinde hormon salgısı yapan kısımdır ve bezin hacminin yaklaşık % 2'sini oluşturur (28, 31).

2.2.1. Ekzokrin Pankreas

Ekzokrin pankreas, bileşik tblo-asiner bir bez yapısı gösterir ve asinüsler tarafından oluşturulur. Pankreatik asinüs, bir lümeni vreleyen ve apikal bağlantı kompleksleri ile birbirine bağlanmış piramidal hücrelerden oluşur. Bu hücreler yuvarlak bir nükleusa sahip, protein salgılayan hücre özelliklerini gösteren hücrelerdir. Bazalde gelişmiş bir kaba endoplazmik retikulum, apikalde golgi ve zimojen granüller içerirler. Zimojen granüllerin sayısı sindirim fazına göre değişir. Asins lümeni, duktus interkalarislerin başlangıcıdır ve bu duktusun lümen içine penetre olmuş soluk sitoplazma içeren sentroasiner hücreleri buradadır. Duktus interkalarisler, intralobüler kanallara açılarak asinüsün salgısını iletirler. Kanal sisteminde daha sonra bunların birleşmesiyle interlobüler kanallar oluşur ve salgı sonunda Wirsung kanalına iletilir. Bu kanal safra kanalı ile birleşerek sindirim enzimlerini içeren salgıyı duodenuma boşaltır. Kanal epitelini duktus interkalarislerde tek katlı kübik iken, kanal sisteminde ilerledikçe epitel yüksekliliği ve sırası artar. Ekzokrin pankreas asinar hücreleri, ince barsak enteroendokrin hücrelerinden salgılanan kolesistokinine yanıt olarak sindirim enzimlerini salgırlar. Bazı enzimler proenzim olarak (kimotripsin, tripsin, elastaz ve karboksipeptidaz) salgılanırlar, bazıları da aktif enzimler (DNaz, RNaz, pankreatik lipaz, pankreatik amilaz) olarak salgılanırlar. İnce barsak enteroendokrin hücrelerinden salgılanan sekretine yanıt olarak sentroasinar hücreler ve boyun kanallarının hücreleri alkali sıvı salgırlar ve mideden duodenuma gelen asidik kimusun tamponlanmasını sağlarlar (31-33).

Pankreatik asinar hücrelerin bazolateral yüzlerinde, ayrıca küçük pankreatik kanallar ve damar duvarlarının vresinde pankreatik stellat hücreler bulunur. Pankreas kitlesinin %4-7'sini stellat hücreler oluşurmaktadır. Sitoplazmalarında A vitamini içeren lipid damlacıkları bulunur. Kronik pankreatit veya pankreas kanserinde olduğu gibi pankreasta bir hasarlanma olduğunda stellat hücreler aktive olarak, miyofibroblast benzeri Şekil alırlar ve ekstrasellüler matriks proteinleri salgılayarak fibrozise yol açarlar (34).

2.2.2. Endokrin Pankreas

Pankreasın endokrin kısmını oluşturan Langerhans adacıkları, ekzokrin pankreas dokusu içine dağılmış yuvarlak hücre demetleri şeklinde görülürler. Retiküler liflerden oluşan ince bir kapsülle sarılmışlardır. Adacıkların çoğu 100-200 µm çapında olsa da, daha küçük endokrin hücre grupları da görülür. Her adacık bir kılcak kan damarı ağı ile ayrılan kordonlar içerisinde yerleşmiş soluk boyanan, poligonal hücreler içerir. Her adacık endokrin hücreler ve vasküler bölüm olmak üzere iki kısımdan oluşur. Endokrin hücreler anastomoz yapan kordonlar yaparlar ve her biri ayrı bir hormon salgırlar. Bu hücrelerin adacıktaki yerleşimleri immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir. İnsülin salgısı yapan β -hücreleri adacığın merkezi bölümünde bulunur ve adacıkta en fazla bulunan hücre tipidir. Glukagon salgısı yapan α hücreleri adacığın periferik bölümünde bulunur. α ve β hücreleri yapı olarak küçüklerdir. Somatostatin ve gastrin salgılayan δ hücreleri adacıkta dağınık şekilde bulunurken, az sayıdaki PP hücreleri pankreatik polipeptid salgırlar. Vasküler bölüm, insuloasinar portal sistem, fenestralı endotel hücreleri ile dşşeli bir kapiller ağı oluşturan afferent bir arteriolden oluşmuştur. Endokrin hücreler ve damarlar otonom sinir sisteminden uyarı alırlar. Otonom sinir sistemi, insülin ve glukagon salgılanmasını kontrol ederler (28, 35).

2.3. Pankreas Histopatolojisi

2.3.1. Lipomatozis ve fibrozis

Erişkinde artan yaşla birlikte pankreas ağırlığı azalır. Lipomatozis yaşın ilerlemesiyle birlikte görülür ve bezin ağırlığının artmasına yol açar. Ateroskleroz ve tip 2 DM ile birlikte belirgin lipomatozis görülür. Fokal fibrozis etiyolojisi genellikle bilinmez ve bu da artan yaş ve tip 2 DM ile birlikte oluşabilir. Yaşlı kişilerin pankreaslarında sıklıkla fokal veya difüz fibrozis bulunur.

2.3.2 Langerhans Adacıklarının Histopatolojisi

Büyük adacıklar orta ve ileri yaşlı kişilerin pankreaslarında oluşabilir. Büyük adacıklar normal adacıklara oranla daha fazla insülin sekrete eden hücre içermeye eğilimlidir.

2.3.3. Asinus Histopatolojisi

Asinar hücrelerin transformasyonu veya sadece hücre çoğalması sonucu sentroasinar hücreler ve interkalat duktuslar sayıca artabilir. Bu değişiklikler duktal obstruksiyon, aşırı alkol tüketimi, kronik pankreatit veya hiperinsülinemi ve hipergastrinemi ile ilişkili oluşabilir.

Asinar hücrelerde değişim de orta sıklıkta rastlanan bir durumdur. Asinar hücrelerin dilatasyonu; üremi, dehidratasyon, ağır bakteriyel enfeksiyonlarda görülebilir. Asinusların eozinofilik dejenerasyonu, fokal asinar hücre displazisi, lokalize asinar sitopatoloji de pankreasta değişik yazarlar tarafından tanımlanmış değişikliklerdir. Küçük gruplar halinde hücrelerin sitoplazmalarının azalması ve bazofilik boyanmalarında soluklaşma ile zimojen granüllerde azalma sık görülen bir değişikliktir. Nükleusların yerleşimi değişir, genelde santral olur, daha küçük ve piknotik hale gelir.

Sitoplazmik vakuolizasyon, endoplazmik retikulum dilatasyonu sonucu meydana gelir ve belirgin olur. Sitoplazmik içeriğe bağlı olarak hücreler hafif bazofilik veya hafif eozinofilik hale gelir. Sitoplazmanın soluklaşması, bunların Langerhans adacıkları ile karıştırılmasına yol açabilir. Bu değişiklikler muhtemelen geri dönüşümlüdür.

Daha az görülen bir durum, hafif genişlemiş ve zimojen granüllerle dolu sitoplazmasında bazofili gözlenmeyen asinar hücrelerin gruplar oluşturmalarıdır. Sitoplazmada nadiren vakuollere rastlanır. Nükleuslar normal ve bazaldedir. Bu değişiklik anormal bir sekretuar mekanizmaya işaret edebilir. Hücrelerin büyüklükleri farklı olsa da, nükleusları normal veya hafifçe genişlemiştir. Zimojen granüllerin sayısı ve sitoplazmanın bazofilisi değişkendir. Bu değişiklikler anormal proliferasyonları yansıtabilir.

Değişmiş asinuslar rastlantısal olarak alkolizm, pankreatik endokrin bozukluklar, sigara ve kemoterapi gibi farklı intrapancreatik veya ekstrapancreatik bozukluklara yol açan durumlarda rapor edilmiştir.

2.3.4. Duktusların histopatolojisi

Majör ve periferik küçük kanalların dilatasyonu yaşlı kişilerde sık görülür. Minör kanalların dilatasyonu fibrozisle birlikte olma eğilimindedir. Orta büyüklükte ve büyük kanallarda çok katlı duktal epitelyal metaplazi, karsinomla ilişkili değildir, kronik pankreatit veya normal pankreasta görülebilir.

Supranükleer mukustan zengin sitoplazma ile kolumnar hücreler, kronik pankreatit, yüksek doz steroid kullanımı, pankreatik duktal karsinom ile ilişkili olabilir. Orta büyüklükte ve büyük kanallarda psödopapiller ve papiller hiperplazi, yaşlanma, kronik pankreatit, DM, duktal karsinomda görülebilir. Herhangi bir nedenle oluşan duktal obstrüksiyon bu değişiklik için predispozan olabilir.

Ayrıca, vücudun herhangi bir yerindeki bakteriyel enfeksiyonla ilgili olarak bezde difüz inflamasyon görülebilir (26).

2.4. İskelet Kası Embriyolojisi

Primitif düğümden köken alan paraksiyal mezodermin, gestasyonun 3. haftası sonuna doğru farklanıp yoğunlaşması ile somitler oluşur. Somitler gelişmekte olan nöral tüpün her iki yanında, kraniyokaudal sırayla oluşur. 20-30. günlerde yaklaşık 38 çift, 5. haftanın sonunda ise 42-44 çift somit vardır. Somitlerin dorsolateral bölgesindeki hücreler ekstremit ve vücut duvarı kaslarını oluşturacak hücreleri sağlamak üzere göç ederler. Ekstremit kasları miyojenik öncü hücrelerden epitelyo-mezenşimal transformasyon ile gelişirler. Bu hücreler, ilk olarak, dermomiyotomların ventral kısmında yer alırlar ve epitelyal hücrelerdir. Epitelyo-mezenşimal değişimden sonra, ekstremitelerin ilk gelişmeye başladığı yere göç ederler. Nöral tüp ve notokorddan gelen sinyaller somitlerdeki Pax-3 ve Myf-5'i uyandırır. Pax-3 ekstremit tomurcuğundaki öncü

miyojenik hücrelerin göçünü düzenleyen c-met'in ekspresyonunu düzenler. Miyojenik öncü hücreler, gövde ve nükleusları uzayarak miyoblastlara dönüşürler. Miyoblastlar birbirleri ile kaynaşır ve uzun, çok çekirdekli miyotüpleri oluştururlar. Moleküler düzeyde gen aktivasyonu miyojenik öncü hücrelerin heliks-loop-heliks transkripsiyon faktörlerinin MyoD ailesinin ekspresyonu bu oluşumu sağlar. Ventral ve dorsal nöral tüp ve notokorddan salgılanan sinyal proteinleri ile birlikte ektoderm, Wnts ve BMP-4 ile, miyogenezisin başlaması ve miyotom indüksiyonunu düzenler. Miyotüpler farklılaşma gösterirken eksternal lamina ile sarılarak, çevre bağ dokusundan ayrılırlar. Miyotüp sitoplazması içinde miyofilamentlerin belirmesi ile 3. ayın sonunda iskelet kası çizgilenmeleri ortaya çıkmış olur. Ekstremitte kasları ilk olarak yedinci haftada ekstremitte tomurcuklarının tabanı yakınında mezenşimal bir yoğunlaşma şeklinde belirir. Bu mezenşim dorsolateral somit hücrelerinden köken almıştır ve ekstremitte kemiklerini de meydana getiren somatik mezodermden oluşur. Gelişmekte olan kemiklerin etrafını saran miyoblastlardan ekstremitte kasları gelişir. Ekstremitte tomurcuklarının uzaması sonucu kas dokusu fleksör ve ekstensör komponentlerine ayrılır. Başlangıçta ekstremitte kasları segmental bir karakter taşısa da, kaynaşarak birkaç segmentten köken almış kaslar haline gelirler. Fibroblastlar, fibröz kılıfın epimisyum ve perimisyum tabakalarını yaparken, endomisyum ise retiküler lifler ve eksternal lamina tarafından oluşturulur.

Üst ekstremitte tomurcukları alt beş servikal ve üst iki torasik segmentin, alt ekstremitte tomurcukları ise alt dört lumbar ve üst iki sakral segmentin karşısında yer alır. Tomurcuklar oluşur oluşmaz, uygun spinal sinirler mezenşim dokusu içine penetre olmaya başlar. Medulla spinalisten çıkan aksonlar somitlerdeki kas hücrelerini innerve eder, böylece aksonlar doğru hedefe yönelmiş olur. Bu sinirler başlangıçta izole ventral ve dorsal dallar halindeyken, birleşerek ventral ve dorsal dallar haline gelirler. Ekstensör kasları innerve eden sinirler dorsal segmental dalların birleşmesiyle oluşurken, fleksör kasları innerve eden sinirler ventral dalların birleşmesiyle meydana gelir. Sinirler ekstremitte tomurcuklarının içine girmez, farklı mezodermal doku yoğunlaşmalarıyla çok yakın ilişki kurarlar. Sinir ve kas hücreleri arasındaki bu

erken temas, fonksiyonel açıdan tam anlamıyla farksızlaşabilmeleri için şarttır. Spinal sinirler ekstremite kaslarının farksızlaşmaları ve motor innervasyonlarında rol oynamalarının yanında dermatomlar için duyu innervasyonunu da sağlarlar.

İskelet kaslarının çoğu doğumdan önce gelişir. Geri kalanlar ise birinci yılın sonuna kadar şekillenirler. İlk yıldan sonra, daha fazla miyofilament şekillenmesi ile kas liflerinin çapları artar, böylece kas boyutları artmış olur (36, 37).

2.5. İskelet Kası Histolojisi

Kırmızı, beyaz ve ara (intermediyer) olmak üzere üç tip iskelet kası vardır. Çoğu iskelet kası bu üç tip lifin karışımını içerir. Belirli bir motor üniteye tüm kas lifleri benzer tiptedir.

Kırmızı lifler yavaş kasılan motor ünitelerde bulunurlar. Bol mitokondri içerirler ve çapları göreceli olarak küçüktür. Yorgunluğa dirençlidirler bu nedenle uzamış müsküler aktivite için uygundur (örneğin interkostal kaslar). Beyaz lifler hızlı kasılan motor ünitelerde bulunurlar. Kırmızı liflerden daha az mitokondri içerirler ve göreceli olarak daha genişler. Hızlıca kontrakte olurlar ve genelde hareketten sorumludurlar (örneğin ekstraoküler kaslar). Ara lifler kırmızı ve beyaz lifler arasında bir özellik gösterirler. İnsan kasları genelde bu üç kas tipinin karışımından oluşurlar.

İskelet kası lifleri (hücreleri) bağ dokusuyla çevrilmiş demetler halinde bulunurlar. Bir iskelet kası lifi çok sayıda periferik yerleşimli nükleuslar içerir. Tek bir kas lifini saran endomiyum ince retiküler lifler ve ekstrasellüler matriksten oluşmuştur. Perimiyum bir kas demetini, epimiyum ise tüm kası çevreleyen sıkı bağ dokusudur. Bu bağ dokusu kılıflar iskelet kasının kan ve lenf damarları ile sinirlerini taşırlar.

Kas lifinin sitoplazması hareket özelliğini sağlayan ince ve kalın filamanlar ile doludur. İnce filamanlar aktin, troponin, tropomiyozin, nebulin proteinleri içerir. Kalın filamanlar miyozin ve titin proteinleri içerir. Aktin ve

miyozin kontraktil proteinlerdir. Filamanlar kas lifi içinde çizgili görünümüne (çizgili kas) neden olan A ve I bantlarını oluştururlar.

Açık tondaki (Izotrop) I bantlarını ince filamanlar oluşturur. I bandının ortasındaki koyu çizgi Z çizgisidir. Koyu tondaki (Anizotrop) A bantları kalın ve ince filamanların üst üste geldiği kısımlardan oluşur. A bandının ortasında H bandı denilen daha açık tonda bir alan vardır ve burada kreatin kinaz enzimi bulunur. H bandının ortasındaki M çizgisi kalın filamanların çıplak bölgelerini bağlayan köprü ve filamanlardan oluşur.

İskelet kasının kasılma birimi sarkomerdir, bir Z çizgisinden diğer Z çizgisine uzanır, ince ve kalın filamanlardan oluşmuştur. Sarkomerin ince filamanı F-aktin, 2 sıra globüler monomerin (G-aktin) baş-kuyruk şeklinde bağlanması sonucu oluşmuştur. F-aktin bu düzenleme ile kutupsal özellik kazanır ve artı ucu Z diski içine girmiştir. Her bir G-aktin monomeri miyozin için bağlanma bölgesi içerir. Z çizgisinin ana bileşeni olan α -aktinin, burada aktin filamanının artı ucunu bağlar. Tropomiyozin iki F-aktin uzantısının arasında ilerler ve troponin kompleksine bağlanır. Troponin, tropomiyozine bağlanmayı sağlayan Troponin T, miyozinin aktine bağlanmasını önleyen troponin I ve kalsiyum bağlayıcı protein olan Troponin C adlı üç alt birimden oluşan bir komplekstir.

Desmin, ara filamanları oluşturan bir proteindir. Desmin filamanları destek bir kafes oluşturacak şekilde bir miyolifin Z diskinden komşu miyolife uzanırlar. Ayrıca sarkolemmaya ve çekirdek zarına da uzanırlar.

Miyozin kalın filamanın asıl yapıtaşdır. İki ağır zincir ve iki hafif zincirden oluşur. Her ağır zincirin bir ucundaki globüler uzantılar, ATP bağlamanın yanı sıra, adenosin trifosfataz (ATPaz) aktivitesine sahiptir ve aktin bağlama ve hafif zincir bağlama özellikleri bulunur.

Titin elastik bir proteindir. Kalın filamanlarla birleşir, Z disklerinin içine girer, miyozin filamanlarının çıplak bölgelerine, M çizgisine yakın olarak uzanır. Kas gerildiğinde elastikiyeti sayesinde miyozin filamanlarını kuşatır.

Kas kasıldığında kalın ve ince filamanlar birbirleri üzerinden kayarlar. Sarkomerin uzunluğu bu kayma nedeniyle kısalır. Kasılma için gerekli enerji bir tip filamanın diğer tip filamana doğru hareketiyle üretilir. Kasılmayı başlatan depolarizasyon sinyali sinirden kasa bir nöromüsküler bağlantı yoluyla geçer. Bu bağlantı, motor sinirlerin perimisyumda sonlanarak burada çok sayıda ince dal oluşturmaları ile meydana gelir. Miyelinli aksonlar perimisyuma eriştiklerinde miyelin kılıflarını kaybederler ve Schwann hücre uzantılarıyla sarılırlar. Akson terminali mitokondriler ve asetilkolin nörotransmitterleri içeren membranla çevrili veziküller içerirler.

Akson ve kas arasında sinaptik yarık denilen boşluk bulunur. Bu bölgede sarkolemma derin bağlantı kıvrımları yapar. Asetilkolin reseptörleri bu kıvrımların iç taraflarında bulunur. Aksiyon potansiyelin oluştuğunda akson terminalinden asetilkolin salınarak bu reseptörlere tutunur. Kas lifini çevreleyen bazal lamina sinaptik yarık içine uzanır. Bazal lamina asetilkolinesteraz içerir. Schwann hücrelerini çevreleyen bazal lamina kas lifinin bazal laminasıyla devam eder.

Depolarizasyon sinyali lif içine A-I bağlantısında her miyolifin her sarkomeri etrafında sarkolemma girintileri şeklinde halkalar oluşturan T tübülleri aracılığıyla iletilir. T tübülleri üç parçalı membran yapısı olan triadı oluşturmak üzere sarkoplazmik retikulumun terminal sisternalarının her iki yanına yerleşirler. Her triadda depolarizasyon sinyali sarkoplazmik retikuluma iletilir, kalsiyum serbestlenir ve kontraksiyon başlar.

Kasta hem duyu hem de motor elemanlar içeren özel kapsüllü alıcılara nöromüsküler mekik denir. Nöromüsküler mekik kas uzunluğundaki değişiklikleri saptayarak vücudun nasıl pozisyon aldığını, boşlukta nasıl hareket ettiğini bildiren proprioseptif bir yapıdır. Bir nöromüsküler mekik 2-14 adet özelleşmiş çizgili kas lifinden oluşmuştur ve füziform bir kılıf ya da bağ dokudan bir kapsülle sarılmıştır. Mekikteki lifler (intrafüzal lifler) çevredeki kontraktıl kas liflerinden (ekstrafüzal lifler) daha kısadır. Nöromüsküler mekik intrafüzal liflerin merkezi bölgesiyle bağlantı kuran iki tip afferent aksonla inerve olur. Spinal korddaki alfa motor nöronlar ekstrafüzal lifleri inerve ederken, gama motor

nöronlar intrafüzal lifleri inerve eder. Duyu sinir sonları merkezi nükleer bölge etrafında düzenlenmiştir ve intrafüzal liflerin gerginlik derecelerini algırlar. Nöromusküler mekiğe ek olarak ektrafüzal liflerle birlikte bulunan Golgi tendon organları da iskelet kasının gerginliği hakkında bilgi sağlar (38-40).

2.5.1 İskelet Kası Enerji Metabolizması

Günün büyük bölümünde kas dokusu, enerji gereksinimi için glukoz yerine YA'lerine bağımlıdır. Bunun ana nedeni dinlenme halindeki kas zarının, kas lifi insülinle uyarılmadığı sürece glukozu çok az geçirgen olmasıdır. Öğünler arasında salgılanan insülin miktarı önemli miktarda glukozun kas hücreleri içine girmesini artırmaya yetmeyecek kadar azdır. Kas dokusu iki durumda büyük miktarda glukoz tüketir: Birinci durum, orta şiddette veya ağır egzersizdir. Burada insülin salgısı olmadan glukoz tüketilmektedir. Egzersiz yapan kas lifleri anlaşılabilen nedenlerle insülin yokluğunda bile glukozu geçirgen hale alırlar. Büyük miktarda glukozun kaslar tarafından tüketildiği ikinci durum, yemek sonrası birkaç saatlik dönemdir. Bu sürede kan glukoz konsantrasyonu yükseldiği için pankreas β -hücreleri büyük miktarda insülin salgılar. İnsülin, glukozun kas hücreleri içine hızla taşınmasına neden olur. Bu taşınma sonucu kas hücresi, enerji kaynağı olarak glukozu YA'lerine tercih eder. Egzersiz yapmayan kas dokusunda, enerji kaynağı olarak kullanılmayan glukozun büyük kısmı kas glikojeni halinde depolanır. Bu depolanma sınırı konsantrasyonun %2-3'ü kadardır. Glikojen daha sonra kas tarafından enerji üretimi için kullanılabilir. Bu depo, kaslar için özellikle kısa sürede büyük enerji üretimi için yararlıdır (41).

2.6. Yüksek Yağlı Diyet

Son 15 yılda yaşam tarzındaki gelişmeye karşın, sağlıksız beslenme ve hareket azlığı nedeniyle optimal enerji dengesinin sağlanması ve sağlıklı vücut ağırlığına sahip olma oranı azalmaktadır. Diyetle ilişkili kronik hastalıklar tüm dünyada ve tüm sosyo-ekonomik gruplarda artış göstermektedir (42). Gıda sektöründeki eğilimler de yüksek kalori içeren, özellikle doymuş yağdan zengin

besin tüketimine katkıda bulunmaktadır. Beslenme ve yaşam tarzındaki değişiklikler diyetle ilişkili hastalıkların, obezite, diabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser türlerinin görülme sıklığında artışa ve böylece sakatlıklara ve erken ölüme neden olmaktadır. Bu hastalıklar, malnütrisyon ve enfeksiyon hastalıkları gibi geleneksel halk sağlığı konularının önüne geçerek sağlık giderlerinde artışa yol açmaktadırlar. 2020 yılına kadar beslenmeye bağlı kronik dejeneratif hastalıkların tüm ölümlerin %75'ine, iskemik kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin %71'ine, inmeyle ilgili ölümlerin %75'ine ve diyabete bağlı ölümlerin %70'ine katkıda bulunacağı öngörülmektedir (1).

Yağlar ve YA'leri erken dönemde büyüme ve gelişmenin kilit faktörleri iken, geç dönemde de diyetle ilişkili kronik hastalıkları etkilemektedirler. Erken embriyonik gelişme sırasında diyetdeki YA'leri yağda eriyen vitaminlerin absorpsiyonunu sağlayarak, düzgün gelişme ve yaşam için kritik rol oynarlar. Bu nedenle ihtiyaç ve öneriler, her bir YA'ne özel olarak ve yaş ile fizyolojik durum göz önüne alınarak belirlenmelidir. Uzun zincirli poliansatüre YA'lerinin (LCPUFA) yenidoğan ve infantlarda mental gelişim için önemli olduğuna dair, ayrıca bu yağların uzun dönemde sağlığı koruyucu ve spesifik bazı kronik hastalıkları önleyici olduğuna dair inandırıcı bulgular olduğu görülmüştür.

WHO, doymuş YA'lerinin tüketilmesi ile artmış DM riski arasında pozitif korelasyon mevcut olduğunu, doymuş YA'lerinin tüketilmesinin metabolik sendrom bileşenleri ile ilişkili göstergelerde değişiklik yaptığını dair yeterli kanıt olmadığını bildirmiştir. Ayrıca, diyetle alınan total yağ miktarının koroner kalp hastalığı ve kanserlerdeki etkisini gösteren inandırıcı bir kanıt olmadığını bildirilmiştir. Bu nedenle öncelikle beslenmedeki total yağ ile vücut ağırlığı arasındaki potansiyel ilişki sorun yaratmaktadır. Trans YA'lerinin ise azaltılması gerektiği, böylece koroner kalp hastalıklarının oluşma riskinin azalacağına dair inandırıcı kanıtlar olduğu bildirilmiştir.

2.6.1. Yağ Tüketimi Hakkında WHO'nun Önerisi (2010)

- Erişkinler için toplam enerjinin %15'i yağlardan gelmelidir.
- Üreme çağındaki kadınlar ve vücut kitle indeksi 18,5'in altında olanlar için toplam enerjinin %20'si yağlardan gelmelidir.
- Yağlardan gelen enerji, toplam enerjinin %30-35'ini aşmamalıdır.
- Doymuş YA'lerinin, poliansature YA'leri ile değiştirilmesi (PUFA) ve doymuş YA'lerinden alınan enerjinin toplam enerjinin %10'unu aşmaması gerekmektedir.
- İnsülin direnci oluşumu, sağlıklı beslenme ve fiziksel aktivite ile önlenilecektir (42).

2.7. Lipidler

Lipidler, biyolojik zarların temel yapıtaşlarını oluşturan hidrofobik moleküllerdir. Vücudun başlıca depo enerji şeklini oluşturmalarının yanı sıra, koenzimler, elektron taşıyıcıları, hidrofobik tutucular, emülsiyon oluşturan ajanlar, hormonlar ve hücre içi haberciler olarak da önemli rolleri bulunur (43). Kimyasal olarak lipidler, hidrolizlerinde YA'leri açığa çıkaran veya YA'leri ile birleşerek esterler oluşturan kompleks alkoller olarak tanımlanabilirler. Bazı lipidler siyalik asit, fosfor, amino veya sülfat grupları gibi lipid olmayan gruplar da içermektedirler. Bu grupların varlığı, lipid moleküllerine hem su hem de organik çözücülere karşı afinite kazandırır. Bu afinite biyolojik zarların oluşmasında önemlidir.

Lipidler kimyasal yapılarına göre beş alt gruba ayrılabilirler:

1. Sterol türevleri

- Kolesterol ve kolesterol esterleri
- Steroid hormonlar
- Safra asitleri
- Vitamin D

2.Yağ Asitleri

- Kısa zincirli (2-4 karbon atomlu)
- Orta boy zincirli (6-10 karbon atomlu)
- Uzun zincirli (12-26 karbon atomlu)
- Prostaglandinler

3.Gliserol esterleri

- Trigliseritler (TG), digliseritler, monogliseritler
- Fosfogliseritler

4.Sfingozin türevleri

- Sfingomyelin
- Glikosfingolipitler

5.Terpenler (İzopren türevleri)

- Vitamin A
- Vitamin E
- Vitamin K (44).

2.7.1 Yağ Asitleri

Vücudun gereksinimi için YA'leri; diyet, yağ dokusu ve de-novo sentez olmak üzere üç kaynaktan sağlanmaktadır. Canlılarda en önemli enerji kaynağı, uzun zincirli YA'lerinin asetil-CoA molekülüne kadar oksidasyonudur. YA oksidasyonu sırasında açığa çıkan elektronlar, mitokondrideki solunum zincirinde ATP oluşumunda kullanılmaktadır. Açlık durumunda glukoz yetersiz olduğunda, asetil-CoA karaciğerde keton cisimlerine dönüştürülmekte ve beyin dahil pek çok dokuya taşınarak enerji kaynağı oluşturmaktadır (45). Depo edilen lipidler YA türevleridir. YA'leri hidrokarbon türevleridir ve yüksek miktarda indirgenmiş durumda bulunurlar. YA'leri 4 ve 36 arasında karbon içeren (C₄ – C₃₆) hidrokarbon zincirli karboksilik asitlerdir. Bazı YA'lerinde bu zincir tamamen doymuştur ve dallanmamıştır, bazılarında ise bir veya daha fazla çift bağ bulunur. Çok az bir kısmı üç karbonlu halkalar, hidroksil grupları veya metil gruplu dallar içerir. Bu bileşikler için basit bir terminoloji zincir uzunluğunu ve çift bağ sayısını belirler. YA'leri için en sık kullanılan sistemik adlandırma karbon sayısı ve doymuşluk derecesini gösteren adlandırmadır. Örneğin 18

karbonlu ve bir çift bağ içeren oleik asit 18:1 şeklinde kısaltılmıştır. Doymuş YA'lerinde, karbon sayısını belirten Latince sözcüğün sonuna anoik, doymamış asitlerde ise enoik eki eklenir. Örneğin Oktanoik asit, oktadekanoik asit (oleik asit). Tek çift bağ içerenlere genel olarak monoenoik, birden fazla çift bağ içerenlere polienoik YA'leri denir. Çift bağ Δ simgesi ile belirtilir ve sağ üst tarafına çift bağa katılan karboksil uca daha yakın olan karbon atomlarının sayısı virgülle ayrılarak yazılır. Örneğin Linolenik asit 18:3($\Delta^{9,12,15}$). n- ön eki ise normal, dallanmamış yapıyı belirtir (43). YA'lerinin yıkımının iki karbonlu birimler (asetil) kaybederek gerçekleştiği ilk kez 1905 yılında F. Knoop tarafından gösterilmiştir. Yıkım sırasında YA'nin β -karbonunda oksidasyon gerçekleştiği için bu olay β -oksidasyon olarak adlandırılmıştır. Bu olay ATP kullanılarak gerçekleşir (45).

2.7.2. Diyetle Alınan Lipidler

Erişkin bir kişi diyetle günde ortalama 60-150 gram yağ alır. Bu yağların %90'dan fazlası TG'tir. Diğer diyetel yağları kolesterol esterleri, fosfolipidler, serbest yağ asitleri (SYA) oluşturur (4). Gelişmiş ülkelerde enerji gereksiniminin %40 veya daha fazlası, besinlerle alınan triasilgliserollerden sağlanmaktadır (45). TG'ler, gliserolün 3 alkol grubunun YA'leri ile esterleşmesi sonucu oluşurlar. İçerdikleri YA'lerinin kimyasal özellikleri, çift bağ varlığı veya yokluğu, çift bağların sayısı ve yeri ve doymamış YA'lerinin cis-trans şekli, biyolojik davranışlarını belirler.

1. Doymuş yağ: TG'ler yan zincirlerinde çift bağ bulunmayan YA'lerinden oluşuyorsa, doymuş yağ olarak kabul edilir. Doymuş YA'lerinin ana kaynakları et ve süt ürünleridir.
2. Tekli doymamış yağ: Esas olarak çift bağ içeren YA'lerinden oluşan TG'lere tekli doymamış yağ denir. Sebze ve balıkta bulunur.
3. Çoklu doymamış yağ: Esas olarak birden fazla çift bağ içeren YA'lerinden oluşan TG'lere çoklu doymamış yağ denir.

- a. ω -6 YA'leri: Bunlar çok uzun zincirli, çoklu doymamış YA'leridir ve ilk çift bağ 6. karbon atomunda başlar. Kabuklu yemişler, zeytin, susam, mısır yağları bu YA yönünden zengindir.
 - b. ω -3 YA'leri: Uzun zincirli, çoklu doymamış YA'leridir ve ilk çift bağ 3. karbon atomundan başlar. Bitkilerde ve balık yağında bulunur.
4. Trans YA'leri: Kimyasal olarak doymamış YA olarak sınıflandırılır, fakat vücutta doymuş gibi davranır. Bitkilerde doğal olarak bulunmaz, sıvı bitkisel yağların hidrojenizasyonu sırasında oluşur.
 5. Diyet kaynaklı kolesterol: Sadece hayvansal gıdalarda bulunur.
 6. Bitki steroller: Hidrojene bitki steroller ve sterol esterleri ticari margarinlerde bulunabilir (46).

Bitkisel yağlar, süt ürünleri ve hayvansal yağlar gibi nötral yağların çoğu, basit ve karışık triasilgliserollerin kompleks karışımından oluşmuştur. Bu triasilgliseroller zincir uzunluğu ve doymuşluk derecesi farklı, çeşitli YA'leri içerir.

Diyetle alınan üç çeşit yağın, YA bileşimi yaklaşık olarak şu şekildedir:

- Sıvı bitkisel yağ (zeytinyağı): %15 C_{16} ve C_{18} doymuş YA, %80 C_{16} ve C_{18} doymamış YA, %5 C_4 - C_{14} doymuş YA.
- Katı yumuşak yağ (tereyağı): %40 C_{16} ve C_{18} doymuş YA, %40 C_{16} ve C_{18} doymamış YA, %20 C_4 - C_{14} doymuş YA.
- Katı sert yağ (sığır yağı): %50 C_{16} ve C_{18} doymuş YA, %45 C_{16} ve C_{18} doymamış YA, %5 C_4 - C_{14} doymuş YA (43).

2.7.3. Depo Lipidleri

Diyetle alınan TG'ler, saf tanecikler halinde ve büyük miktarlarda depolanabilmeleri, hidrofobik olmaları ve içerdikleri uzun hidrokarbon zincirlerinin büyük oranda indirgenmiş olması nedeniyle, yoğun enerji depoları olarak kullanılmaya çok elverişlidirler (45).

YA'leri, adipoz dokuda vücudun en büyük enerji kaynağı olarak depolanırlar. Bir gram yağ için, YA'nin tam oksidasyonu ile 9 kcal enerji elde edilir. Yağ dokularının lipid depolarına katılan YA'lerinin çoğu diyetteki yağlardan ve daha az bir miktarda ise karaciğerden de-novo sentez ile sağlanır. Diyetle alınan gıdaların emilim aşamasında, alınan enerji miktarının vücut tarafından harcanan miktarı aşması durumunda karaciğerde YA'lerinin de-novo sentezi gerçekleşir. Karaciğer, triasilgliserolü çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) partikülü olarak paketleyerek, yağ ve kas dokusu gibi karaciğer dışı dokuların kullanımı için kana salgılar. Lipid içeren bir yemekten sonra, barsaktan şilomikron içinde ve karaciğerden VLDL içinde gelen triasilgliserollerin lipoprotein lipaz enzimi ile hidrolizi sonucu yağ dokusunda depolanmak üzere YA'leri açığa çıkar. Bu ekstrasellüler enzim, birçok dokunun özellikle yağ ve kas dokusunun kapiller duvarına bağlı olarak bulunmaktadır. Depolanacak triasilgliserol sentezinin omurgasını oluşturacak olan gliserol 3-fosfat sentezi için gerekli olan gliserol kinaz enzimi yağ hücrelerinde bulunmaz. Bu nedenle yağ hücreleri gliserol 3-fosfatı glukoz metabolizmasından sağlamak zorundadır (4). Adipoz doku dışında, yüksek miktarda TG depolayabilen bir bölge de İskelet kasıdır. TG'ler obez ve tip 2 DM olgularında kasta birikir ve insülin direnci ile pozitif korelasyon gösterir. Obezite ve insülin direnci arasındaki fizyolojik mekanizmalar karmaşık olsa da, insülin sinyalizasyonunun bozulmasına yol açan YA metabolitlerinin birikimi sonucunda bozulan lipid metabolizması ile ilişkilidir. İskelet kası YA uptake'i ve oksidasyonu için, ayrıca insülinle stimüle olan glukoz kullanımı için en önemli bölgedir, bazı beyaz yağ dokularında bildirilene eş miktarda trigliserit lipaz eksprese eder (46). Sonuç olarak, YYD ile beslenme durumunda, glukoz ve insülinin yüksek düzeyleri TG depolanmasına yol açar. Yüksek insülin düzeyi, hormona duyarlı lipazın inaktif durumda kalmasına neden olarak, TG yıkımının baskılanmasına ve depolanmasına yol açar. İyi beslenme durumunda kaslar için glukoz başlıca enerji kaynağıyken, YA'leri yakıt olarak ikinci sırada gelir (4).

2.8. Lipotoksisite

İlk kez 1963'te Randle hipotezi, yüksek YA konsantrasyonunun, iskelet kaslarında lipid oksidasyonunun artmasından sorumlu olduğunu ve bu durumun, glikolizde inhibisyona yol açtığını öne sürmüştür (5). Lipotoksisite terimi ilk defa 1995'te Unger tarafından kullanılmıştır (6). Aşırı miktarda lipidin, non-adiposit hücrelerde aşırı miktarda TG depolanmasına ve lipotoksisite aracılığıyla hücrel metabolizmanın bozulmasına yol açtığı yönünde çok sayıda bulgu vardır. YA'lerinin en azından Zucker diyabetik şişman farelerde β hücre ölümüne yol açtığının saptanmasından sonra, YA'leri β hücrelerinde lipotoksisiteyi başlatabilir denilmiştir (1). TG birikimi, iskelet kasında insülin direncine ve glukoz kullanımında bozulmaya, pankreatik β -hücrelerinde ise apopitoza, böylece insülin sekresyonunda azalma sonucu DM'a yol açmaktadır (1). İnsülin direnci, dolaşımda normal konsantrasyonlardaki insüline biyolojik yanıtın azalması olarak tanımlanır. β -hücre disfonksiyonu ise insülin direncini kompanze etmek için pankreasın yeterli insülin üretememesidir (3). Aşırı miktarda YA alınması TG'lerin pek çok dokuda birikmesine, özellikle yağ dokusunda kitle etkisiyle lipolizin artmasına yol açar. İnsülin direnciyle birlikte adipositte meydana gelen bu olay, YA'lerin kas, karaciğer, pankreas gibi pek çok dokuya yayılmasına neden olur. İnsülin direnci olan olgularda adipoz ve non-adipoz dokularda YA-bağlayıcı ve transport proteinleri YA'lerinin uptake'ini artırır. İskelet kasında artmış lipid oksidasyonu, glukoz oksidasyonunda ve non-oksidatif glukoz uptake bozukluklarında bozulmaya katkıda bulunabilir. Pankreasta SYA'lerine uzun süre maruziyet, lipotoksisite yoluyla insülin salgılanmasında azalmaya yol açabilir. Karaciğerde SYA'leri glukoneogenezi indükler ve insülin klirensini azaltırlar (1). İnsülin direncinde, artmış plazma SYA konsantrasyonu gözlenir. SYA'leri hem kas dokusunda glukoz alımını azaltmak, hem de karaciğerde glukoneogenezi arttırmak yoluyla insülin karşıtı etki gösterirler (47).

Obezite ve tip 2 DM'da miyositlerdeki aşırı lipid birikimi, artmış YA uptake'i ve bozulmuş YA oksidasyonu ile ilişkilidir. Azalmış YA oksidasyonunun biyokimyasal mekanizması, YA sentezinde asetil-CoA'dan sentezlenen ilk ürün

olan malonil-CoA'nın konsantrasyonunun artması sonucu karnitin palmitoil translokaz (CPT) aktivitesinin azalması, böylece asetil-CoA'nın mitokondriye girişinin azalması olabilir. Uzun zincirli YA'lerinin sitozolik havuzda artması, glikojen sentazı direk olarak inhibe edebilir ve insülin sinyalizasyonu ve glukoz transportu ile etkileşebilir. Obez ve diyabetik olgularda insülin direnci, lipoliz ve lipid oksidasyonunun baskılanmasına engel olur. Bu olgularda açlıkta lipid oksidasyonu yavaş olmasına karşın, insülinle stimüle olan durumlarda artmış lipid oksidasyonu gözlenir. Yavaş lipid oksidasyonu iskelet kasında fazla lipid birikiminin ana sebebidir, böylece substrat yarıışı mekanizması sonucunda insüline dirençli glukoz metabolizması ortaya çıkar. Dahası dolaşımdaki aşırı YA'leri, iskelet kasında YA translokaz ve YA transport enzimlerini uyarırlar. Oksidasyon ve re-esterifikasyon arasındaki denge, dokularda YA depolanmasında en önemli belirleyici faktördür (1).

2.9. İnsülin

İnsülin, pankreasın Langerhans adacıklarında β -hücreleri tarafından üretilen polipeptid yapıda bir hormondur. Dokular tarafından yakıtların kullanımını düzenleyen en önemli hormondur. İnsülin salgılanması için en güçlü fizyolojik uyarı plazma glukoz konsantrasyonunun artmasıdır. %80-100 mg plazma glukoz düzeyi, insülin salınımı için eşik değeri oluşturur. %300-500 mg arasındaki glukoz seviyelerinde insülin yanıtı en üst düzeye ulaşmaktadır. İnsülin etkisi ile oluşan yanıtlar iki grupta toplanabilir: Birinci gruptaki yanıt, plazma membranı düzeyinde, bazı iyonlar, amino asitler ve glukoz için taşıma sistemlerinin harekete geçmesidir. İkinci gruptaki yanıt, karbonhidrat ve lipid metabolizması ile ilgili glukokinaz, fosfofruktokinaz ve piruvat kinaz gibi birçok enzimin miktarının artması ve gen transkripsiyonu, mRNA, DNA sentezi olmasıdır. İnsülin, organizmadaki tek hipoglisemik etkili hormondur. Kas dokusu ve adipoz dokuda kolaylaştırılmış difüzyonla glukozun hücre içine taşınımını sağlar. Lipojenik etkili bir hormon olan insülin, karaciğer ve adipoz dokuda hormona duyarlı lipaz aktivitesini baskılayarak lipolizi engeller. Böylece dolaşımda SYA'lerinin düzeyini azaltır. SYA'leri glikolizi baskılar ve

glukoneogenezi uyarır, sonuçta insülin SYA'lerini azaltmak yoluyla karbonhidrat metabolizmasına katkıda bulunmaktadır. İnsülin, glukozun yağ hücrelerine taşınmasını ve metabolizmasını artırarak lipid depolarının artmasına yol açar. İnsülinin plazma yarı ömrü insanda 5-10 dakika arasında değişmektedir. İnsülin karaciğer başta olmak üzere, böbrekler ve plasenta dahil yıkımdan sorumlu insülinaz enziminin bulunduğu tüm periferik dokularda yıkılmaktadır (48).

2.9.1. İnsülin direnci

İnsülin direnci; karaciğer, yağ dokusu ve kas dokusu gibi hedef dokuların, dolaşımdaki normal konsantrasyonlardaki insüline biyolojik yanıtının azalması olarak tanımlanır (3, 4). Yüksek oranda doymuş yağ içeren besinlerin kronik tüketimi, insülin hormonu fonksiyonunda ilerleyici bir bozulmaya yol açmaktadır (22). İnsülin direnci oluştuğunda, yağ dokusunda YA depolanması ve salınımı bozulur. Çünkü postabsorptif dönemde bazal lipoliz artmış ve insülinle supresyon azalmıştır. Postprandial dönemde, adipoz doku depolarından nonadipoz dokulara net lipid akışı olur. Artmış viseral yağ deposunda lipoliz belirgindir, bu nedenle SYA'leri artarak nonadipoz dokularda farklı etkiler ortaya çıkarırlar. Harcanandan fazla enerji alındığında, hem adipoz hem de nonadipoz dokularda TG birikimi olur. Fakat adipositlerdeki insülin direnci nedeniyle lipid birikimi azalır ve nonadipoz dokulara lipid girişi artar. Nonadipoz dokularda sitozolik TG birikimi insülin direnci oluşumuna yol açar (49).

Koves ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda mitokondriye aşırı miktarda lipid girişinin, trikarboksilik asit döngüsü ile yağ oksidasyonu arasında dengesizlik oluşturarak YA oksidasyonunun tamamlanamamasına ve lipotoksik etkili kısa zincirli yağ açılıkarnitinlerin birikmesine yol açtığını göstermişlerdir (50).

Altta yatan mekanizmalar tam olarak açıklanamasa da, bu lipotoksik metabolitlerin insülin sinyalizasyonunu bozduğu ve YYD ile beslenen Wistar sıçanlarda insülin direncini başlattığı düşünülmektedir (2). İnsanda metabolik fizyoloji çalışmalarında, insülin direnci ölçümü için kullanılan klasik formüller şunlardır: HOMA-IR (homeostasis model index of insulin resistance) =[insulin

$(\text{mU/l}) \times \text{glukoz}(\text{mmol/l})/22.5]$ ve QUICKI (quantitative insulin check index of insulin sensitivity) = $1/[\log(\text{insulin}) + \log(\text{glukoz})]$ (51).

Matthews ve arkadaşlarının ilk kez 1985'te önerdiği HOMA-IR, sadece açlık plazma glukoz ve insülin düzeyleri ile hesaplanabilmesi nedeniyle en sık başvurulan formüldür. Bu yöntemle tahmini olarak elde edilen insülin direnci, öglisemik klemp, açlık insülin konsantrasyonu ve hiperglisemik klemp gibi uygulanması daha zor olan yöntemlerle korelasyon göstermektedir (52).

2.10. Orexinler Ve Orexin Reseptörleri

Orexinler ilk olarak lateral ve posterior hipotalamusta yeme davranışı ve enerji dengesini etkileyen peptidler olarak bulunmuşlardır (53). Orexin A (OXA) ve B (Hypocretin 1 ve 2 olarak da bilinir) prepro-orexinden türeyen nöropeptidlerdir. Orexin üreten nöronlar; lateral hipotalamik alanda (LHA), perifornikal alanda (PF) ve posterior hipotalamusta bulunurlar. Orexin aktiviteleri, beyinde farklı bölgelere dağılmış olan iki G-protein-kenetli reseptör, orexin-1 reseptör (OX1R) ve orexin-2 reseptör (OX2R) ile iletilir. Hipotalamusta OX1R mRNA en fazla ventro medial hipotalamik nükleusta (VMH) bulunurken, OX2R tüberomamillar nükleus, paraventriküler nükleus, arkuat nükleus ve LHA ile PF bölgelerinde yoğun olarak eksprese olur. Orexin nöronlarının uyku/uyanıklık döngüsü ve enerji homeostazında kritik rol oynadığı bilinmektedir (54).

Orexinler ve fonksiyonları temel olarak santral sisteminde (SSS) tanımlanmışsa da, SSS dışında fonksiyonlarını gösteren pekçok veri bulunmaktadır. Orexinler ve reseptörleri barsak, pankreas, adrenal bez, böbrek, adipoz doku ve üreme organlarında gösterilmiştir. Orexinler ve nöronlarının barsakta submukozal ve miyenterik pleksuslarda buldukları ve intestinal motiliteyi düzenledikleri gösterilmiştir. Pankreasta fonksiyonları iyi bilinen bazı peptidlerle kolokalize oldukları gösterilmiştir. Nervus vagusun afferent liflerinde reseptörleri saptanmış ve kolesistokinin sekresyonuna cevabı düzenledikleri gösterilmiştir. OXA vagal yolla gastrik asit sekresyonunu stimüle eder, duodenal bikarbonat sekresyonunu ise vagal kontrolden bağımsız olarak

uyarır. SSS'ni etkilemeden adrenokortikal hücreleri aktivite eder. Orexinlerin ovulasyonda da rol aldığına dair bulgular mevcuttur, orexin reseptörünün sıçan overinde, hipotalamus ve hipofizinde eksprese olduğu gösterilmiştir. OXA'nın plazma düzeyleri metabolik duruma göre değişkenlik gösterir. Fakat pekçok organda orexinlerin etki mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Orexinlerin kan basıncı, glukoz homeostazı, adipoz doku metabolizması ve üreme fonksiyonu üzerinde rolleri olduğunu düşündüren bulgular mevcuttur (10).

Aslında orexin nöronları; glukoz, leptin ve ghrelin gibi periferik metabolik sinyaller yoluyla beslenme durumunu direk olarak algılayabilirler. Prepro-orexin mRNA ekspresyonu kan glukoz değerleri düştüğünde artar ve kan glukoz değerleri arttığında azalır. Diğer yandan, orexin eksikliği, insanda obezite ve tip 2 DM ile ilişkili olarak narkolepsiye yol açar. Hem prepro-orexin knockout fareler hem de orexin nöron ablasyonu olan fareler azalmış gıda alımına rağmen narkoleptik davranış bozukluğu gösterirler (55). Bu nedenle orexin, enerji durumu ve uyanıklık arasında bağlantı sağlayan esansiyel bir faktör olarak kabul edilmektedir (54). Glukozla inhibisyonun aksine, amino asitler K_{ATP} kanallarını inhibe ederek orexin nöronlarının elektriksel aktivitesini stimüle ederler. Üçüncü major besin, yani YA'leri, orexin nöronlarının aktivitesini etkilemez (9).

2.11. Adiponektin

Beyaz yağ dokusu, TG formundaki enerji deposunu içermesinin yanısıra, glukoz ve yağ metabolizmalarının düzenlenmesinde bir endokrin organ gibi davranır (21). Adipositlerden; Leptin, Adiponektin, TNF, Resistin, Visfatin, Apelin gibi çok sayıda madde salgılandığı saptanmış ve adipokin olarak isimlendirilmişlerdir (56). Adiponektin, adipositlerden sentezlenen ve 244 aminoasitten oluşan protein yapıda bir moleküldür. N-ucunda 18 aminoasit uzunluğunda kollajen benzeri sinyal peptidi bulunmaktadır ki bu kısım, proteoliz sırasında ayrılan kısımdır. Dolaşımda 3 oligomerik formunun (düşük moleküler ağırlıklı (LMW) trimer, orta-moleküler ağırlıklı (MMW) heksamer ve

yüksekmoleküler ağırlıklı (HMW) 12-18-mer adiponektin birleşmesi ile oluşan multimerik formda bulunduğu ve lokal olarak proteoliz ile globüler (trimerik) forma dönüştüğü düşünülmektedir (56). İki çeşit adiponektin reseptörü (AdipoR1 ve AdipoR2) tanımlanmıştır. Temel olarak AdipoR1 iskelet kasında, AdipoR2 ise karaciğerde bulunur (19). AdipoR1 ve AdipoR2 %67 oranında homologdurlar. Her iki reseptörde de G-proteini çift reseptörleriyle benzerlik gösteren yedi transmembran bölgesi bulunmaktadır. Globüler adiponektinin AdipoR1'e daha fazla afinite gösterdiği bildirilmiştir. Adiponektin ve reseptörlerinin etkileşmesiyle ortaya çıkan etkilerin çoğunun adenosin monofosfat kinaz (AMPK), peroksizom proliferatör-aktive reseptör α (PPAR α) ve p38 aracılığıyla olduğu düşünülmektedir (56).

Adiponektin bir adipokin olmasına rağmen, son zamanlarda karaciğer, kardiyomiyositler ve kemik iliği, kemik formasyon hücreleri, miyositler, kardiyomiyositler, fetal doku gibi farklı dokulardan da salgılandığı gösterilmiştir (57). Adiponektin, plazmada diğer hormonlara ve sitokinlere oranla oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur (58). Hedef organlar üzerinde gösterdiği etkiler yoluyla tüm vücut metabolizmasını etkilemektedir. Adiponektinin, insülin duyarlı dokularda glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu gösterilmiştir. Diğer adipokinlerin aksine, insülin sensitivitesini artırıcı etkisi bulunur ve anti-diyabetik, anti-aterojenik bir maddedir (56). Kaslarda ve karaciğerde glukoz kullanımını ve YA oksidasyonunu artırarak kan glukoz ve SYA düzeylerinin düşmesine neden olur (19).

Adiponektin düzeyleri; vücut kitle indeksiyle ters orantılıdır, insülin sensitivitesi ile pozitif korelasyon gösterir ve anti-aterojenik etkileri bulunur (59). Adiponektin düzeylerindeki azalmanın birçok hastalıkla ilişkili olduğu tespit edilmiştir, diğer adipokinlerden farklı olarak adiponektin seviyeleri santral yağ birikimi ile ters orantılıdır ve obezite ve tip 2 DM'ta azalmaktadır (60, 61).

2.12. Leptin

Leptin; sitokin ailesiyle yapısal olarak ilişkili olan, 167 aminoasitli bir proteindir. Ob-geninin pozisyonel olarak klonlanması ile keşfedilmiştir ve temel olarak beyaz yağ dokusunda, ayrıca mide, hipotalamus, hipofiz, iskelet kası, plasenta ve meme bezlerinde eksprese olur. İnsanda gıda alımı ve vücut ağırlık homeostazının santral düzenlenmesinde etkilidir (62, 63). Leptin, temel olarak beyaz yağ dokusu tarafından depo edilmiş enerji miktarı ile doğru orantılı olarak dolaşıma salınır, spesifik leptin reseptörlerine bağlanarak etki gösterir ve gıda alımını azaltmanın yanısıra termogenez ile enerji tüketimini artırır (62). Önceleri anti-obezite hormonu olarak düşünülse de beslenme durumu ile ilgili pek çok fizyolojik süreçte rol aldığına dair bulgular giderek artmaktadır (63). Leptinin hipotalamusta ve değişik periferik dokulardaki etkileri, leptin reseptörü OB-R'nin uzun izoformu aracılığıyla ortaya çıkar. Bu reseptörün izoformları hipotalamik nükleuslarda, overde, prostatta, testiste de eksprese olur, bu da leptinin sadece enerji homeostazında değil, üreme fonksiyonları dahil pek çok fizyolojik işlemde direkt etkisi olduğunu göstermektedir (63). Leptin reseptörleri, ayrıca pankreasta asinar hücrelerde de gösterilmiştir. Sıçanlarda leptinin pankreatik sekresyonları nörohormonal kolesistokinin-vagal-bağımlı mekanizma ile azalttığı gösterilmiştir (62). Apelin, orexin-A ve leptinin muhtemelen diğer faktörlerle birlikte, tokluk hissine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (62). Leptin vücutta depolanmış enerji miktarının dolaşımdaki bir sinyali gibidir. Neuropeptid Y ve agouti-related peptide (AgRP) eksprese eden nöronlar gibi hipotalamik oreksijenik yollarda feedback inhibisyon yapar, proopiomelanocortin (POMC) eksprese eden anoreksijenik nöronları ise stimüle eder. Sıçanlarda diyetle indüklenen obezitede kazanılmış leptin direncinin, predispozan bir faktör olduğu bilinmektedir. Obezite, YYD ile beslenen sıçanlarda ve insanlarda hiperleptinemi ile çok sıkı ilişki içindedir, obezite oluştuktan sonra eksojen leptin verilmesi gıda alımını veya vücut ağırlığını azaltamaz. Bu gözlemler diyetle indüklenen obezitede santral ve periferik insülin direncine benzer şekilde, leptinin oluşturduğu stop sinyaline anahtar hipotalamik yollarda bir bozulma olduğunu düşündürmektedir. Dahası, obeziteyle indüklenen insülin direncinin altında yatan hücresel

mekanizmalar leptin sinyalizasyonunu da bozabilir (64). Leptin nöroendokrin sistemde yemek yeme ve enerji tüketimini düzenleyen anahtar nöropeptiddir. Periferik dokularda sempatik sinir sistemi uyarısını artırarak enerji harcanmasını artırmaktadır (2). Ayrıca leptin, pankreas β -hücrelerinden insülin salgılanmasını güçlü şekilde inhibe etmektedir (56).

2.13. Tümör Nekrozis Faktör- α

TNF- α , inflamatuvar cevap oluşumunda sitokin kaskadının başlatılması ve düzenlenmesinde merkezi rol oynayan sitokindir. Membrana bağlı 26 kDa bir prekürsör proteinin TNF- α dönüştürücü enzim ile 17 kDa aktif enzime dönüştürülmesi ile oluşur (65). Dolaşımdaki TNF- α ile obezite ve tip 2 DM arasındaki ilişkiyi gösteren pek çok çalışma mevcuttur (66-68). TNF- α , insülin reseptöründe tirozin kinaz fosforilasyonunu inhibe ederek, insülin sinyalizasyonunda defekte ve insülin direnci ve glukoz transportunda bozulmaya yol açar (69). TNF- α 'nın iskelet kasındaki insülin sensitivitesine etkisini gösteren in vitro ve in vivo çalışmalar bulunmaktadır. TNF- α iskelet kasında insülin sinyalizasyon yolağını kilit regülatur proteinler düzeyinde inhibe eder. Bu çalışmalarda TNF- α 'nın insülin direncine sekonder olarak yükselmediği, fakat glukoz metabolizmasında direk patojenik rolü olduğu gösterilmiştir. İnsülin direnci olan hastaların iskelet kaslarında artmış TNF- α düzeyleri bulunmuştur. Düzenli egzersiz ile hem insülin sensitivitesinin arttığı, hem de TNF- α düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Obezitede insülin sensitivitesini azaltır ve obez hastaların adipoz dokularında TNF mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Adipoz dokudaki TNF- α 'nın çoğunun adipositler tarafından değil, bunları çevreleyen stromal hücreler ve makrofajlar tarafından üretildiği düşünülmektedir (68). TNF- α adipoz dokuda adiponektin üretimini baskılamaktadır (70).

2.14. İnterlökin-6

IL-6; aktive monositler, makrofajlar, fibroblastlar, endotelial hücreler, adipositler ve pek çok tümör hücresi tarafından salgılanan 26 kDa ağırlığında bir proteindir. 212 aminoasitten oluşmuştur ve 7p21 no.lu kromozomda eksprese olur (71). İlk kez 1986'da B hücre diferansiyasyon faktörü olarak keşfedilmiştir. Akut faz proteinlerinin indüksiyonu ile oluşan akut faz cevabında, monositlerin makrofaja diferansiyasyonunda, T hücrelerinin proliferasyonu ve apoptozdan korunmasında ve Th2 (T helper 2) sitokin üretiminde rol alır. Monosit ve makrofajların akut inflamasyonda, T hücrelerinin ise kronik inflamasyonda IL-6 için temel üretim bölgeleri olduğu düşünülmektedir (72). Farklı hücrelerde IL-6 ekspresyonu IL-1, TNF- α , IL-4, interferon gama gibi farklı uyarılarla gerçekleşir. Her hücrede bu uyarılara cevap farklı olur, bir hücrede IL-6 ekspresyonunu uyaran bir sitokin, diğer bir hücrede IL-6 ekspresyonunu baskılayabilmektedir (71). IL-6 hedef hücrelerdeki (mIL-6R, CD126) reseptörünün membrana bağlı IL-6 reseptör alfa subünitesine bağlanarak etki eder (72). İlk olarak makrofajlar tarafından salgılanan bir immun-modülatör sitokin olarak tanımlansa da, IL-6'nın glukoz metabolizmasını da içeren pek çok non-immun olayda da rolü olduğu gösterilmiştir (73). Obezlerde IL-6 düzeyleri artmıştır ve bunun nedeni büyük olasılıkla yağ dokusunda IL-6 üretilip salgılanmasıdır. Adipoz doku TNF- α ve IL-6 salgılayarak büyük olasılıkla obeziteye bağlı insülin direnci gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Kern ve arkadaşları 2001'de yaptıkları çalışmada vücut kitle indeksi 30-40 kg/m² olan obez kişilerde plazma IL-6 düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (74). IL-6, hiperinsülinemik durumun mediatörlerinden biri olarak gösterilmektedir (75).

2.15. Transforming Growth Factor- β

TGF- β , fibrozis gelişiminde rol alan temel sitokindir. TGF- β dimerik polipeptid büyüme faktörlerinin bir üyesidir ve memelilerde 1, 2 ve 3 olmak üzere 3 formu tanımlanmıştır. TGF- β ailesinin hücre büyümesi ve farklılaşmasında geniş rolleri vardır. Tip 1, 2 ve 3 hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak bu hücreler

düzenlemeleri yaparlar (76). TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 izoformlarının varlıkları, immünohistokimyasal yöntemlerle insan pankreasında gösterilmiştir. Adacık hücreleri, asinar hücreler ve duktal hücrelerde sitoplazmik immünoaktiviteleri bulunmuştur. Endokrin pankreasta, adacık hücreleri TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 için diffüz sitoplazmik immünohistokimyasal boyanma göstermiştir. Sadece TGF- β 2 ve TGF- β 3 birkaç endokrin hücrede yoğun immün boyanma paterni göstermiştir. Bu adacık hücrelerinin büyük çoğunluğu insülin de eksprese etmiştir. TGF- β izoformlarının pankreasta otokrin ve parakrin mekanizmalarla etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır (77).

TGF- β hücre çoğalması ve diferansiyasyonu, gelişme, anjiyogenez, yara iyileşmesi ve fibrozis gibi pek çok patofizyolojik olayda rol alan bir sitokin ailesidir. TGF- β 1 otokrin ve parakrin yollarla ekstrasellüler matriks komponentlerinin sentezini stimüle eder ve pulmoner fibrozis, kalp hastalığı, siroz ve glomerulonefritte görülen fibrozisin anahtar mediatörü olarak görülmektedir. TGF- β 1 mRNA proreini insan kronik pankreatitinde de over eksprese olmaktadır (78).

TGF- β 1 over eksprese eden farelerde adacıklarda dezorganizasyon, endokrin ve ekzokrin pankreasta fibrozis gözlenmiştir (79). In vitro olarak pankreas stellat hücrelerinin TGF- β 1 uyarısıyla ekstrasellüler matriks komponentleri salgıladıkları gösterilmiştir (34).

2.16. Desmin

Desmin hücre iskeletinin en sağlam yapısını oluşturan ara filamanlardan biridir (38) ve miyositlerde eksprese olur (80). Pankreas stellat hücreleri (PSC), desmin ve glial fibrilar asit protein (GFAP) ara filamanlarını eksprese ederler ve yağ damlacıkları içerirler. Bu özellikleri ile PSC'lerin normal fibroblastlardan ayırt edilmesi mümkün olur (38, 80). PSC'lerin aktivasyonu, pankreas hasarlanması ile meydana gelir ve birçok morfolojik değişiklik oluşur, özellikle nükleer genişleme ve endoplazmik retikulum sisteminde belirginleşme ortaya çıkar. Ayrıca in situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal çalışmalar aktive

PSC'lerin α -SMA (α -smooth muscle antigen) ve kollajen tip 1 eksprese ettiğini göstermiştir, bu nedenle bu hücrelerin kronik pankreatit ve pankreas adenokarsinomunda oluşan fibrozis için kaynak oluşturduğu düşünülmüştür (80). Deneysel olarak sıçanlarda pankreatik fibrozis geliştirilen bir çalışmada fibrozis alanında immunohistokimyasal olarak desmin boyandığı görülmüştür. TGF- β boyanması ise en yoğun olarak fibrozis kenarındaki asinar hücrelerde ve fibrotik bantlardaki spindle hücrelerde izlenmiştir. PSC'lerin pankreatik fibroziste önemli rolü olduğu öne sürülmüştür. PSC'ler desmin pozitif boyanmaları ile ayırt edilebilirler. Pankreas hasarlanması sonucu aktive olduklarında morfolojik ve fonksiyonel değişikliğe uğrarlar. Aktive stellat hücreler α -SMA ile pozitif boyanır ve PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ve TGF- β ile uyarılabilir hale gelirler. PDGF uyarısı ile çoğalırlar ve TGF- β uyarısı ile kollajen sentezi yapmaya başlarlar. Benzer satellit hücreler pankreasta da izole edilmiştir. Normal pankreasta satellit hücreler desmin için pozitif boyanırken, α -SMA ile pozitif boyanma göstermezler (81).

3. GEREÇ YÖNTEM

Çalışmamızda, 8 haftalık erkek Wistar (Kobay Deneysel Hayvanları A.Ş. Ankara) sıçanlar kullanıldı. Tüm sıçan yemleri Altromin Firması'ndan (Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage, Germany) temin edildi. Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneysel Etik Kurul Başkanlığı tarafından etik kurul onayı (PAUHDEK-2011/021) alınan çalışmamızın deneysel bölümü, Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi'nde gerçekleştirildi. Sıçanlar yeni ortamlarına adapte olmaları için 4 gün süreyle standart yemle beslendiler. Daha sonra 6 gruba ayrıldılar ve her kafeste en fazla 4 sıçan olacak şekilde 12 kafeste beslenmeye başladılar.

3 hafta süre ile beslenen gruplar:

Grup 1 (3 hafta kontrol) (n=6, kısa süre, kontrol) = 3 hafta standart yem
Grup 2 (%45YB grup) (n=8, kısa süre, yüksek yağlı) = 3 hafta % 45 yağlı yem
Grup 3 (%60YB grup) (n=8, kısa süre, çok yüksek yağlı) = 3 hafta % 60 yağlı yem

8 hafta süre ile beslenen gruplar:

Grup 4 (8 hafta kontrol) (n=6, uzun süre, kontrol) = 8 hafta standart yem
Grup 5 (%45YB grup) (n=8, uzun süre, yüksek yağlı) = 8 hafta % 45 yağlı yem
Grup 6 (%60YB grup) (n=8, uzun süre, çok yüksek yağlı) = 8 hafta % 60 yağlı yem

Tümü pellet şeklinde olan yemlerin içerikleri:

1. **Standart besin:** Kalorinin % 10'u doymuş yağ, % 24'ü protein, %66'sı karbonhidrattan gelmektedir, 2844 kcal/kg (1324, Altromin).
2. **%45 yağlı besin:** Kalorinin % 45'i doymuş yağ (tereyağı), % 20'si protein, %35'i karbonhidrattan gelmektedir, 4405,005 kcal/kg (1090-45 Altromin).
3. **%60 yağlı besin:** Kalorinin % 60'ı doymuş yağ (tereyağı+domuz yağı), % 17'si protein, 23'ü karbonhidrattan gelmektedir 5017,105 kcal/kg (1090-60, Altromin).

Bu sürede sıçanlar kısıtlama olmaksızın beslendiler. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, musluk suyu içerek yaşadılar. Haftada bir kez ağırlıkları ölçüldü. 3 hafta ve 8 haftanın sonunda 1 gece aç bırakıldıktan sonra sıçanlara 45 mg/kg Ketamin (Alfamine %10) + 10 mg/kg Ksilazin (Alfazyne %2) intraperitoneal yoldan verilerek, anestezi yapıldı. Biyokimyasal olarak insülin, glukagon, leptin, glukoz, total kolesterol (TC), trigliserit (TG), VLDL, HDL, TNF- α , IL-6 değerleri ölçülmek üzere abdominal aortadan kan alındı. Kuru vakumlu tüplere alınan kan örnekleri, 30 dakika bekletildikten sonra 1500 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Biyokimyasal çalışmalar Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Özlem YAVUZ tarafından yapıldı. Anestezi altında pankreas ve arka bacak iskelet kası (musculus gastrocnemius) dokuları alınan sıçanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Alınan dokular %10 formaldehit solüsyonu içinde 24 saat fikse edildi ve pankreas ve kas dokuları için en iyi sonucu almak üzere laboratuvarımızda her doku için belirlediğimiz farklı sürelerle uygun olarak histolojik doku takibi manuel olarak yapıldı.

Pankreas Dokusu İçin Histolojik Takip:

Dehidrasyon:

%70 alkol 30 dakika,

%80 alkol 30 dakika,

%90 alkol (1) 45 dakika,

%90 alkol (2) 45 dakika,

%96 alkol (1) 45 dakika,

%96 alkol (2) 45 dakika,

%96 alkol (3) 45 dakika,

aseton 50 dakika

Şeffaflaştırma:

ksilol (1) 10 dakika,

ksilol (2) 20 dakika

Parafinizasyon:

75°C parafin (1) 10 dakika,

75°C parafin (2) 20 dakika,

75°C parafin (3) 30 dakika

Gömme:

75°C'de parafine gömme işlemi yapıldı.

Kas Dokusu İçin Histolojik Takip:

Dehidrasyon:

%70 alkol 15 dakika,

%80 alkol 15 dakika,

%90 alkol (1) 30 dakika,

%90 alkol (2) 30 dakika,

%96 alkol (1) 30 dakika,

%96 alkol (2) 30 dakika,

%96 alkol (3) 45 dakika,

aseton 45 dakika

Şeffaflaştırma:

ksilol (1) 10 dakika,

ksilol (2) 20 dakika

Parafinizasyon:

75°C parafin (1) 10 dakika,

75°C parafin (2) 20 dakika,

75°C parafin (3) 30 dakika

Gömme:

75°C'de parafine gömme işlemi yapıldı.

SLEE MAINZ marka (type: cut, SN: 7906, U:230V, I:0,15A, P:35W, f:50Hz, Lise–Meiner–Str.1 D–55129 Mainz) mikrotomda 4 µm kalınlıkta kesitler alınarak lamlara alındı.

Rutin ışık mikroskopik inceleme için kas ve pankreas dokuları hematoksilin-eozin (H&E), fibrozisi değerlendirebilmek için Gomori trikrom (NovaUltra Masson Trichrome Stain Kit, kat. no: IW-3006, Woodstock, USA) ve Sirius kırmızısı (NovaUltra Sirius Red Stain Kit, kat. no: IW-3012, Woodstock, USA) ile boyandı.

Pankreas Dokusunun Işık Mikroskopik Olarak Değerlendirilmesi

Pankreas dokularından 5µm kalınlıkta seri kesitler alınarak, adacık alan ölçümü, vakuolizasyon, inflamasyon, pankreas dokusuna penetre lenf nodülleri, dejenere adacıklar, hemoraji, inter/intralobüler adiposit birikimi değerlendirildi.

Adacık alan ölçümü

Tüm sıçanlarda adacık alan değerlendirilmesi: Işık mikroskopta her sıçan için rastgele seçilen 10 adacıkta X10 büyütmede AXIOVISION microscopy software AXIOVISION Software Release 4.8.1 (Zeiss, Germany) kullanılarak adacık alan ölçümleri yapıldı.

Vakuolizasyon

Tüm sıçanlarda vakuolizasyon değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek yapıldı. Kesitlerdeki alanın %5-20'si kadar bir bölgeyi kapladığında fokal olarak, kesitlerde %20'den fazla alanı kaplıyorsa diffüz olarak değerlendirildi. Fokal vakuolizasyonun değerlendirilmesinde ise vakuol sayımı yapıldı.

İnflamasyon

Tüm sıçanlarda inflamasyon değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x40 büyütmede rastgele seçilen 10 alan değerlendirilerek yapıldı. Kesitlerdeki alanın %50'si kadar bir bölgeyi kapladığında fokal olarak, kesitlerdeki alanın %50'den fazla alanı kaplıyorsa diffüz olarak değerlendirildi. Fokal inflamasyonun değerlendirilmesinde ise lenfosit sayısına göre skora yapıldı.

Skor 0= 0–20 lenfosit

Skor 1= 21–40 lenfosit

Skor 2= 41–60 lenfosit

Skor 3= 61–80 lenfosit

Skor 4= 81–100 lenfosit

Skor 5= 101–120 lenfosit

Skor 6= 121–140 lenfosit

Skor 7= 141–160 lenfosit

Skor 8= 161–180 lenfosit

Skor 9= 181–200 lenfosit

Lenf Nodülü

Tüm sıçanlarda pankreas dokusuna penetre lenf nodülü (LN) değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek, LN sayılarak yapıldı.

Adacıklarda dejenerasyon

Tüm sıçanlarda pankreas dokusunda adacıklarda dejenerasyon değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek, dejenere olmuş adacıklar sayılarak yapıldı.

Hemoraji

Tüm sıçanlarda hemoraji değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x40 büyütmede rastgele seçilen 10 alan değerlendirilerek yapıldı. Kesitlerdeki alanın %5-20'si

kadar bir bölgeyi kapladığında fokal olarak, kesitlerde %20'den fazla alanı kaplıyorsa diffüz olarak değerlendirildi. Fokal hemorajinin değerlendirilmesinde ise eritrosit sayısına göre skora yapıldı.

Skor 0= 0-40 eritrosit

Skor 1= 41-80 eritrosit

Skor 2= 81-120 eritrosit

Skor 3= 121-160 eritrosit

Skor 4= 161-200 eritrosit

İnter/intralobüler adiposit birikimi

Tüm sıçanlarda inter/intralobüler adiposit birikimi değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek yapıldı. İnter/intralobüler adiposit birikimi, var veya yok olarak değerlendirildi (0=yok, 1=var).

Pankreas dokusunun histopatolojik değerlendirmeleri, Jelodar ve arkadaşları (2007) ve Xia ve arkadaşları (2012)'den modifiye edilerek yapıldı (82, 83).

Kas Dokusunun Işık Mikroskopik Olarak Değerlendirilmesi

Kas dokularından 4µm kalınlıkta seri kesitler alınarak; kas dokusunda dejenere olmuş lifler, inklüzyonlu lifler ve epimisyumda lipid birikimi değerlendirildi.

Dejenere lifler

Tüm sıçanlarda kas dokusunda dejenere liflerin değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek yapıldı. Dejenere liflerin tüm liflere oranı % olarak gözlemlendi.

İnklüzyonlu lifler

Tüm sıçanlarda kas dokusunda inklüzyonlu liflerin (lipid birikimi olan kas hücreleri) değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek yapıldı. İnküzyonlu liflerin tüm liflere oranı % olarak gözlemlendi.

Epimisyumda adiposit birikimi

Tüm sıçanlarda epimisyumda adiposit birikimi değerlendirilmesi: Işık mikroskopta x20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek yapıldı. Epimisyumda adiposit birikimi var veya yok olarak değerlendirildi (0=yok, 1=var).

Kas dokusu histopatolojik değerlendirmeleri, Morgan (1990)'dan modifiye edilerek yapıldı (84).

İmmünohistokimyasal İnceleme

Alınan pankreas ve kas dokuları %10 formaldehitte fikse edildikten sonra rutin takipleri yapılarak, parafine gömüldükten sonra, 4 µm kalınlıkta kesitler poli-L-lizin kaplı lamlara (Isotherm Technical Laboratory Glass Materials, Lot:070116) alındı. Kesitler 2 kez ksilolden (her biri 15 dakika) geçirilerek deparafinize edildikten sonra iki kez %100 etil alkol, daha sonra da %96, %80, %70 etil alkollerden 3'er dakika ve iki kez distile sudan geçirilerek rehidrate edildi. Antijen retrieval aşaması için citrate buffer solüsyonu (0.01 mol/L citrate buffer [pH 6.0]) içinde mikrodalga fırında 10 dakika bekletildi. Oda ısısında 20 dakika bekletilen lamların üzerindeki dokular hidrofobik PAP-pen ile sınırlandırıldı. Kesitler distile su ve phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) ile yıkandıktan sonra, hydrogen peroxide solüsyonunda 10 dakika bekletilerek, endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitlere Histostain Plus immünohistokimya kitindeki Blocking solution (A-Blocking solution,

Histostain Plus, REF No.859043, ready-to-use; Invitrogen, Frederick, USA) 15 dakika uygulandı. Blocking aşamasından sonra camlar yıkanmadan primer atikor ile 1 gece +4 °C 'de bekletildi (over night). Primer antikorlar:

- **Orexin A** (H-003-30, 1:3500 dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **Anti-Orexin Receptor 1** (ab68718, 0,25 µg/ml dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Abcam Inc., Cambridge, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **İnsülin** (sc-9168, 1:3000 dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **TGF-β1** (V, sc-146, 1:1000 dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **IL-6** (M-19, sc-1265, 1: 700 dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **Desmin** (RD301, sc-23879, 1:100 dilüsyon, mouse monoclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) ile pankreas dokusu boyandı
- **AdipoR1** (H-40, sc-99183, 1:100 dilüsyon, rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) ile kas dokusu boyandı.

PBS ile yıkanan kesitler biotinylated polyvalent immunoglobulin G (B–Broad Spectrum Second Antibody, Histostain Plus, REF No.859043, Invitrogen) ile 20 dakika inkübe edildikten sonra iki kez beş dakika süreyle PBS (2x5dk) ile yıkanarak streptavidin–horseradish peroxidase complex (C-HRP Streptavidin, Histostain Plus, REF/Cat. No.859043 ready-to-use; Invitrogen) ile 20 dakika inkübe edildi. İki kez beş dakika süreyle PBS (2x5dk) ile yıkanan kesitler 1 mg 3,3'-diaminobenzidine (DAB; Invitrogen) içinde taze olarak hazırlanan kromojen

ile inkübe edildi. Son olarak Mayer's hematoksilin ile 40 saniye süreyle zemin boyaması yapıldı ve dehidrasyon için %70, %80, %96 ve iki kez %100 etil alkollerden geçirildi. İki kez ksilolden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı. Tüm immün boyalar için negatif kontrol boyamaları, primer antikolar yerine PBS damlatılarak yapıldı.

Her bir boyama için ayrı ayrı preparatlar fotomikroskopta değerlendirilerek fotoğraflandı (Axioskop 40 Microscope, AxioCamICc3; Carl Zeiss, Göttingen, Germany).

Pankreas Dokusunda İmmünohistokimyasal Boyanmaların Değerlendirilmesi

OXA, OXR1, insülin, TGF- β , IL-6 ve desmin ile immün boyanan her bir sıçanın pankreas dokusu kesitinde rastgele seçilen 20 adacık değerlendirilerek skorlamalar kayıt edildi. İmmünohistokimyasal boyamalar, boyanma yoğunluğuna göre skor 0 ile 3 arasında değerlendirildi.

OXA ile Langerhans adacıklarında boyanma:

OXA skor 0 (OXA0): Langerhans adacıklarında OXA ile boyanma yok
OXA skor 1 (OXA1): Langerhans adacıklarında OXA ile hafif boyanma
OXA skor 2 (OXA2): Langerhans adacıklarında OXA ile orta derecede boyanma
OXA skor 3 (OXA3): Langerhans adacıklarında OXA ile yoğun boyanma

OX1R ile Langerhans adacıklarında boyanma:

OX1R skor 0 (OX1R0): Langerhans adacıklarında OX1R ile boyanma yok
OX1R skor 1 (OX1R1): Langerhans adacıklarında OX1R ile hafif boyanma
OX1R skor 2 (OX1R2): Langerhans adacıklarında OX1R ile orta derecede boyanma
OX1R skor 3 (OX1R3): Langerhans adacıklarında OX1R ile yoğun boyanma

İnsülin ile Langerhans adacıklarında boyanma:

İns skor 0 (İns0): Langerhans adacıklarında insülin ile boyanma yok

İns skor 1 (İns1): Langerhans adacıklarında insülin ile hafif boyanma

İns skor 2 (İns2): Langerhans adacıklarında insülin ile orta derecede boyanma

İns skor 3 (İns3): Langerhans adacıklarında insülin ile yoğun boyanma

TGF-β1 ile Langerhans adacıklarında boyanma:

Skor 0: TGF-β1 ile boyanma yok

Skor 1: TGF-β1 ile hafif boyanma

Skor 2: TGF-β1 ile orta derecede boyanma

Skor 3: TGF-β1 ile yoğun boyanma

IL-6 ile Langerhans adacıklarında boyanma:

Skor 0: IL-6 ile boyanma yok

Skor 1: IL-6 ile hafif boyanma

Skor 2: IL-6 ile orta derecede boyanma

Skor 3: IL-6 ile yoğun boyanma

Desmin ile pankreas dokularında boyanma:

Skor 0: Desmin ile boyanma yok

Skor 1: Desmin ile hafif boyanma

Skor 2: Desmin ile orta derecede boyanma

Skor 3: Desmin ile yoğun boyanma

Kas Dokusunda İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi

AdipoR1 ile immün boyanan her bir kas dokusu kesitinde X20 büyütmede rastgele seçilen 20 alan değerlendirilerek skorlamalar kayıt edildi. İmmünohistokimyasal boyamalar, boyanma yoğunluğuna göre skor 0 ile 3 arasında değerlendirildi.

AdipoR1 ile kas dokusunda boyanma:

Skor 0: AdipoR1 ile boyanma yok

Skor 1: AdipoR1 ile çok hafif derecede boyanma

Skor 2: AdipoR1 ile hafif derecede boyanma

Skor 3: AdipoR1 ile orta derecede boyanma

Biyokimyasal Analizler

Kuru vakumlu tüplere alınan kan örnekleri, 30 dakika bekletildikten sonra 1500 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -80°C derin dondurucuda çalışma gününe kadar saklandı. Serum glukoz, total kolesterol, trigliserit ve HDL-kolesterol düzeyleri, klinik kimya otoanalizöründe (Cobas Integra 800; Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, Germany), Roche Diagnostics kitleri kullanılarak enzimatik yöntemler ile ölçüldü. VLDL düzeyi Trigliserid/5 formülü kullanılarak belirlendi.

Sıçan serum insülin düzeyi, Spibio (Cayman) (Katolog no: A05105, Montigny Le Bretonneux France) marka Rat Insulin Enzim Immunoassay (EIA) kiti; serum glukagon düzeyi RayBiotech (Katolog no: EIA-GLU-1, Norcross, GA) marka Glucagon Multispecies EIA kiti; serum TNF- α düzeyi Invitrogen (Katolog no: KRC3011, Camararillo, CA) marka Rat TNF- α Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA) kiti; serum leptin düzeyi, Diasource marka (Katolog no: KAPME06, Louvain-la-Neuve)m/r Leptin-ELISA Kiti; serum IL-6 düzeyi, Invitrogen (Katolog no: KRC0061, Camarillo, CA) marka Rat IL-6 ELISA kiti kullanılarak mikropilaka okuyucuda (BioTek, ELx 800, U.S.A) ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

IBM SPSS Statistics 19 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değerler alan veriler ortalama (\pm standart sapma), gerektiğinde ortanca değer ve Dağılım aralığı (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Kategorik (nitel)

veriler sıklık (n) olarak sunuldu. Kategorik değişkenler için grupların dağılımlarının karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test, Olabilirlik Oran Ki-kare testi, Yates düzeltmeli Ki-kare testi, İki örneklem Kolmogorov Smirnov test ve Fisher'in Kesin-Ki-kare testi kullanıldı. Shapiro-Wilk testi ile Normallik analizinin yapılmasından sonra sürekli değerler alan değişkenler için grupların karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi, Welch Tek Yönlü Varyans Analizi, Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney U test ve Student t test veya İki Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. İkişerli grup karşılaştırmaları Bonferroni test, Games-Howel test veya çoklu karşılaştırmalarda doğru bir sıfır hipotezin reddedilme olasılığı olan Tip I hata olasılığını azaltmak için, belirlenen alfa anlamlılık düzeyinin yapılacak karşılaştırma sayısına bölünmesi olan Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U test kullanılarak yapıldı ($p < 0,017$). Sıçan ağırlıklarının karşılaştırılması için Greenhouse-Geisser düzeltmeli Tekrarlı ölçümlerde İki yönlü ve Üç yönlü Varyans Analizleri yapıldı. Değişkenlerin birlikte değişimlerini incelemek için korelasyon katsayıları Pearson ve Spearman korelasyon analizleriyle hesaplandı. p-değeri $< 0,05$ ise anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Pankreas Dokusu Işık Mikroskopik Değerlendirmesi

4.1.1. Langerhans Adacıklarının Alan Ortalamaları

Ortalama adacık alanları karşılaştırıldığında, 3 hafta beslenen gruplar (kontrol, %45 yağlı beslenen (%45YB) ve %60 yağlı beslenen (%60YB) arasında fark gözlenmemesine karşın ($p>0,05$), 8 hafta beslenen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p=0,035$).

Sekiz hafta beslenen %60YB grubun adacık alan değerlerinin kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı olarak daha büyük olduğu gözlemlendi ($p=0,008$) (Tablo 1).

Tablo 1: Pankreas dokusunda Langerhans adacıklarının alan ortalamaları

Beslenme Süresi	Grup	Adacık alan ortalamaları (μm^2)				p-değeri	† p-değeri
		Ortalama	ss	Ortanca	minimum-maksimum		
3 hafta	Kontrol (n=6)	20645,62	11304,81	19185,18	5686,57 - 39720,36	* p=0,627	a p=0,180 b p=0,328 c p=0,195
	%45YB (n=8)	18618,59	5020,30	18071,30	11775,40 - 28410,31		
	%60YB (n=8)	21684,62	6617,32	19623,82	15943,30 - 32591,56		
8 hafta	Kontrol (n=6)	12644,94	6031,95	11724,08	5936,11 - 24025,41	** p=0,035 a,b p=0,059 a,c p=0,008 b,c p=0,959	
	%45YB (n=8)	24206,69	14108,84	24222,17	1770,34 - 48699,85		
	%60YB (n=8)	25162,70	6314,17	23927,11	18396,63 - 37015,93		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

a,b p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

a,c p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

b,c p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

a p- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test

b p- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test

c p- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

4.1.2. Vakuolizasyon

Sekiz hafta beslenen sıçanlarda %60YB gruptaki vakuol sayısının, %45YB gruptan ve kontrol grubundan daha yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla ortanca 9,5 - 4 - 0). Ancak Bonferroni düzeltmesi ile istatistiksel olarak anlamlı yükseklik yalnızca %60YB grup ile %45YB grup arasında gözlemlendi ($p=0,015$) (Tablo 2, Resim 1).

Sekiz hafta beslenen gruplarda vakuol sayıları, 3 hafta beslenen gruplardan daha fazlaydı, özellikle de %45YB gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,038$) (Tablo 2).

4.1.3. İnflamasyon

Üç hafta beslenen sıçanlardan %60YB grubun inflamasyon skoru hem kontrol hem de %45YB gruptakine göre anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla $p=0,008$ ve $p=0,007$).

Sekiz hafta süre ile beslenme, inflamasyon skorları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı ($p=0,307$) (Tablo 2, Resim 2).

Tablo 2: Pankreas dokusunda vakuolizasyon ve inflamasyon

	Beslenme süresi	Grup	Ortanca Minimum-Maksimum	p-değeri	† p-değeri
Vakuol sayısı	3 hafta	Kontrol	1	*p=0,129	^a p=0,310 ^b p=0,038 ^c p=0,161
			0-45		
		%45YB	0,5		
			0-1		
		%60YB	4		
			0-120		
	8 hafta	Kontrol	0	**p=0,014 ^{a,b} p=0,181 ^{a,c} p=0,029 ^{b,c} p=0,015	
			0-26		
		%45YB	4		
			0-9		
%60YB		9,5			
		4-100			
inflamasyon skoru	3 hafta	Kontrol	0,0	*p=0,006 ^{a,b} p=0,414 ^{a,c} p=0,008 ^{b,c} p=0,007	^a p=1,000 ^b p=0,878 ^c p=0,065
			0-3		
		%45YB	1,0		
			0-3		
		%60YB	4,5		
			1-9		
	8 hafta	Kontrol	0,0	**p=0,307	
			0-5		
		%45YB	1,0		
			0-9		
%60YB		1,5			
		0-6			

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

^{a,b} p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{a,c} p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{b,c} p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

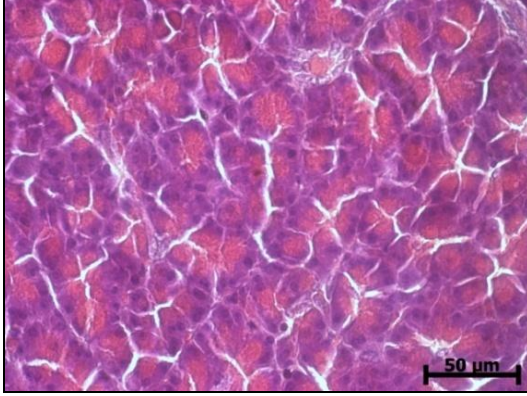
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^a p- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test

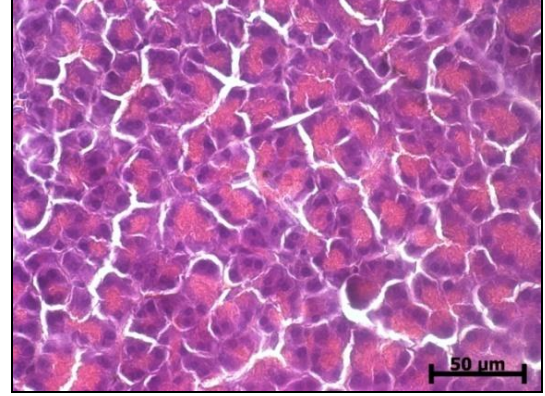
^b p- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test

^c p- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

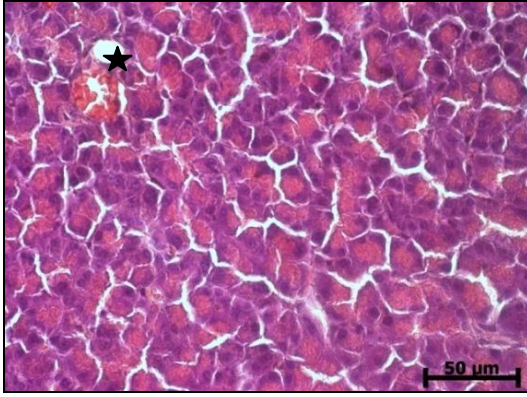
Resim 1: Pankreas dokusunda vakuolizasyon



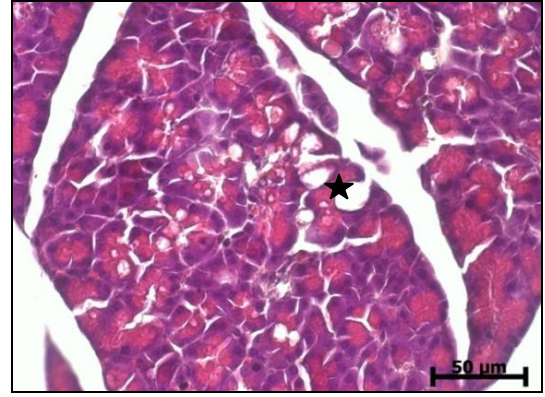
3 hafta kontrol



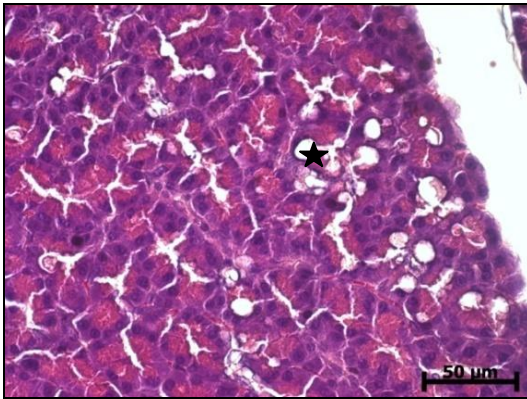
8 hafta kontrol



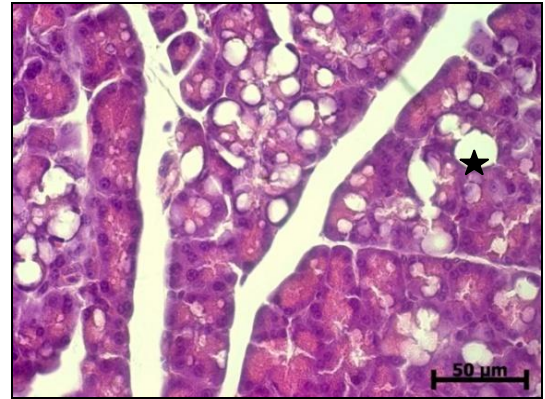
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



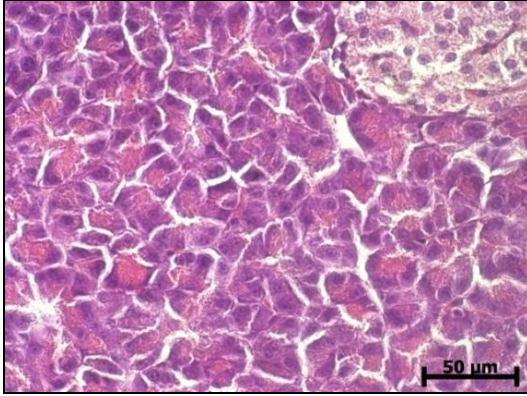
3 hafta %60YB



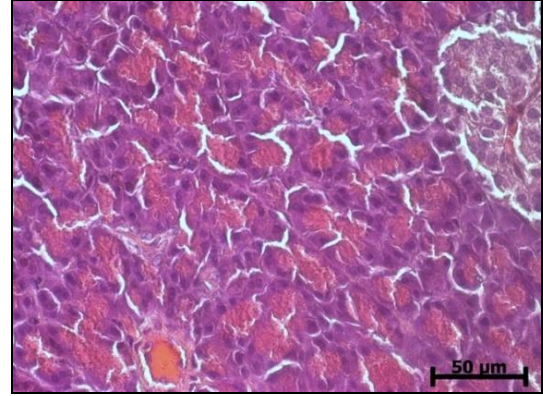
8 hafta %60YB

Pankreasta vakuolizasyon (★) 3 haftada en fazla %60YB grupta gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre %45YB grupta ve %60YB grupta vakuol sayılarının arttığı gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin X400). Scale bars: 50µ.

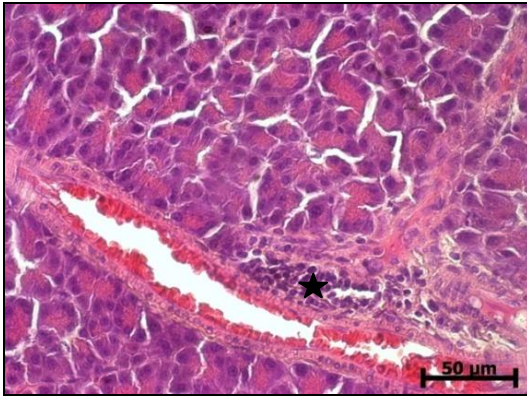
Resim 2: Pankreas dokusunda inflamasyon



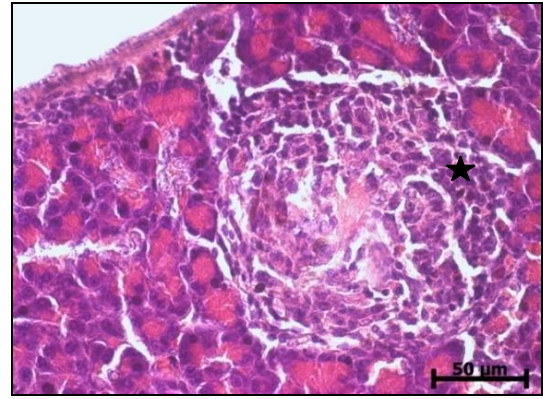
3 hafta kontrol



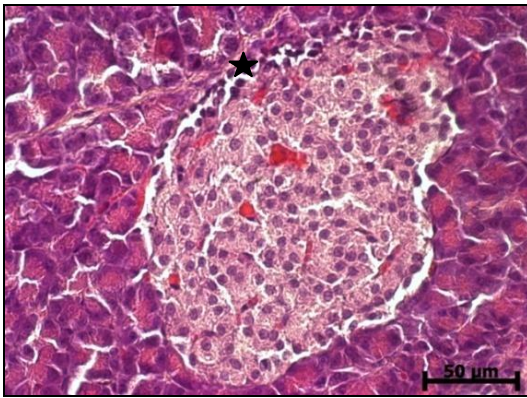
8 hafta kontrol



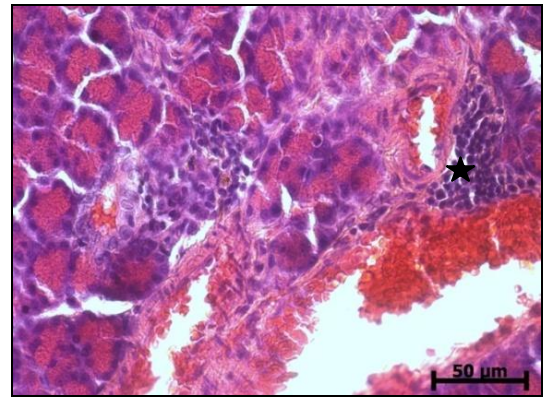
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

Pankreasta inflamasyon (★) en fazla %60YB grupta gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre inflamasyon skorlarında değişiklik olmadığı gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin X400). Scale bars: 50µ.

4.1.4. Lenf Nodülü

Üç hafta beslenen sıçanların pankreas parankimine penetre şekilde gözlenen LN sayıları kontrol grubunda 6 sıçandan 1 tanesinde; %45YB grupta 8 sıçandan 1 tanesinde; %60YB grupta 8 sıçandan 2 tanesinde 1 er LN gözlendi. LN sayılarının dağılımı istatistiksel analize imkan vermedi. Sekiz hafta süre ile beslenen sıçanlardan tüm gruplarda pankreas parankiminde gözlenen LN sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,728$) (Tablo 3, Resim 3).

4.1.5. Dejenere Adacık

Üç hafta beslenen sıçanlardan %60YB gruptaki 8 sıçandan 6'sında dejenere adacık yapısına rastlandığı halde, kontrol ve %45YB gruplarda hiç dejenere adacık yapısı gözlenmedi. Üç hafta beslenen sıçanlarda dejenere adacık sayısı dağılımı istatistiksel analize imkan vermedi. Sekiz hafta beslenen sıçanlardan hem %45YB hem de %60YB gruptaki 8 sıçandan 4'ünde dejenere adacık yapısına rastlandığı halde, kontrol grupta dejenere adacık yapısı gözlenmedi.

Sekiz hafta süre ile beslenen sıçanlarda %45YB ve %60YB gruplarda dejenere adacık sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,878$) (Tablo 3, Resim 4).

4.1.6. Hemoraji

Üç hafta beslenen sıçanların pankreas parankiminde gözlenen hemoraji skoru kontrol grubunda 6 sıçandan 1 tanesinde; %45 YB grupta 8 sıçandan 1 tanesinde; %60 YB grupta 8 sıçandan 3 tanesinde gözlendi. Hemoraji dağılımı istatistiksel analize imkan vermedi.

Sekiz hafta beslenenlerde tüm gruplarda hemoraji görülen sıçanlara rastlandı. En fazla hemoraji görülen sıçan sayısı 8 hafta süre ile beslenen %60 YB grupta (8 sıçandan 5'inde) olmasına karşın, gruplar arasında fokal olarak sayılan eritrosit için skorların dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p=0,359$) (Tablo 3, Resim 5).

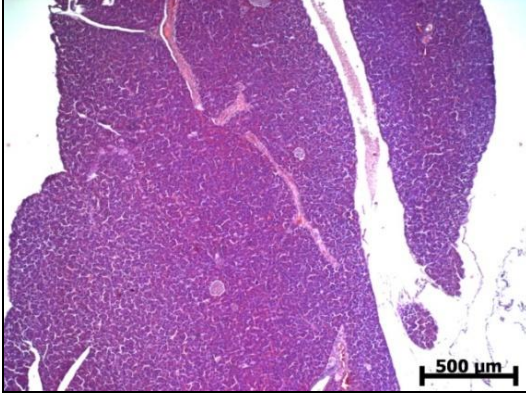
Tablo 3: Pankreas dokusunda lenf nodülü, dejenere adacık, hemoraji

	Beslenme süresi	grup	Ortanca Minimum-Maksimum	p-değeri
Lenf nodülü sayısı	8 hafta	kontrol	0,5	√p=0,728
			0-2	
		%45YB	0,0	
			0-4	
		%60YB	0,0	
0-6				
Dejenere adacık sayısı	8 hafta	kontrol	0,0	‡ p=0,878
			0-0	
		%45YB	0,5	
			0-3	
		%60YB	0,5	
0-3				
Hemoraji skoru	8 hafta	kontrol	1,0	√p=0,359
			0-2	
		%45YB	0,0	
			0-2	
		%60YB	1,5	
0-5				

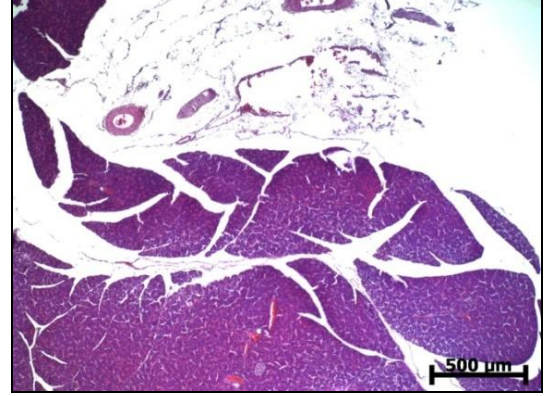
√ p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

‡p- Beslenme süresi 8 hafta olan %45 YB ve %60 YB grupların karşılaştırması için Mann-Whitney U test

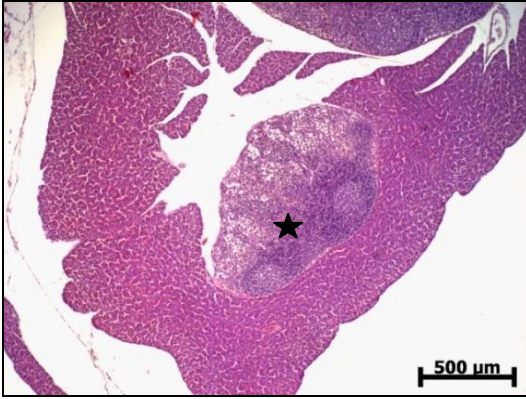
Resim 3: Pankreas dokusunda lenf nodülü



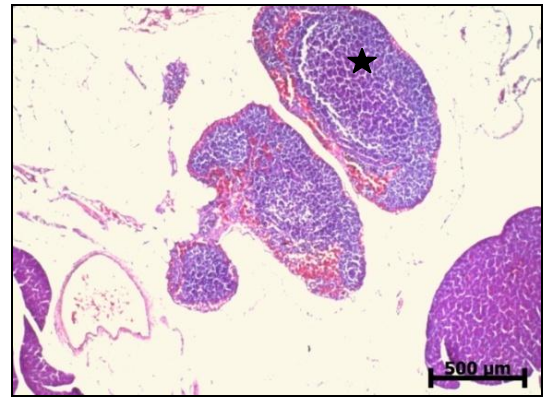
3 hafta kontrol



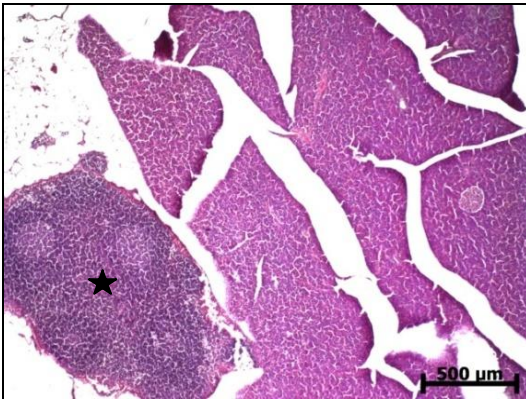
8 hafta kontrol



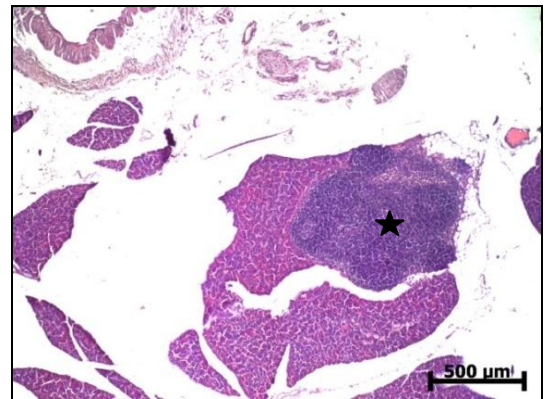
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



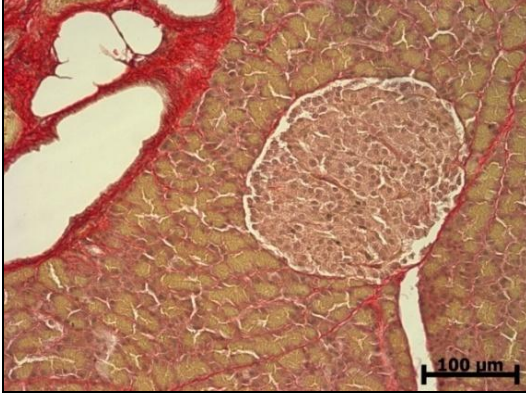
3 hafta %60YB



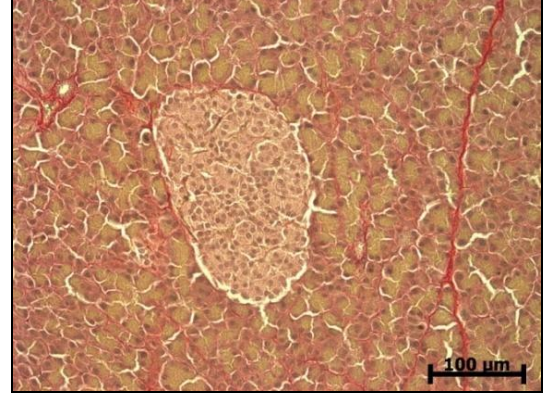
8 hafta %60YB

3 haftada ve 8 haftada YB gruplarda pankreas parankimine penetre lenf nodülleri (★) gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin X40). Scale bars: 500µ.

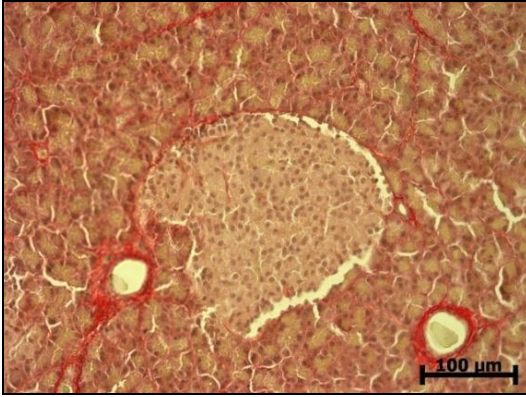
Resim 4a: Pankreas dokusunda dejenere adacık



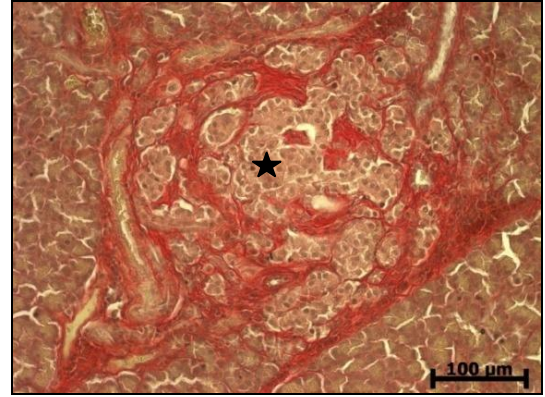
3 hafta kontrol



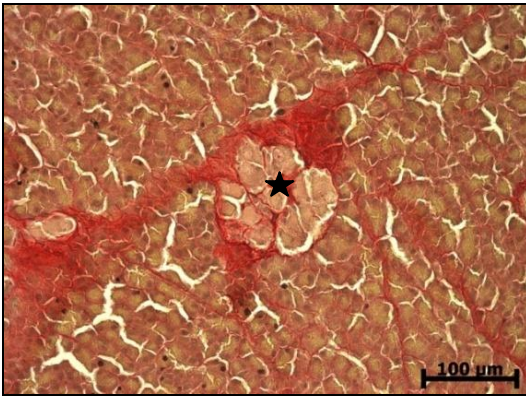
8 hafta kontrol



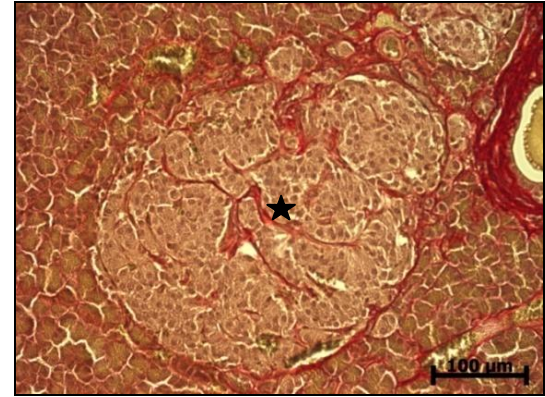
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



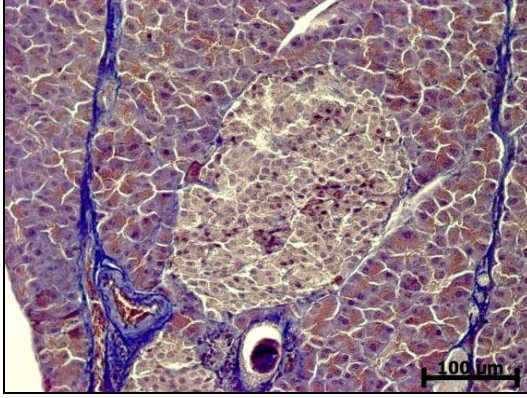
3 hafta %60YB



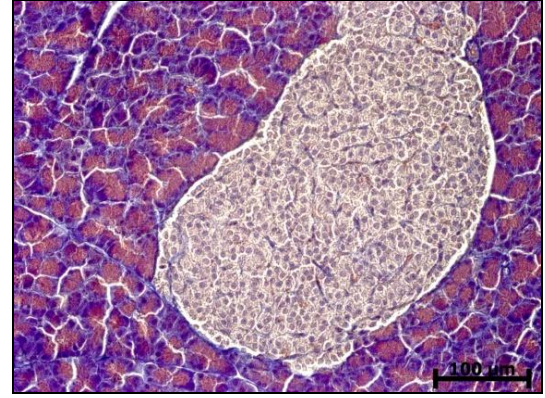
8 hafta %60YB

Fibrosis ile dejenere olmuş adacık yapıları (★), %45YB grupta 3 haftada gözlenmezken, 8 haftada gözlendi. %60YB grupta 3 haftada ve 8 haftada dejenere adacık yapıları gözlendi (Sirius kırmızısı X200). Scale bars: 100µ.

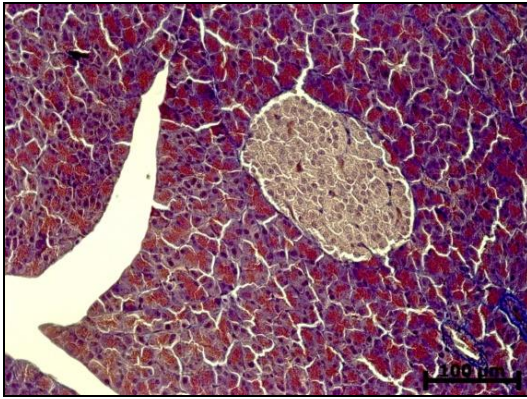
Resim 4b: Pankreas dokusunda dejenere adacık



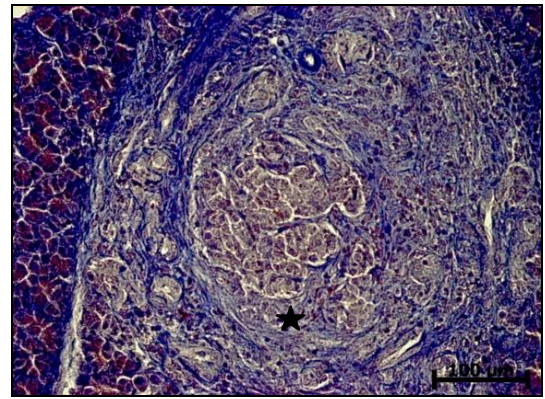
3 hafta kontrol



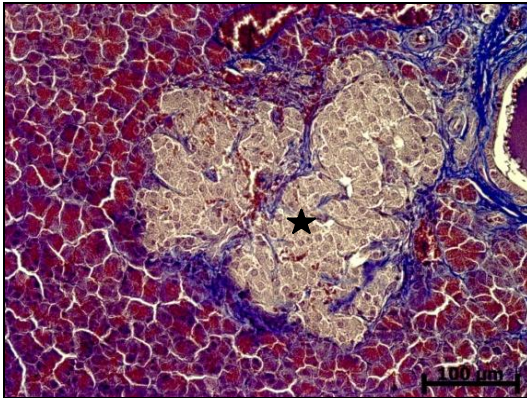
8 hafta kontrol



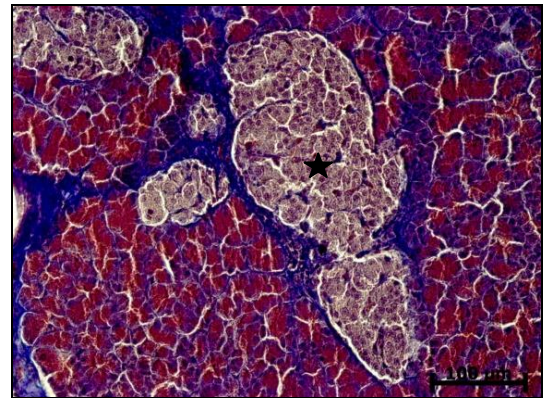
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



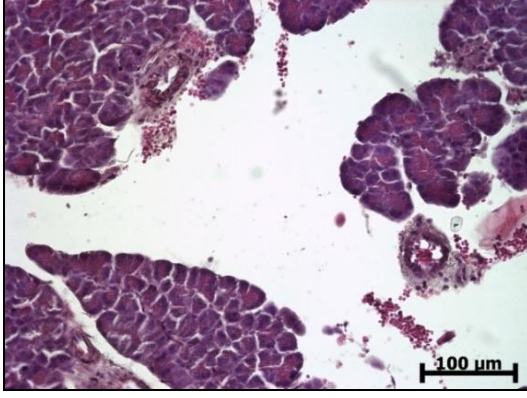
3 hafta %60YB



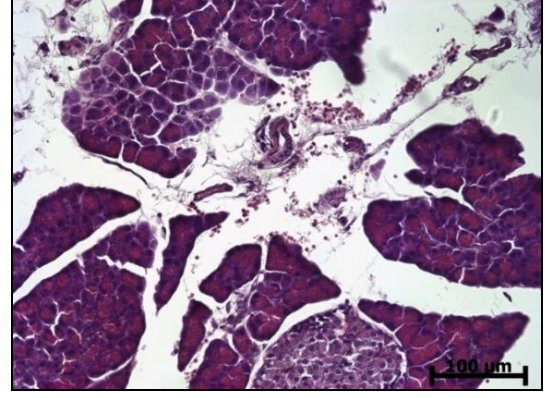
8 hafta %60YB

Fibrosis ile bozulmuş adacık yapıları (★), %45YB grupta 3 haftada gözlenmezken, 8 haftada gözlendi. %60YB grupta 3 haftada ve 8 haftada dejenere adacık yapıları gözlendi (Gomori trikrom X200). Scale bars: 100µ.

Resim 5: Pankreas dokusunda hemoraji



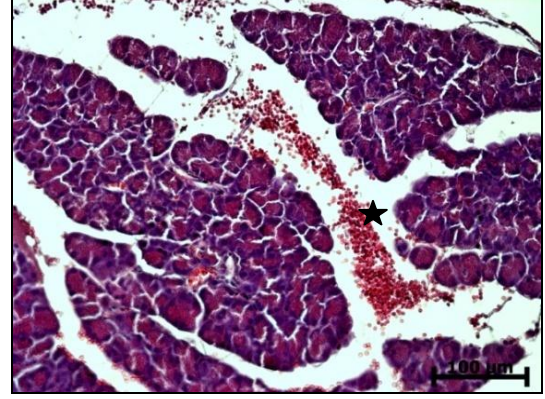
3 hafta kontrol



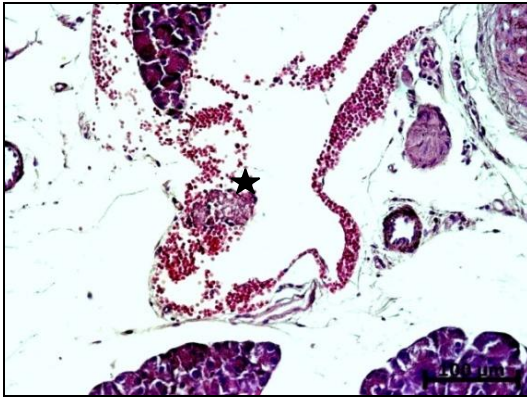
8 hafta kontrol



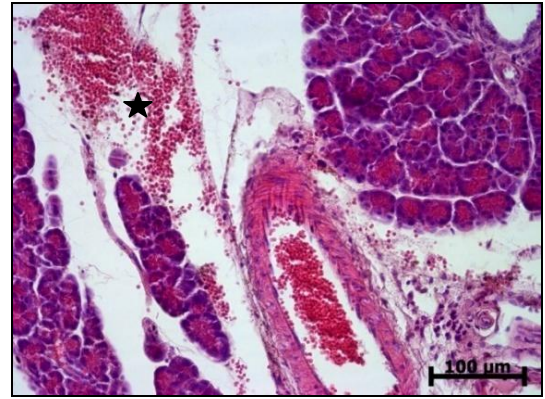
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

3 haftada ve 8 haftada YB gruplarda pankreasta hemoraji (★) gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin X200). Scale bars: 100µ.

4.1.7. İnter/intralobüler Adiposit Birikimi

Üç hafta süre ile beslenme ile pankreas dokusunda inter/intralobüler adiposit birikimi açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %45 ve %60 YB gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,042$). %45YB grupta 8 sıçandan 6'sında ve %60YB grupta 8 sıçandan 7'sinde inter/intralobüler adiposit birikimi gözlenirken kontrol grupta hiçbir sıçanda adiposit gözlenmedi (Tablo 4, Resim 6).

Sekiz hafta süre ile beslenen tüm gruplarda inter/intralobüler adiposit birikimi gözlemlendi, %45YB ve %60YB gruplarda pankreasta inter/intralobüler adiposit birikimi daha fazlaydı, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,095$)(Tablo 4, Resim 6).

Tablo 4: Pankreas dokusunda inter/intralobüler adiposit birikimi

Beslenme Süresi	Grup	İnter/ intralobüler adiposit birikimi/ sıçan sayısı		p-değeri	† p-değeri
		0= yok	1= var		
3 hafta	Kontrol (n=6)	6/6	0/6	* $p=0,042$	^a $p=0,455$ ^b $p=0,450$ ^c $p=1,000$
	%45YB (n=8)	2/8	6/8		
	%60YB (n=8)	1/8	7/8		
8 hafta	Kontrol (n=6)	4/6	2/6	** $p=0,095$	
	%45YB (n=8)	0/8	8/8		
	%60YB (n=8)	0/8	8/8		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için İki örneklem Kolmogorov-Smirnov test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için İki örneklem Kolmogorov-Smirnov test

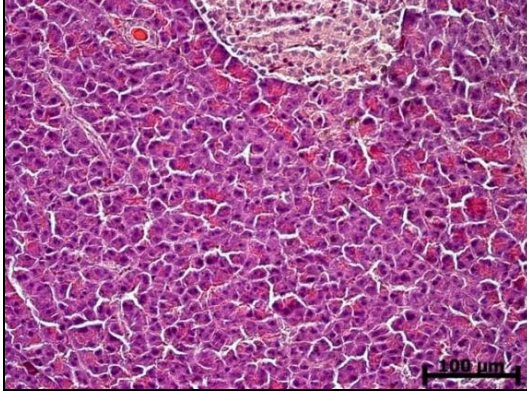
† p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^a p- Kontrol grubu için Fisher'in Kesin Ki-kare testi

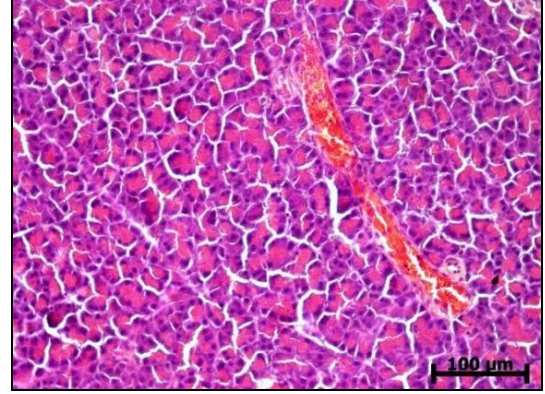
^b p- %45 YB grubu Yates düzeltilmeli Ki-kare test

^c p- %60 YB grubu için Fisher'in Kesin Ki-kare testi

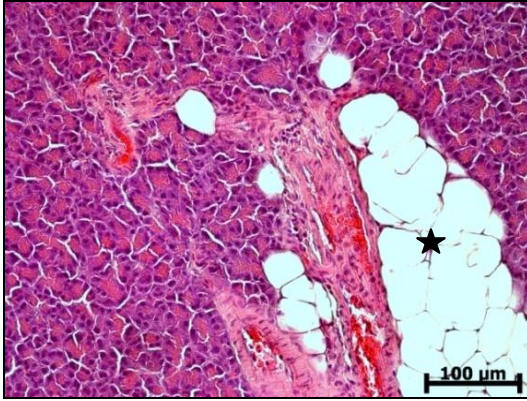
Resim 6: Pankreas dokusunda inter/intralobüler adiposit birikimi



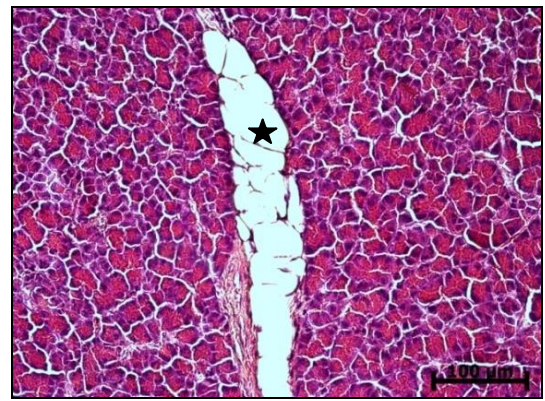
3 hafta kontrol



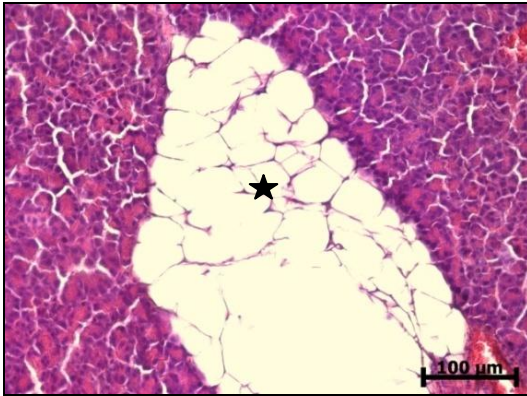
8 hafta kontrol



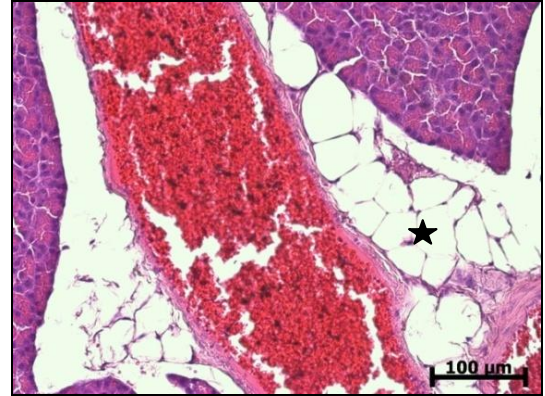
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

3 haftada ve 8 haftada YB gruplarda pankreasta inter/intralobüler adiposit birikimi (★) gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin X200). Scale bars: 100µ.

4.2. Kas Dokusu Işıık Mikroskopik Değerlendirmesi

4.2.1. Dejenere Lifler

Üç hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlardan kontrol gruplarında dejenere liflere rastlanmazken, diğer gruplarda (%45YB ve %60YB) dejenere lifler mevcuttu. Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlardan %60YB grupta, %45YB gruba göre dejenere liflerin tüm liflere oranı daha fazlaydı, fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (sırasıyla 3hafta $p=0,382$ ve 8hafta $p=0,065$) (Tablo 5, Resim 7).

4.2.2. İnküzyonlu Lifler

Kas dokusunda lipid birikimi olarak tanımlanan inküzyonlu liflere, 3 hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlardan kontrol grupların hiçbirinde rastlanmazken, diğer gruplarda (%45YB ve %60YB) inküzyonlu lifler mevcuttu. Sekiz hafta beslenen sıçanlardan %60YB grupta inküzyonlu liflerin tüm liflere oranı, %45YB gruptan daha fazlaydı ve istatistiksel olarak sınırda anlamlı farklılık gözlendi ($p=0,050$) (Tablo 5, Resim 8).

4.2.3. Epimisyumda Adiposit Birikimi

Üç hafta beslenen sıçanlardan %45YB (8 sıçandan 5'inde) ve %60YB (8 sıçandan 5'inde) gruplarda epimisyumda adiposit birikimi içeren sıçan sıklığı kontrol gruptan daha fazlaydı. Sekiz hafta beslenen sıçanlardan kontrol grubunda tüm sıçanlarda epimisyumda adiposit birikimine rastlandı, %45YB (8 sıçandan 6'sında) ve %60YB gruplarda (8 sıçandan 6'sında) epimisyumda adiposit birikimi mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (sırasıyla 3hafta $p=0,928$ ve 8 hafta $p=0,860$) (Tablo 6).

Üç hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlardan tüm gruplarda epimisyumda adiposit birikimine rastlandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p=0,455$, $p=1,000$, $p=1,000$) (Tablo 6, Resim 9).

Tablo 5: Kas dokusunda dejenere lifler ve inklüzyonlu lifler

	Beslenme süresi	Grup	Ortanca Minimum - Maksimum	p-değeri	† p-değeri
Dejenere lif (%)	3 hafta	Kontrol	0 0-0	*p=0,382	^b p=0,721 ^c p=1,000
		%45YB	15 0-50		
		%60YB	20 10-30		
	8 hafta	Kontrol	0 0-0	**p=0,065	
		%45YB	12,5 0-40		
		%60YB	20 10-40		
Inklüzyonlu lif (%)	3 hafta	Kontrol	0 0-0	*p=0,442	^b p=0,195 ^c p=0,721
		%45YB	15 0-50		
		%60YB	10 0-20		
	8 hafta	Kontrol	0 0-0	**p=0,050	
		%45YB	5 0-10		
		%60YB	10 5-30		

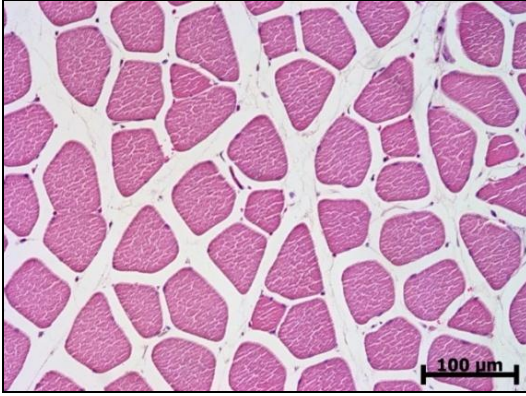
*p- Beslenme süresi 3 hafta olan %45 YB ve %60 YB grupların karşılaştırması için Mann-Whitney U test
**p- Beslenme süresi 8 hafta olan %45 YB ve %60 YB grupların karşılaştırması için Mann-Whitney U test
† p- Sıçan grupları için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması
^b p- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test
^c p- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

Tablo 6: Kas dokusunda epimisyumda adiposit birikimi

sure	grup	Epimisyumda adiposit birikimi/ sıçan sayısı		p-değeri	†p-değeri
		0: yok	1: var		
3 hafta	Kontrol (n=6)	4/6	2/6	* p=0,928	^a p=0,455 ^b p=1,000 ^c p=1,000
	%45 YB (n=8)	3/8	5/8		
	%60 YB	3/8	5/8		
8 hafta	Kontrol (n=6)	0/6	6/6	** p=0,860	
	%45 YB (n=8)	2/8	6/8		
	%60 YB (n=8)	2/8	6/8		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için İki örneklem Kolmogorov-Smirnov test
**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için İki örneklem Kolmogorov-Smirnov test
† p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması
^a p- Kontrol grubu için Fisher'in Kesin Ki-kare testi
^b p- %45 YB grubu Yates düzeltilmeli Ki-kare test
^c p- %60 YB grubu için Fisher'in Kesin Ki-kare testi

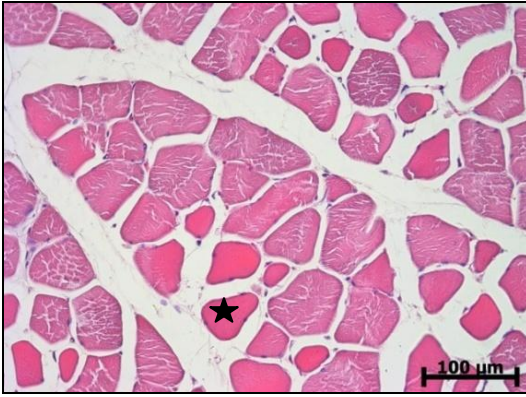
Resim 7: Kas dokusunda dejenere lifler



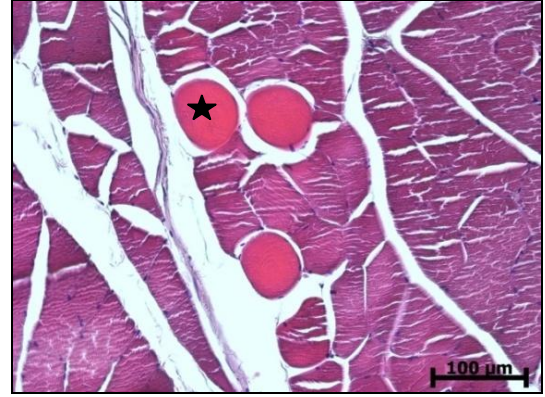
3 hafta kontrol



8 hafta kontrol



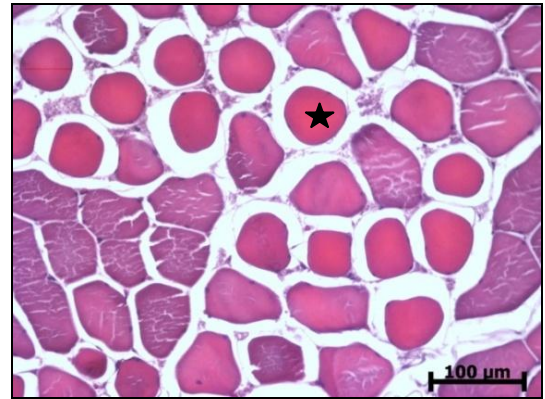
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



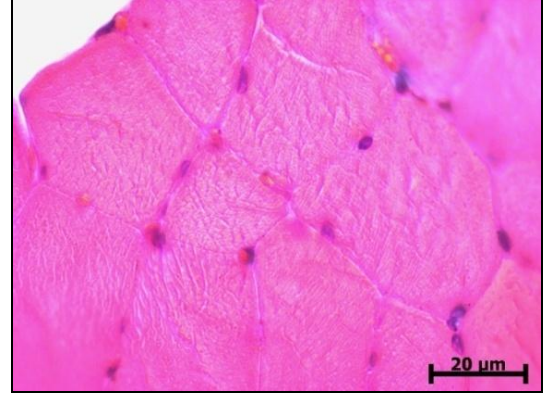
8 hafta %60YB

Kas dokusunda dejenere liflerin (★) tüm liflere oranındaki artışın 3 haftada %60YB grupta, %45YB gruptan daha fazla olduğu gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre hiçbir grupta dejenere liflerin oranında değişiklik olmadığı gözlemlendi (Hematoksilen- Eozin X200). Scale bars: 100μ.

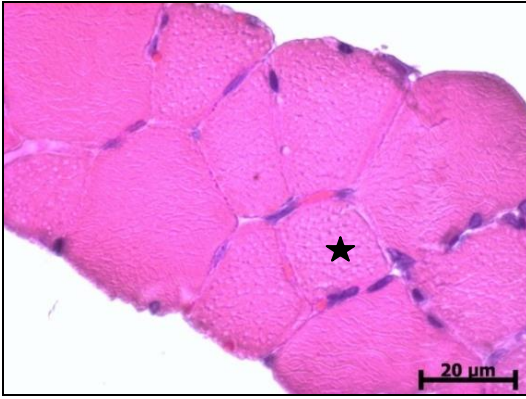
Resim 8: Kas dokusunda inklüzyonlu lifler



3 hafta kontrol



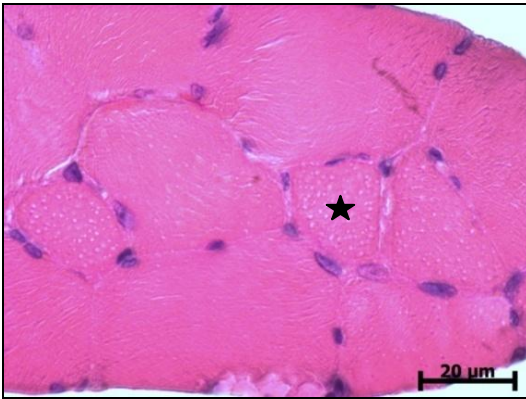
8 hafta kontrol



3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



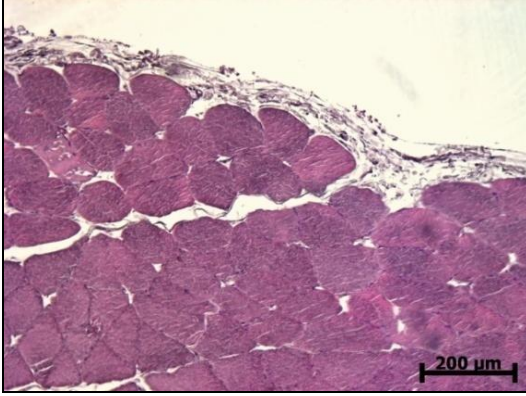
3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

3 haftada ve 8 haftada YB gruplarda kas dokusunda inklüzyonlu lifler (★) gözlendi (Hematoksilen- Eozin X1000). Scale bars: 20µ.

Resim 9: Kas dokusunda epimisyumda adiposit birikimi



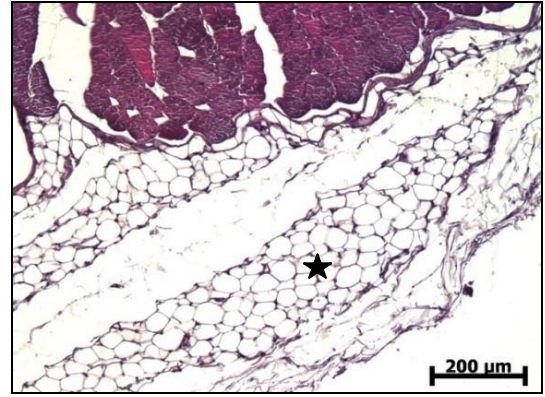
3 hafta kontrol



8 hafta kontrol



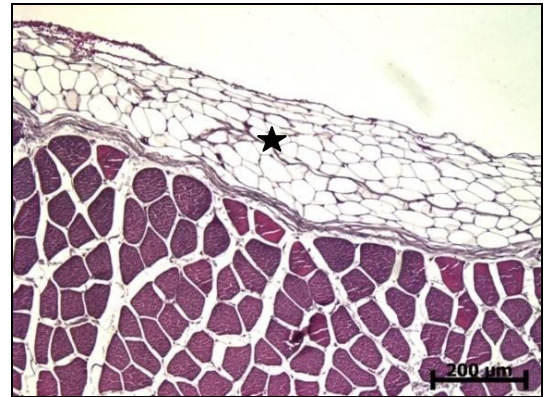
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

Üç hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlardan tüm gruplarda epimisyumda adiposit birikimine (★) rastlandı (Hematoksilen-Eozin X100). Scale bars: 200µ.

4.3. Pankreas Dokusu İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

4.3.1. OXA ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

OXA ile pankreas dokusu immün boyanması, Langerhans adacıklarında sitoplazmik boyanma şeklinde gözlemlendi. Üç hafta ve 8 hafta beslenme ile, gruplar arasında OXA ile boyanma açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 7).

Üç hafta beslenen gruplarda OXA immün boyanma yoğunluğu büyük çoğunlukla skor 2 idi (sırasıyla kontrol grupta %96,7, %45YB grupta %73,1 ve %60YB grupta %71,3). OXA immün boyanma yoğunluğu açısından her üç grupta anlamlı olarak birbirlerinden farklıydı ($p<0,001$) (Tablo 7). %45YB grupta boyanma yoğunluğunun skor 3'e (%26,9) kaydığı, yoğunluğun kısmen arttığı gözlemlendi. Fakat %60YB grupta skor 2 (%71,3) ve skor 3 (%17,5) boyanma yoğunluğunun azaldığı ve skor 1 (%11,2) boyanma yoğunluğunun arttığı gözlemlendi (Tablo 7, Resim 10). Sekiz hafta beslenen gruplarda OXA immün boyanma yoğunluğu büyük çoğunlukla skor 2 idi (sırasıyla kontrol grupta %95,8, %45YB grupta %83,2 ve %60YB grupta %41,2). OXA immün boyanma yoğunluğu açısından her üç grupta anlamlı olarak birbirlerinden farklıydı ($p<0,001$) (Tablo 7). %45YB grupta 3 haftaya göre skor 3 (%16,2) boyanma yoğunluğunun hafif azaldığı gözlemlendi. %60YB grupta skor 2 boyanma yoğunluğu çok belirgin şekilde azaldı (%41,2) ve skor 1 boyanma yoğunluğunun arttığı (%58,8) gözlemlendi (Tablo 7, Resim 10).

Üç hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlar karşılaştırıldığında, kontrol gruplarında OXA ile immün boyanma yoğunluğu birbirine benzer şekilde idi ($p=1,000$). %45YB gruplar arasında yağlı beslenme süresi arttıkça boyanma yoğunluğu skor 3'ün azaldığı ve skor 2'nin arttığı gözlemlendi ($p=0,036$). %60YB gruplar arasında yağlı beslenme süresi arttıkça boyanma skorunda istatistiksel olarak anlamlı belirgin azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Skor 3 kaybolurken, skor 2 belirgin azaldı ve skor 1 belirgin arttı (Tablo 7, Grafik 1, Resim 10).

Tablo 7: OXA ile pankreas dokusu immün boyaması

Beslenme Süresi	Grup	Adacık sayısı	OXA ile pankreas adacıklarında boyanma yoğunluğu (skor)				p-değeri	† p-değeri
			OXA0 %	OXA1 %	OXA2 %	OXA3 %		
3 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	3,3	96,7	-	*p<0,001	a p=1,000 b p=0,036 c p<0,001
	%45YB (n=8)	160	-	-	73,1	26,9		
	%60YB (n=8)	160	-	11,2	71,3	17,5		
8 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	4,2	95,8	-	** p<0,001	
	%45YB (n=8)	160	-	0,6	83,2	16,2		
	%60YB (n=8)	160	-	58,8	41,2	-		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Pearson Ki-kare test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Pearson Ki-kare test

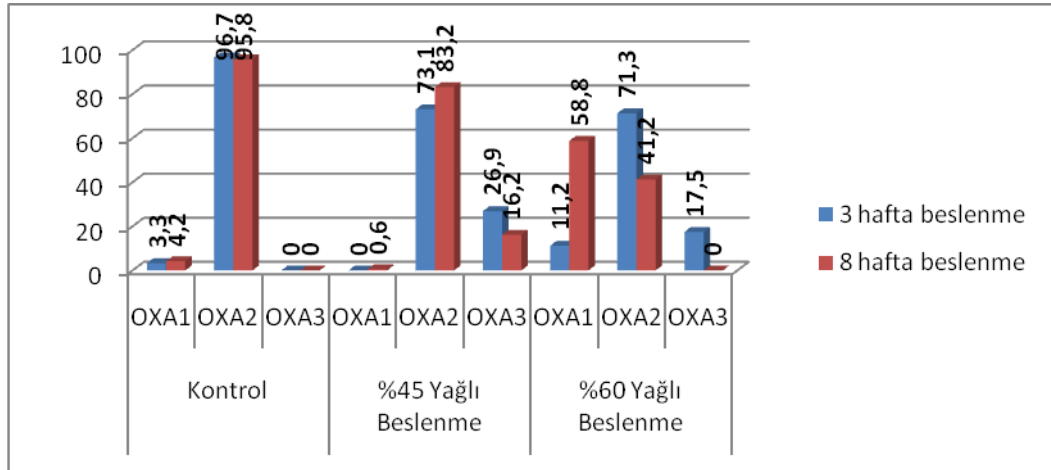
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^ap- Kontrol grubu için Fisher'in Kesin Ki-kare testi

^bp- %45 YB grubu için Olabilirlik Oranı Ki-kare test

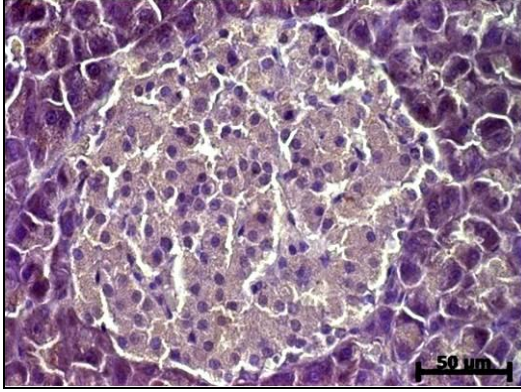
^cp- %60 YB grubu için Pearson Ki-kare test

Grafik 1: Pankreas dokusunda OXA ile immünohistokimyasal boyanma

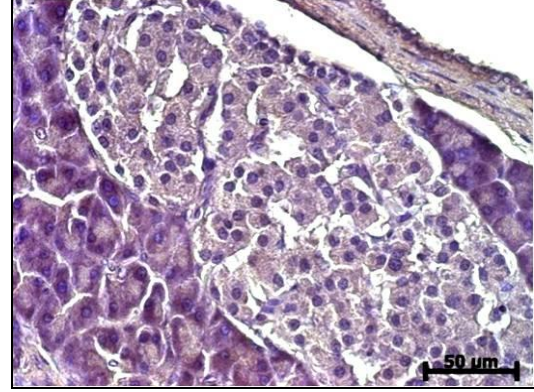


p=0,036; 8 haftada 3 haftaya göre %45YB grupta skor 3'ün azaldığı ve skor 2'nin arttığı gözlemlendi.
p<0,001; %60YB grupta skor 3 kaybolurken, skor 2'nin azaldığı ve skor 1'in arttığı gözlemlendi.

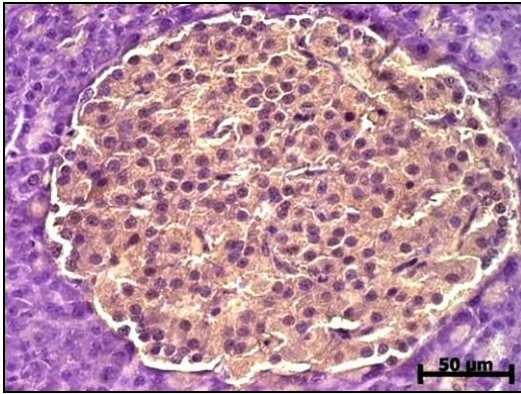
Resim 10: OXA ile pankreas dokusu immün boyaması



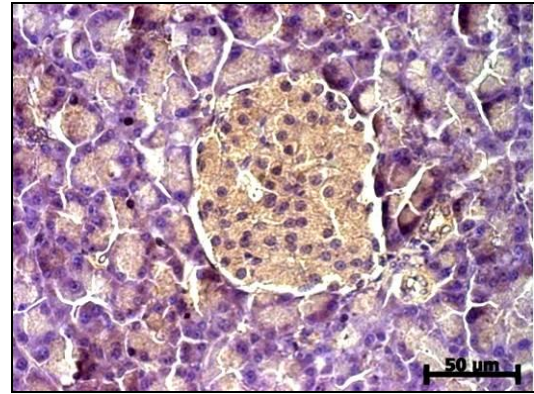
3 hafta kontrol



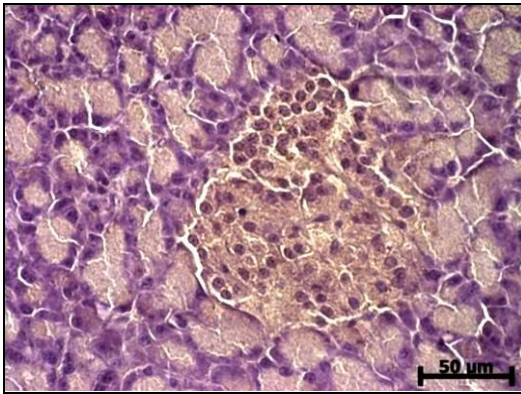
8 hafta kontrol



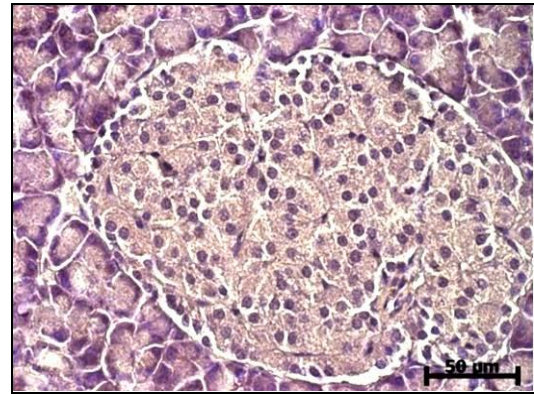
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

OXA immün boyanma yoğunluğu 3 haftada %45YB grupta artarken, %60YB grupta azaldığı gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre %60YB grupta boyanma yoğunluğunun azaldığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). Scale bars: 50µ.

4.3.2. OX1R ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

OX1R ile pankreas dokusu immün boyanmasında, Langerhans adacıklarında sitoplazmik boyanmanın yanı sıra, hücrelerin çoğunda nükleer boyanma da olduğu gözlemlendi. Üç hafta ve 8 hafta beslenme ile, OX1R ile immün boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 8).

Üç hafta beslenen sıçanlardan, %45YB grupta tüm adacıkların skor 2 yoğunlukta boyandığı gözlemlendi. Fakat %60YB grupta boyanma yoğunluğunun azaldığı gözlemlendi.

Sekiz hafta beslenen sıçanlardan, kontrol ve %45YB gruplarda tüm adacıkların skor 2 yoğunlukta boyandığı gözlemlendi. Fakat %60YB grupta skor 2 boyanma yoğunluğunun belirgin şekilde azaldığı, skor 1 ve skor 0 boyanma yoğunluğunun arttığı gözlemlendi. %60YB grup, %45YB ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az boyanma yoğunluğuna sahipti ($p<0,001$) (Tablo 8, Resim 11).

Üç hafta ve 8 hafta beslenen sıçanlar karşılaştırıldığında, kontrol grupları arasında; 8 hafta beslenen grupta skor 2 immün boyanma yüzdesinin (%100) 3 hafta beslenen gruba göre (%86,7) daha fazla olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). 3 ve 8 haftanın %45YB grupları birbirine benzer şekilde boyanma gösterdi. Fakat %60YB gruplar arasında 3 ve 8 hafta karşılaştırıldığında 8 hafta beslenen grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde boyanma yoğunluğunda azalma gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 8, Grafik 2, Resim 11).

Tablo 8: OX1R ile pankreas dokusu immün boyaması

Beslenme Süresi	Grup	Adacık sayısı	OX1R ile pankreas adacıklarında boyanma yoğunluğu (skor)				p-değeri	† p-değeri
			OX1R0 %	OX1R1 %	OX1R2 %	OX1R3 %		
3 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	13,3	86,7	-	*p<0,001	^a p<0,001 ^c p<0,001
	%45YB (n=8)	160	-	-	100	-		
	%60YB (n=8)	160	6,9	22,5	70,6	-		
8 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	-	100	-	** p<0,001	
	%45YB (n=8)	160	-	-	100	-		
	%60YB (n=8)	160	63,1	28,1	8,8	-		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Olabilirlik Oranı Ki-kare test

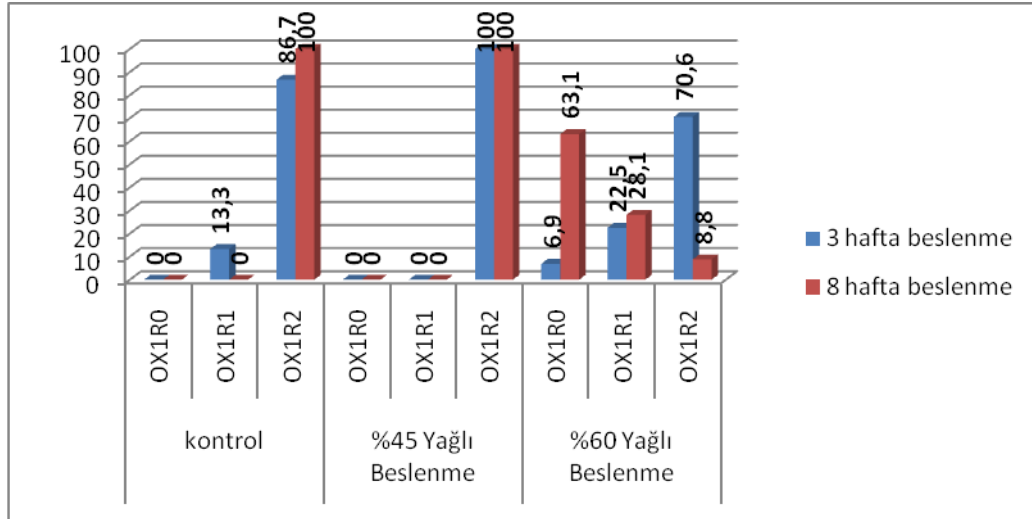
**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Pearson Ki-kare test

†p- Sıçan grupları için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^ap- Kontrol grubu için Pearson Ki-kare test

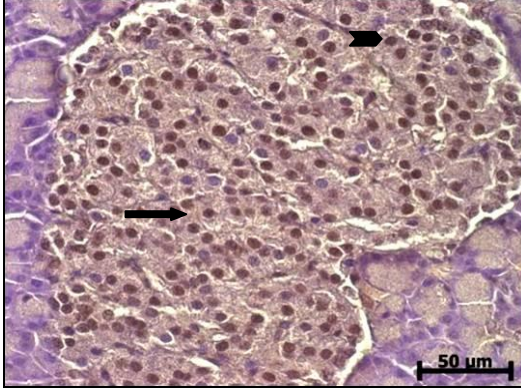
^cp- %60 YB grubu için Pearson Ki-kare test

Grafik 2: Pankreas dokusunda OX1R ile immünohistokimyasal boyanma

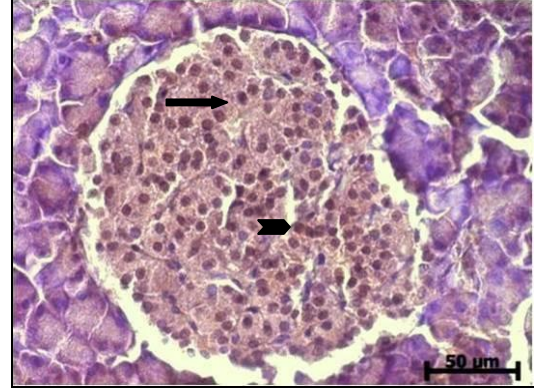


p<0,001; 8 haftada 3 haftaya göre %60YB grupta skor 2'nin azaldığı, skor 1 ve skor 0'ın arttığı gözlemlendi

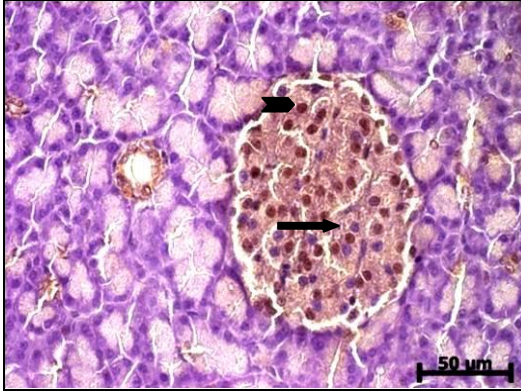
Resim 11: OX1R ile pankreas dokusu immün boyaması



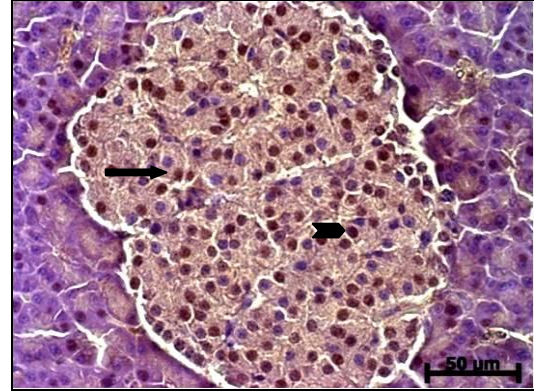
3 hafta kontrol



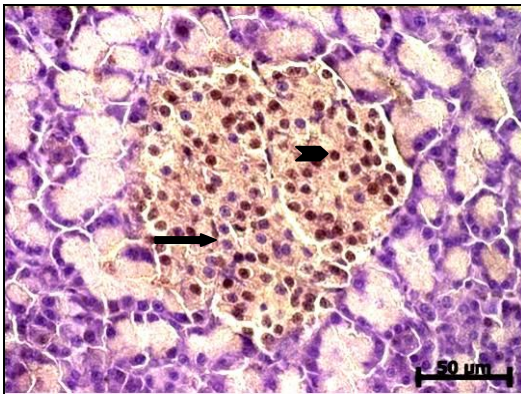
8 hafta kontrol



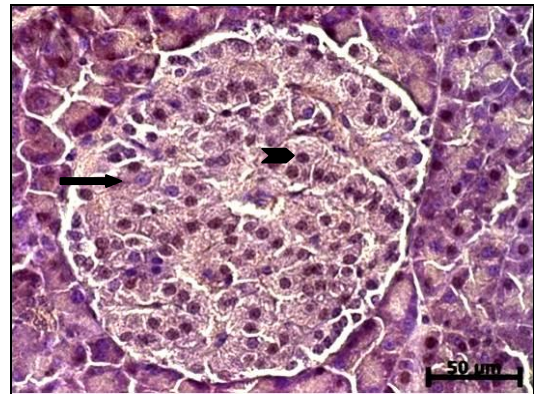
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

OX1R ile sitoplazmik (→) ve nükleer (➤) immün boyanma yoğunluğu 3 haftada %45YB grupta artarken, %60YB grupta azaldığı gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre %45YB grupta değişim olmadığı, %60YB grupta boyanma yoğunluğunun azaldığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilin X400). Scale bars: 50μ.

4.3.3. İnsülin ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

İnsülin ile pankreas dokusunun immün boyanmasında Langerhans adacıklarında β -hücrelerine uyan bölgelerdeki hücrelerde sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Üç hafta ve 8 hafta beslenme sürelerinin her ikisinde de, %45 ve %60YB gruplarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında insulin ile immün boyanma skorunun anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi. Gruplar birbirinden anlamlı olarak farklı idi. (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 9, Resim 12).

Üç ve 8 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grupları arasında fark gözlenmedi ($p=0,486$). 8 hafta beslenen %60YB grupta boyanma yoğunluğunun 3 haftaya göre daha fazla olduğu (skor 3 boyanmanın arttığı) gözlemlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,167$). %45YB gruplar arasında, 3 hafta beslenenlerde 8 hafta beslenenlere göre immün boyanma yoğunluğunun daha fazla olduğu gözlemlendi ($p=0,001$) (Tablo 9, Resim 12).

Tablo 9: İnsülin ile pankreas dokusu immün boyaması

Beslenme Süresi	Grup	Adacık sayısı	İnsülin ile pankreas adacıklarında boyanma yoğunluğu (skor)				p-değeri	† p-değeri
			İns0 %	İns1 %	İns2 %	İns3 %		
3 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	29,2	70,8	-	* $p<0,001$	^a $p=0,486$ ^b $p=0,001$ ^c $p=0,167$
	%45YB (n=8)	160	-	-	63,8	36,3		
	%60YB (n=8)	160	-	-	76,3	23,8		
8 hafta	Kontrol (n=6)	120	-	33,3	66,7	-	** $p<0,001$	
	%45YB (n=8)	160	-	3,8	72,5	23,8		
	%60YB (n=8)	160	-	-	69,4	30,6		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Pearson Ki-kare test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Pearson Ki-kare test

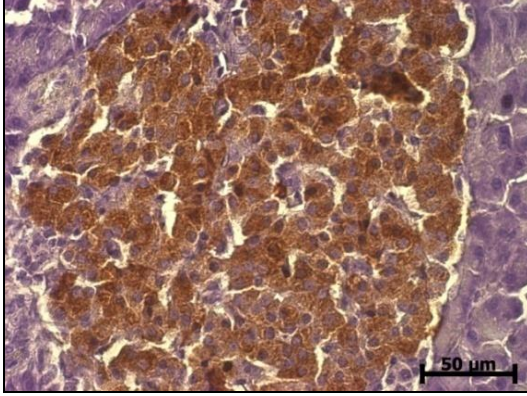
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^a p- Kontrol grubu için Pearson Ki-kare test

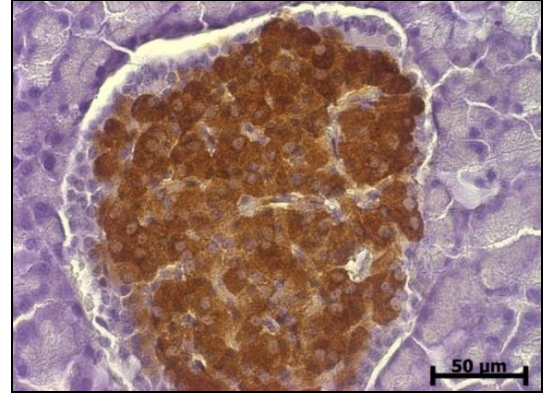
^b p- %45 YB grubu için Olabilirlik Oranı Ki-kare test

^c p- %60 YB grubu için Pearson Ki-kare test

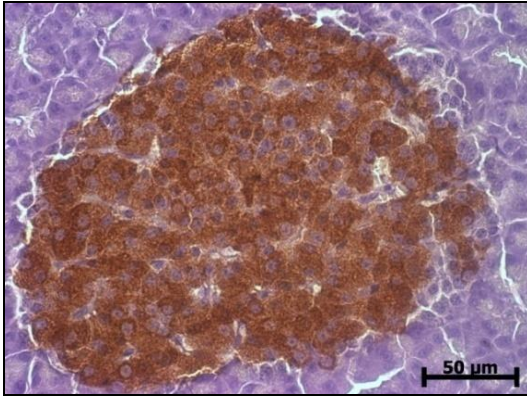
Resim 12: İnsülin ile pankreas dokusu immün boyaması



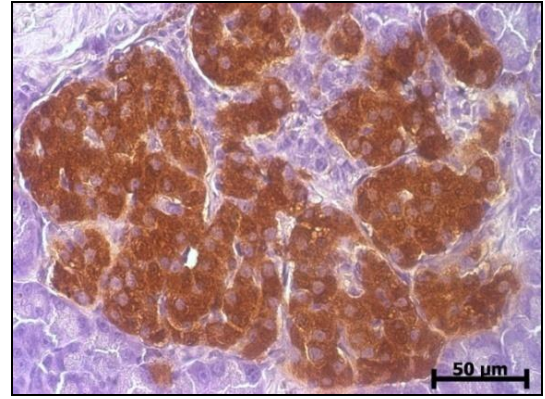
3 hafta kontrol



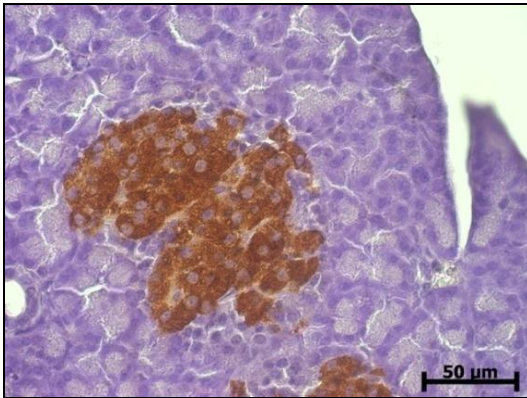
8 hafta kontrol



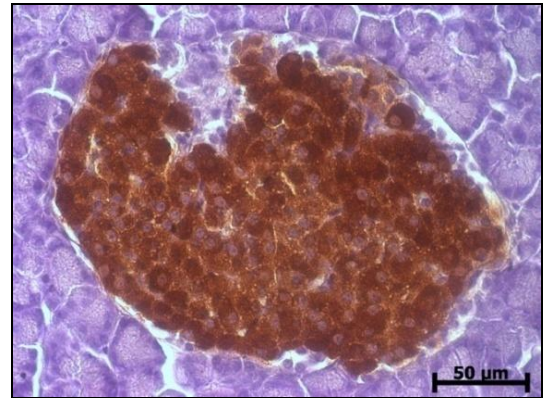
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

İnsülin ile immün boyanma yoğunluğunda artışın 3 haftada %45YB grupta, %60YB gruptan daha fazla olduğu gözlemlendi. 8 haftada 3 haftaya göre %45YB grupta boyanma yoğunluğu azalırken, %60YB grupta arttığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). Scale bars: 50µ

4.3.4. TGF-β1 ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

TGF-β1 ile pankreas dokusu immün boyanmasında adacıklarda sitoplazmik boyanma olduğu gözlemlendi. Üç hafta ve 8 hafta beslenme sürelerinin her ikisinde de, adacıklarda TGF-β1 ile immün boyanma yoğunluğu skor ortalaması açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla p=1,000 ve p=0,174) (Tablo 10, Resim 13).

Üç ve 8 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında; kontrol ve %45 YB grupları arasında fark gözlenmedi (sırasıyla p=1,000 ve p=0,574). %60 YB grupları arasında, 8 hafta beslenenlerde immün boyanma yoğunluğunda 3 hafta ile karşılaştırıldığında bir artış olduğu gözlemlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,442) (Tablo 10, Resim 13).

Tablo 10: TGF-β1 ile pankreas dokusu immün boyaması

	Beslenme süresi	Grup	Ortanca Minimum-Maksimum	p-değeri	† p-değeri
TGF-β1 ile pankreas adacıklarında immün boyanma yoğunluğu (skor)	3 hafta	kontrol	2,00	*p=1,000	^a p=1,000 ^b p=0,574 ^c p=0,442
			2-2		
		%45YB	2,00		
			1-3		
		%60YB	2,00		
			1-3		
	8 hafta	kontrol	2,00	**p=0,174	
			2-2		
		%45YB	2,00		
			2-3		
		%60YB	3,00		
			1-3		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

^{a,b}p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{a,c}p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{b,c}p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

^{a,b}p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{a,c}p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{b,c}p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

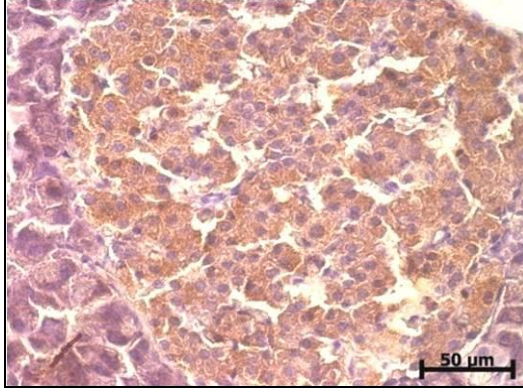
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^ap- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test

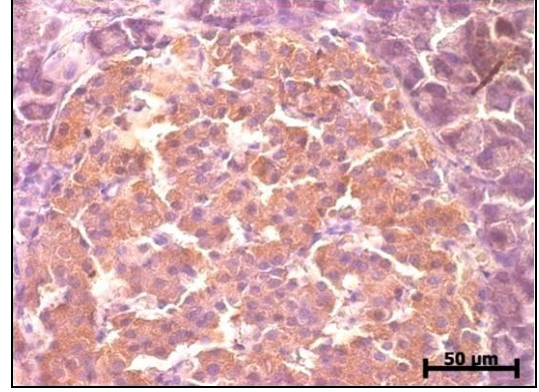
^bp- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test

^cp- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

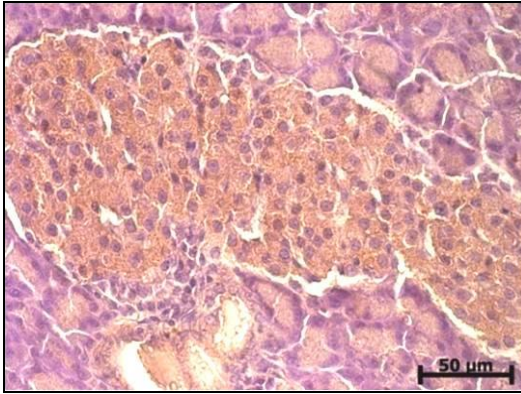
Resim 13: TGF- β 1 ile pankreas dokusu immün boyaması



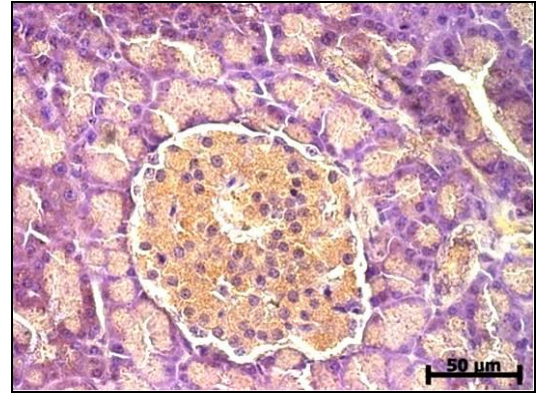
3 hafta kontrol



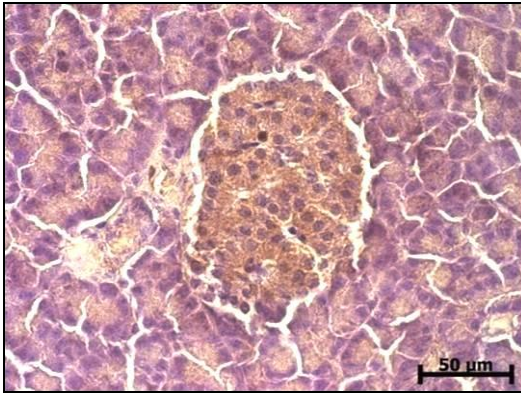
8 hafta kontrol



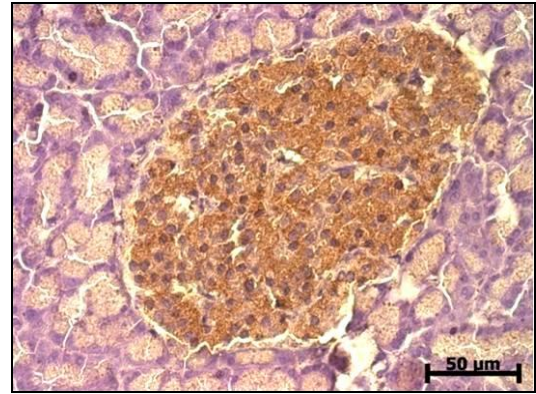
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

TGF- β 1 ile immün boyanma yoğunluğunda gruplar arası anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. 8 haftada %60YB grupta boyanma yoğunluğunun arttığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). Scale bars: 50 μ

4.3.5. IL-6 ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

IL-6 ile pankreas dokusu immün boyanması, boyanma gözlenen pankreas Langerhans adacıklarında sitoplazmik boyanma şeklinde gözlemlendi. Üç hafta ve 8 hafta beslenme sürelerinin her ikisinde de, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla $p=0,012$ ve $p<0,001$) (Tablo 11, Resim 14).

Üç hafta süreyle beslenen sıçanlarda, %45YB ve %60YB grupların IL-6 ile boyanma yoğunluğu skor ortalamalarının, kontrol gruba göre Bonferroni düzeltilmesi ile istatistiksel olarak anlamlı farklı olmadığı gözlemlendi (sırasıyla $p=0,020$ ve $p=0,020$) (Tablo 11, Resim 14). Sekiz hafta süreyle beslenen sıçanlarda, %60YB grubun IL-6 boyanma yoğunluğu skor ortalamasının, kontrol ve % 45 YB gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 11, Resim 14).

Üç ve 8 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında; kontrol ve %60YB gruplar için anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla $p=1,000$ ve $p=0,442$). %45YB gruplar arasında, 3 hafta beslenenlerde IL-6 ile immün boyanma yoğunluğunun 8 haftaya göre daha fazla olduğu gözlemlendi ($p=0,010$) (Tablo 11, Resim 14).

Tablo 11: IL-6 ile pankreas dokusu immün boyaması

	Beslenme süresi	Grup	Ortanca Minimum-Maksimum	p-değeri	† p-değeri
IL-6 ile pankreas adacıklarında immün boyanma yoğunluğu (skor)	3 hafta	kontrol	0,00	* $p=0,012$ a,b $p=0,020$ a,c $p=0,020$ b,c $p=0,574$	a $p=1,000$ b $p=0,010$ c $p=0,442$
			0-0		
		%45 YB	1,00		
			0-2		
		%60 YB	1,00		
			0-1		
	8 hafta	kontrol	0,00	** $p<0,001$ a,b $p=1,000$ a,c $p=0,001$ b,c $p<0,001$	
			0-1		
		%45 YB	0,00		
			0-0		
		%60 YB	1,00		
			1-1		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

a,b p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

a,c p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

b,c p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

a,b p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

a,c p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

b,c p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

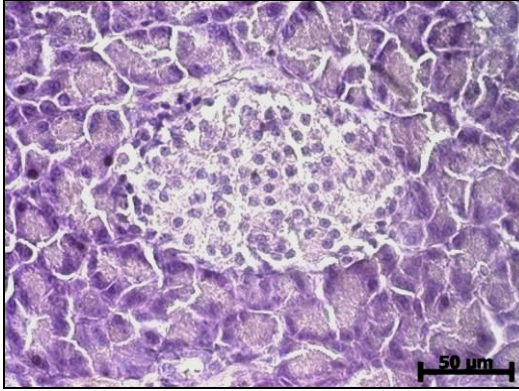
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

a p- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test

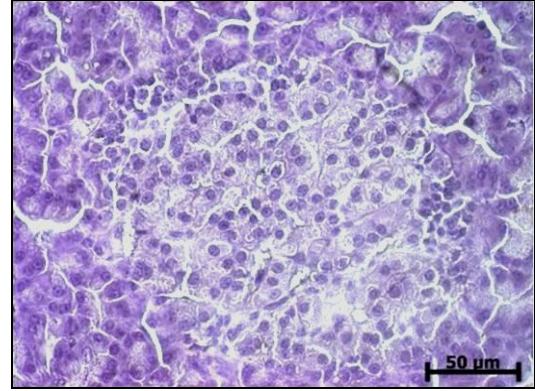
b p- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test

c p- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

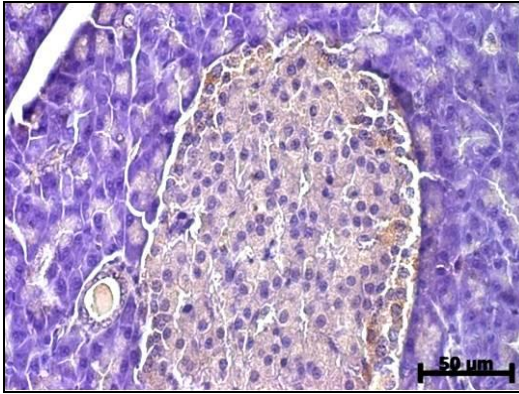
Resim 14: IL-6 ile pankreas dokusu immün boyaması



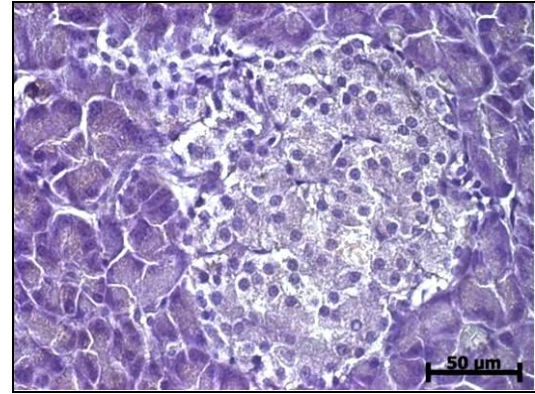
3 hafta kontrol



8 hafta kontrol



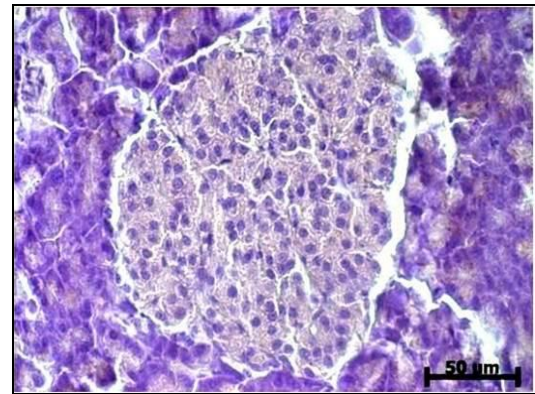
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



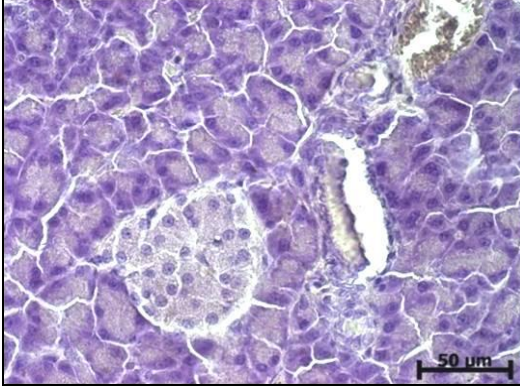
8 hafta %60YB

IL-6 ile immün boyanma yoğunluğunun %45YB grupta 3 haftada artarken, 8 haftada azaldığı gözlemlendi. %60YB grupta boyanma yoğunluğunun 3 haftada arttığı ve 8 haftada değişme olmadığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). Scale bars: 50µ.

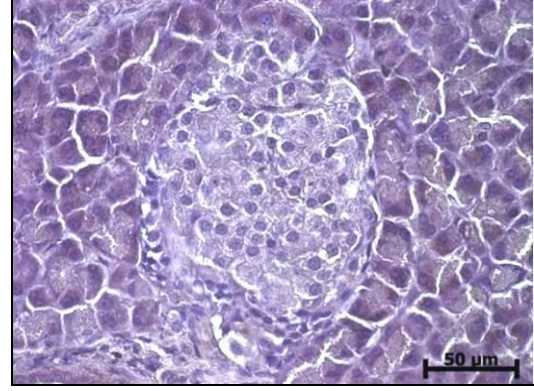
4.3.6. Desmin ile Pankreas Dokusu İmmün Boyaması

Hiçbir grupta desmin ile immün pozitif boyanma gözlenmedi (Resim 15).

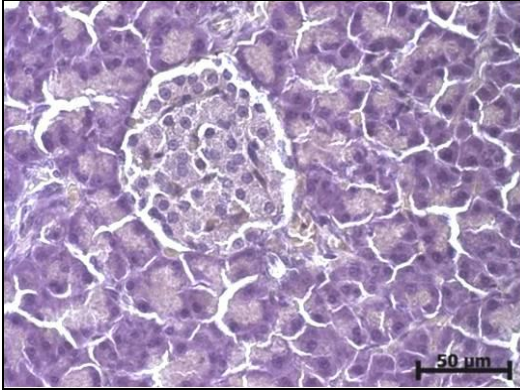
Resim 15: Desmin ile pankreas dokusu immün boyaması



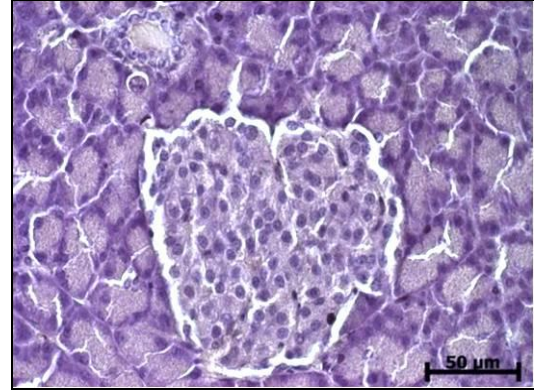
3 hafta kontrol



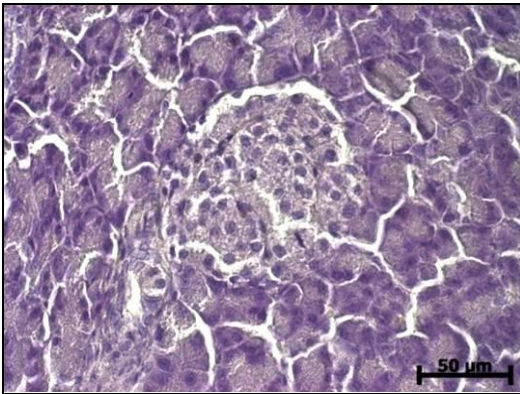
8 hafta kontrol



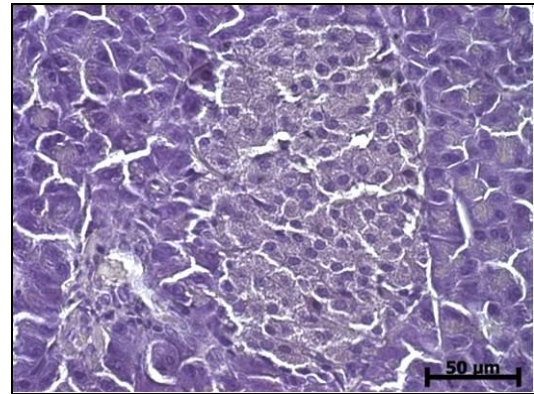
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



3 hafta %60YB



8 hafta %60YB

Desmin ile immün boyanma tüm gruplarda negatif olarak gözlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). Scale bars: 50µ.

4.4 Kas Dokusu İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

4.4.1. AdipoR1 ile Kas Dokusu İmmün Boyaması

AdipoR1 ile kas dokusu immün boyanması kas hücrelerinde membran boyanması şeklinde gözlemlendi. Üç hafta beslenmede AdipoR1 ile immün boyanma yoğunluğu skor ortalamasının %60 YB grupta, %45 YB ve kontrol gruptan daha az olduğu, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi ($p=0,160$) (Tablo 12, Resim 16).

Sekiz hafta beslenme ile gruplar arasında AdipoR1 ile immün boyanma yoğunluğu skor ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,004$) (Tablo 10). %60 YB grubun ortalamasının kontrol gruba göre daha az olduğu gözlemlendi ($p=0,005$) (Tablo 12, Resim 16).

Üç ve 8 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (Tablo 12, Resim 16).

Tablo 12: ADİPOR1 ile kas dokusu immün boyaması

	Beslenme süresi	Grup	Ortanca Minimum-Maksimum	p-değeri	† p-değeri
AdipoR1 ile immünboyanma yoğunluğu (skor)	3 hafta	kontrol	2,00	* $p=0,160$	^a $p=0,240$ ^b $p=0,721$ ^c $p=0,721$
			1-3		
		%45 YB	2,00		
			1-2		
		%60 YB	1,00		
			1-2		
	8 hafta	kontrol	2,50	** $p=0,004$	
			2-3		
		%45 YB	2,00		^{a,b} $p=0,059$
			1-2		^{a,c} $p=0,005$
		%60 YB	1,00		^{b,c} $p=0,105$
			1-2		

*p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

^{a,b} p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{a,c} p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{b,c} p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test

^{a,b} p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{a,c} p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

^{b,c} p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test

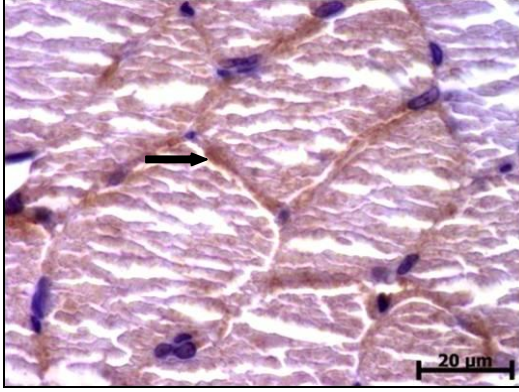
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^a p- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test

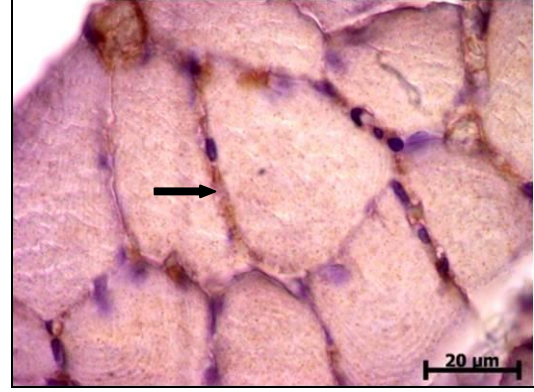
^b p- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test

^c p- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

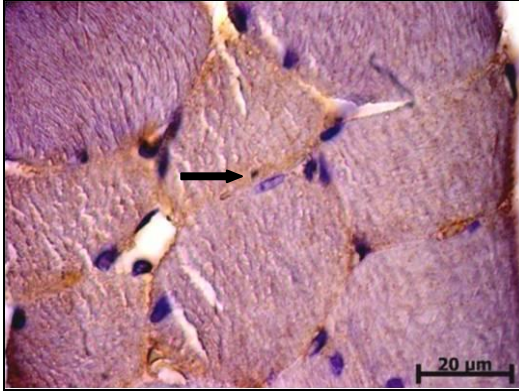
Resim 16: AdipoR1 ile kas dokusu immün boyaması



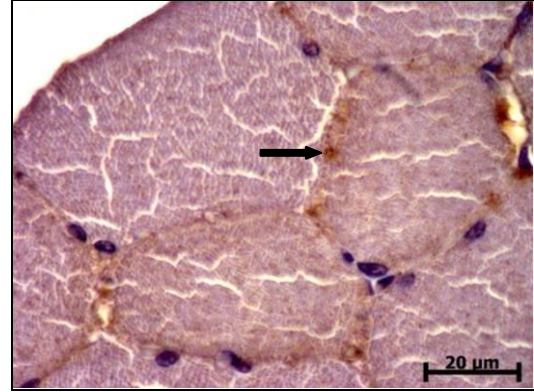
3 hafta kontrol



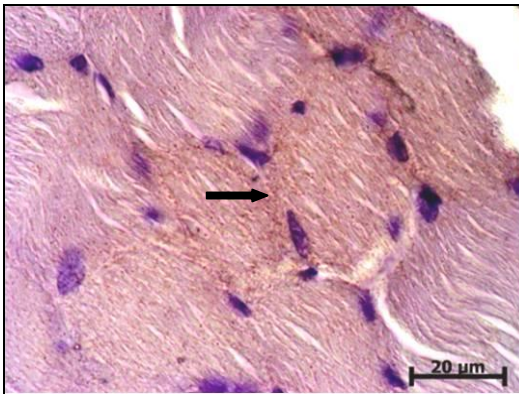
8 hafta kontrol



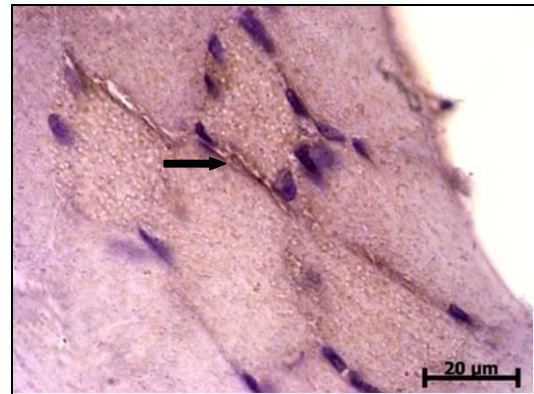
3 hafta %45YB



8 hafta %45YB



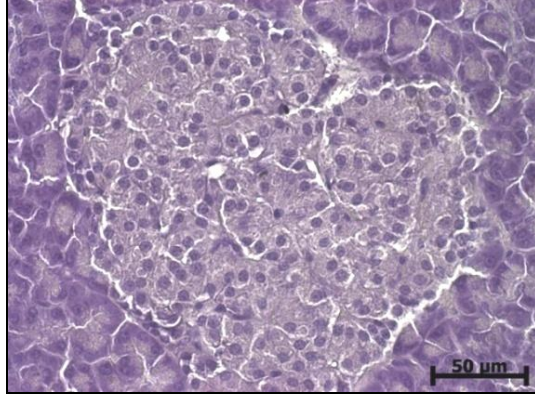
3 hafta %60YB



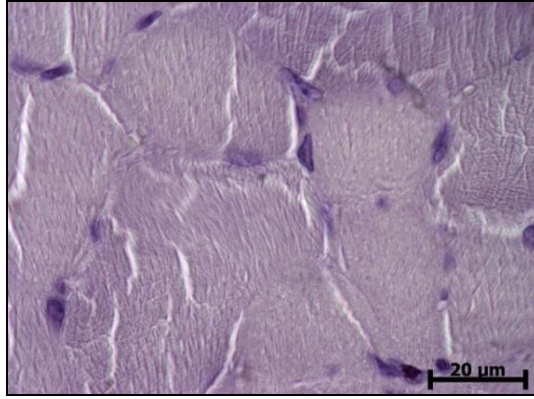
8 hafta %60YB

AdipoR1 ile kas hücresinde membran boyanması (\longrightarrow) 3 haftada %45YB grupta değişiklik göstermezken, %60YB grupta azaldı. 8 haftada 3 haftaya göre her iki grupta da değişiklik olmadığı gözlemlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). Scale bars: 20 μ .

Resim 17: Negatif kontroller



Pankreas dokusunda negatif kontrol boyası X400. Scale bars: 50µ.



Kas dokusunda negatif kontrol boyası X1000. Scale bars: 20µ.

4.5. Biyokimyasal Sonuçlar

4.5.1. Leptin

Sekiz hafta beslenme sonrası leptin değerleri açısından tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlendi ($p=0,012$, Tablo 13). Sekiz hafta beslenen sıçanlardan, %45YB ve %60YB grupların leptin değerleri kontrol grubundan yüksekti (sırasıyla $p=0,020$, $p=0,029$) ancak, Bonferroni düzeltmesi yapılıncaya istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmadığı sonucuna ulaşıldı ($p>0,017$) (Tablo 13).

4.5.2. Glukoz

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlendi (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,002$) (Tablo 13).

Üç hafta beslenen sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların glukoz değerlerinin kontrol grubun glukoz değerlerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlendi (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$) (Tablo 13). Aynı şekilde, 8 hafta beslenen sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların glukoz değerlerinin kontrol gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu gözlendi (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$) (Tablo 13).

Sekiz hafta ve 3 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında kontrol, %45YB ve %60YB gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (tüm gruplar için $p>0,05$) (Tablo 13).

4.5.3. İnsülin

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların serum insülin ortalamalarının kontrol gruplardan daha yüksek olduğu, %60YB grupların serum insülin ortalamalarının %45YB gruplardan daha yüksek olduğu gözlendi. Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda gruplar arasında insülin ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlendi (sırasıyla $p=0,264$ ve $p=0,285$) (Tablo 13).

Tüm gruplarda beslenme süresi 8 hafta olan sıçanların serum insülin ortalamalarının 3 hafta beslenenlerden daha yüksek olduğu gözlemlendi, fakat istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu (tüm gruplar için $p>0,05$) (Tablo 13).

4.5.4. İnsülin direnci

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda gruplar arasında insülin direnci ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,003$) (tablo 13). Beslenme süresi 3 hafta olan sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların insülin direnci ortalamalarının kontrol gruptan anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,001$). Beslenme süresi 8 hafta olan sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların insülin direnci ortalamalarının kontrol gruptan anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$) (Tablo 13).

Tüm gruplarda beslenme süresi 8 hafta olan sıçanların insülin direnci ortalamalarının 3 hafta beslenenlerden daha yüksek olduğu gözlemlendi, fakat istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu (tüm gruplar için $p>0,05$) (Tablo 13).

4.5.5. Glukagon

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda %45YB ve %60YB grupların glukagon ortalamaları kontrol gruptan daha düşüktü, fakat 3 hafta ve 8 hafta beslenme ile gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0,208$, $p=0,182$) (Tablo 13).

Tüm gruplarda beslenme süresi 8 hafta olan sıçanların glukagon ortalamaları beslenme süresi 3 hafta olanlardan daha düşüktü, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (tüm gruplar için $p>0,05$) (Tablo 13).

4.5.6. HDL

Üç hafta beslenen sıçanlarda %45YB ve %60YB grupların HDL ortalamaları kontrol gruptan daha düşüktü, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Tablo 13).

Sekiz hafta beslenen sıçanlardan %60YB grubun HDL ortalaması, kontrol gruptan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıydı ($p=0,001$) (Tablo 13).

Üç ve 8 hafta beslenme arasında gruplarda HDL değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 13).

4.5.7. TNF- α

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda %45YB ve %60YB grupların TNF ortalamaları kontrol gruptan yüksekti. Fakat istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0,213$, $p=0,086$) (Tablo 13).

Tüm gruplarda beslenme süresi 8 hafta olan sıçanların TNF- α ortalamaları beslenme süresi 3 hafta olanlardan daha yüksekti, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0,699$, $p=0,798$ ve $p=0,065$) (Tablo 13).

4.5.8. IL-6

Hem 3 hafta hem de 8 hafta beslenen sıçanlarda %45YB ve %60YB grupların serum IL-6 ortalamaları kontrol gruptan daha yüksekti, fakat 3 hafta ve 8 hafta beslenme ile gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0,891$, $p=0,553$) (Tablo 13).

Tüm gruplarda beslenme süresi 8 hafta olan sıçanların IL-6 ortalamaları beslenme süresi 3 hafta olanlardan daha yüksekti, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (tüm gruplar için $p>0,05$) (Tablo 13).

Tablo 13: Leptin, Glukoz, İnsülin, İnsülin direnci, Glukagon, HDL, TNF- α , IL-6

Beslenme suresi	Grup	Ortalama	Ortanca	ss	minimum	maximum	p-değeri	† p-değeri	
Leptin (pg/ml)	3 hafta	kontrol	224,69	239,45	56,61	124,80	288,45	* p=0,523	a p=0,485 b p<0,001 c p=0,050
		%45YB	274,53	134,88	250,83	76,60	779,00		
		%60YB	453,29	355,05	507,37	11,45	1632,50		
	8 hafta	kontrol	411,03	146,13	635,38	90,25	1703,00	** p=0,012	
		%45YB	1471,19	1333,00	676,99	574,00	2467,00	a, b p=0,020	
		%60YB	856,61	771,00	532,32	358,30	1986,00	a, c p=0,029 b, c p=0,050	
Glukoz (mg/dl)	3 hafta	kontrol	104,6667	101,5000	13,51542	89,00	125,00	* p= ,003	a p= ,818 b p= ,878 c p= 1,000
		%45YB	147,0000	151,5000	18,47779	116,00	169,00	a, b p= ,001	
		%60YB	153,7500	152,5000	14,09914	136,00	177,00	a, c p= ,001 b, c p= ,721	
	8 hafta	kontrol	103,6667	107,0000	13,93796	76,00	114,00	** p= ,002	
		%45YB	153,3750	141,5000	26,47337	122,00	198,00	a, b p= ,001	
		%60YB	155,1250	148,5000	16,14610	139,00	183,00	a, c p= ,001 b, c p= ,505	
İnsülin (ng/ml)	3 hafta	kontrol	,5667	,5700	,03502	,52	,62	* p= ,264	a p= ,485 b p= ,798 c p= ,505
		%45YB	,5975	,5950	,03694	,54	,66		
		%60YB	,6063	,5950	,04838	,56	,69		
	8 hafta	kontrol	,5817	,5850	,03312	,53	,62	** p= ,285	
		%45YB	,6088	,5900	,04257	,57	,68		
		%60YB	,6138	,6250	,03378	,56	,66		
İnsülin Direnci (HOMA-IR)	3 hafta	kontrol	2,6399	2,4564	,42681	2,29	3,44	* p= ,002	a p= 485 b p= ,574 c p= ,721
		%45YB	3,9159	3,8760	,64245	2,94	4,81	a, b p= ,003	
		%60YB	4,1296	4,0960	,35606	3,71	4,80	a, c p= ,001 b, c p= ,505	
	8 hafta	kontrol	2,6874	2,8347	,44269	1,89	3,09	** p= ,003	
		%45YB	4,1374	4,1240	,67359	3,20	5,10	a, b p= ,001	
		%60YB	4,2252	4,1649	,43578	3,68	5,12	a, c p= ,001 b, c p= ,645	
Glukagon (pg/ml)	3 hafta	kontrol	381,8567	379,4500	10,21514	367,21	396,45	* p= ,208	a p= ,180 b p= ,505 c p= ,195
		%45YB	373,6763	373,1350	10,03109	358,21	390,24		
		%60YB	371,7113	372,0850	8,23302	358,16	383,24		
	8 hafta	kontrol	376,2783	374,9200	8,75205	367,21	392,21	** p= ,182	
		%45YB	368,2013	370,8750	10,02688	352,71	382,64		
		%60YB	361,9675	361,6350	14,19619	341,43	378,19		
HDL (mg/dl)	3 hafta	kontrol	14,67	12,50	5,43	10,00	25,00	* p=0,150	a p=0,589 b p=0,878 c p=0,161
		%45YB	10,75	11,00	2,60	7,00	14,00		
		%60YB	10,00	10,50	2,56	6,00	13,00		
	8 hafta	kontrol	16,00	15,50	5,51	11,00	26,00	** p=0,003	
		%45YB	11,13	10,00	4,49	7,00	21,00	a, b p=0,029	
		%60YB	22,25	23,50	9,65	5,00	36,00	a, c p=0,001 b, c p=0,105	
TNF- α (pg/ml)	3 hafta	kontrol	253,70	240,70	47,22	219,45	345,95	* p=0,213	a p=0,699 b p=0,798 c p=0,065
		%45YB	292,33	273,20	67,35	227,45	433,95		
		%60YB	253,76	252,20	26,20	226,95	295,95		
	8 hafta	kontrol	258,62	242,95	43,04	228,95	342,95	** p=0,086	
		%45YB	296,14	277,95	61,40	246,95	435,45		
		%60YB	297,14	281,95	46,02	244,45	374,45		
IL-6 (serum) (pg/ml)	3 hafta	kontrol	203,67	209,00	13,171	178	214	* p= ,891	a p= ,699 b p= ,645 c p= ,878
		%45YB	205,00	205,00	5,757	196	214		
		%60YB	206,00	206,00	8,751	194	218		
	8 hafta	kontrol	201,33	203,00	11,361	182	214	** p= ,553	
		%45YB	206,75	207,00	7,479	196	218		
		%60YB	207,25	208,00	5,230	198	214		

- *p- Beslenme süresi 3 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test
**p- Beslenme süresi 8 hafta olan grupların karşılaştırması için Kruskal-Wallis test
 ^{a,b}p- Kontrol ve %45 YB grubu için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test
 ^{a,c}p- Kontrol ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test
 ^{b,c}p- %45 YB ve %60 YB grubu Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U test
†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması
 ^ap- Kontrol grubu için Mann-Whitney U test
 ^bp- %45 YB grubu için Mann-Whitney U test
 ^cp- %60 YB grubu için Mann-Whitney U test

4.5.9. Total kolesterol

Üç hafta beslenen sıçanlardan %45YB grubunun total kolesterol (TC) ortalamasının kontrol gruba göre düşük olduğu gözlemlendi ($p=0,020$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 14).

Üç ve 8 hafta beslenme ile kontrol grubundaki sıçanlardan 8 hafta beslenen sıçanların TC ortalamasının 3 hafta beslenmeye göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. %45YB ve %60YB gruplarının TC ortalamalarının birbirine benzer şekilde olduğu gözlemlendi (Tablo 14).

4.5.10. Trigliserit

Üç hafta beslenen sıçanlardan %45YB grubunun TG ortalaması kontrol gruba göre düşüktü ($p=0,004$) (Tablo 14).

Sekiz hafta beslenen sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların TG ortalamaları kontrol gruptan daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,104$) (Tablo 14).

Sekiz hafta beslenen sıçanlardan %45YB ve %60YB grupların TG ortalaması 3 hafta beslenenlerden daha yüksekti, %45YB grupta bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$) (Tablo 14).

(İki Yönlü Varyans analizinde TC, TG ve VLDL ortalamalarında grup ile beslenme süresi arasında anlamlı etkileşimler saptanmadı ($p>0,05$). Bu nedenle, beslenme süresi 3 ve 8 hafta olan grupların karşılaştırması ile her üç grup için ayrı ayrı beslenme süresine göre karşılaştırmalar Tablo 14'de sunuldu).

4.5.11. VLDL

Üç hafta beslenmenin VLDL ortalamaları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu gözlemlendi ($p=0,015$). Üç hafta beslenen kontrol ve %60YB gruptaki sıçanların VLDL ortalaması %45YB gruplarının VLDL ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksekti (sırasıyla kontrol $p=0,046$ ve %60 YB $p=0,030$).

8 hafta beslenen %45YB ve %60YB grupların VLDL ortalamaları kontrol gruptan daha yüksekti, fakat istatistiksel anlamlılık yoktu ($p= 0,101$) (Tablo 14).

Üç ve 8 hafta beslenen gruplar karşılaştırıldığında, %45YB gruplarda beslenme süresinin uzaması (8 hafta) ile VLDL de istatistiksel anlamlı artış saptandı ($p=0,001$).

Kontrol gruptaki sıçanlardan ise 8 hafta beslenenlerin VLDL ortalaması 3 hafta beslenenlerden daha düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0,159$) (Tablo 14).

Tablo 14: Total kolesterol, Trigliserit, VLDL

	Süre	Grup	Ortalama	ss	p-değeri	tp-değeri
TC (mg/dl)	3 hafta	kontrol	72,00	9,92	* $p=0,020$	^a $p=0,172$ ^b $p=0,976$ ^c $p=0,944$
		%45YB	55,13	9,11	^{a,b} $p=0,020$	
		%60YB	59,38	11,46	^{a,c} $p=0,102$ ^{b,c} $p=1,000$	
	8 hafta	kontrol	64,83	6,62	** $p=0,099$	
		%45YB	55,00	7,35		
		%60YB	59,00	9,29		
TG (mg/dl)	3 hafta	kontrol	123,50	9,52	* $p=0,005$	^a $p=0,153$ ^b $p=0,001$ ^c $p=0,267$
		%45YB	100,50	11,80	^{a,b} $p=0,004$	
		%60YB	123,50	22,52	^{a,c} $p=1,000$ ^{b,c} $p=0,065$	
	8 hafta	kontrol	109,17	20,62	** $p=0,104$	
		%45YB	151,88	34,99		
		%60YB	144,38	45,83		
VLDL (mg/dl)	3 hafta	kontrol	24,67	1,97	* $p=0,015$	^a $p=0,159$ ^b $p=0,001$ ^c $p=0,243$
		%45YB	20,00	2,33	^{a,b} $p=0,046$	
		%60YB	24,63	4,50	^{a,c} $p=1,000$ ^{b,c} $p=0,030$	
	8 hafta	kontrol	21,83	4,12	** $p=0,101$	
		%45YB	30,25	6,88		
		%60YB	29,00	9,09		

TC ve VLDL;

* p – Beslenme süresi 3 hafta olan sıçanlar için Tek Yönlü Varyans Analizi

^{a,b} p – Kontrol ve %45 YB için Bonferroni test

^{a,c} p – Kontrol ve %60 YB için Bonferroni test

^{b,c} p – %45 YB ve %60 YB için Bonferroni test

TG ;

* p – Beslenme süresi 3 hafta olan sıçanlar için Welch Tek Yönlü Varyans Analizi

^{a, b} p –Kontrol ve %45 YB için Games-Howel test

^{a, c} p –Kontrol ve %60 YB için Games-Howel test

^{b, c} p –%45 YB ve %60 YB için Games-Howel test

TC, TG ve VLDL;

** p – Beslenme süresi 8 hafta olan sıçanlar için Tek Yönlü Varyans Analizi

†p- Her üç sıçan grubu için ayrı ayrı beslenme süresi 3 hafta ve 8 hafta olanların karşılaştırması

^a p –Kontrol sıçanlar için Student t test

^b p –%45 YB sıçanlar için Student t test

^c p –%60 YB sıçanlar için Student t test

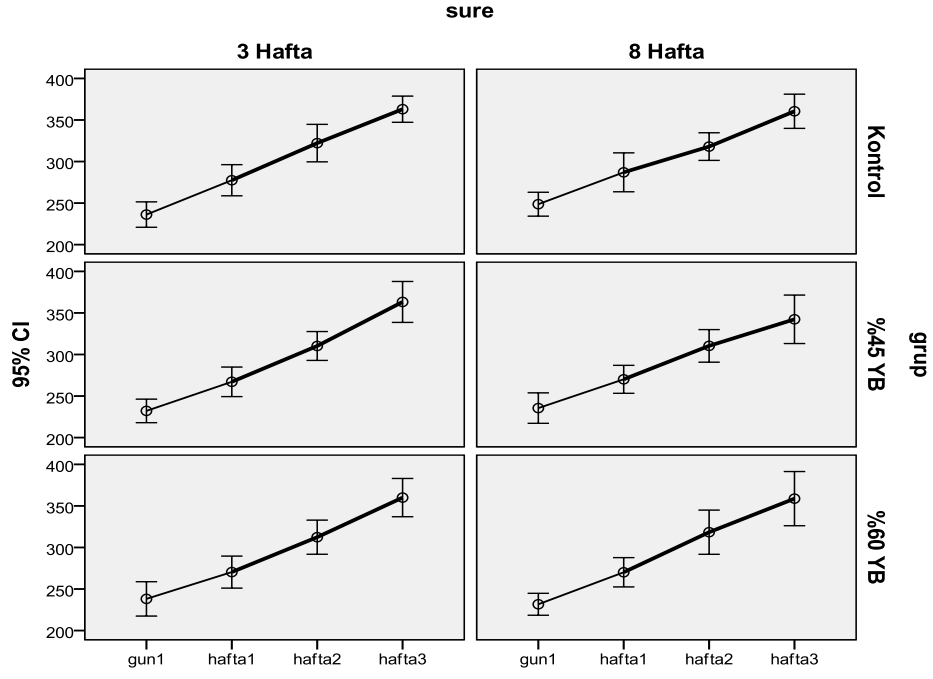
TC: Total kolesterol

TG: Trigliserit

4.6. Sıçan Ağırlıkları

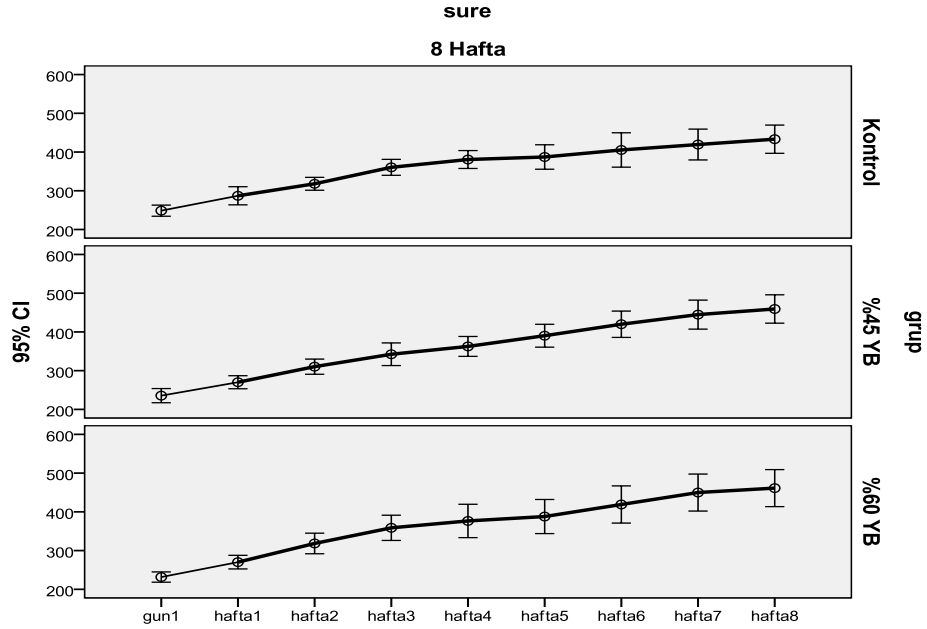
Ortalama ağırlık artışları açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$) fakat her ölçümde gerçekleşen ağırlık artışı bir önceki ölçüme göre 3 hafta ve 8 hafta boyunca beslenen tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 15) (Grafik 3 ve Grafik 4).

Grafik 3: Sıçan ağırlıkları (Tüm sıçanların ilk 3 haftada ölçülen ağırlıkları)



$p < 0,001$; 3 hafta boyunca sıçan ağırlıklarının her ölçümde anlamlı olarak arttığı gözlemlendi.

Grafik 4: Sıçan ağırlıkları (8 hafta beslenen sıçanların ağırlıkları)



$p < 0,001$; 8 hafta boyunca sıçan ağırlıklarının her ölçümde anlamlı olarak arttığı gözlemlendi.

Tablo 15: Sıçan ağırlıkları (gram)

Sıçan no.	1.gün	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
K1	220	267	315	365	-	-	-	-	-
K2	241	259	296	339	-	-	-	-	-
K3	252	302	337	375	-	-	-	-	-
K4	228	275	312	357	-	-	-	-	-
K5	223	265	316	360	-	-	-	-	-
K6	253	297	357	382	-	-	-	-	-
H1	216	251	303	355	-	-	-	-	-
H2	239	280	313	372	-	-	-	-	-
H3	217	248	308	368	-	-	-	-	-
H4	228	260	315	379	-	-	-	-	-
H5	256	283	320	375	-	-	-	-	-
H6	254	308	351	410	-	-	-	-	-
H7	235	258	287	314	-	-	-	-	-
H9	212	249	285	333	-	-	-	-	-
V1	225	252	308	369	-	-	-	-	-
V2	260	297	334	384	-	-	-	-	-
V3	270	304	355	405	-	-	-	-	-
V4	262	285	308	357	-	-	-	-	-
V5	215	249	322	358	-	-	-	-	-
V6	202	245	283	313	-	-	-	-	-
V7	245	275	307	353	-	-	-	-	-
V8	226	256	282	341	-	-	-	-	-
LK1	225	255	309	354	400	424	446	465	474
LK2	247	278	318	344	380	408	427	450	462
LK3	257	298	320	365	368	355*	340*	363	385
LK4	250	281	305	350	362	370	399	429	434
LK5	247	288	308	352	360	357	375	389	444
LK6	266	322	348	398	414	409	445	420*	400*
LH1	222	251	286	316	327	345	376	403	420
LH2	257	296	349	384	400	437	471	498	518
LH3	239	257	306	353	364	386	424	458	471
LH4	273	298	332	373	386	413	446	465	478
LH5	228	267	308	373	388	412	455	490	497
LH6	238	275	304	310	333	359	372	385	396
LH7	202	242	277	287	323	350	372	392	414
LH8	225	275	321	343	380	420	443	467	480
LV1	226	258	320	366	351	357	399	448	458
LV2	257	278	315	346	356	367	393	420	425
LV3	223	278	342	397	440	445	478	513	520
LV4	224	261	286	312	323	330	355	382	391
LV5	257	316	380	420	455	470	515	537	548
LV6	221	260	322	382	413	432	458	490	508
LV7	225	262	300	322	339	352	383	409	425
LV8	220	248	282	325	335	350	371	400	415

K = 3 hafta, standart yemle beslenme
H = 3 hafta, % 45 yağlı yem beslenme
V = 3 hafta, % 60 yağlı yem beslenme
LK = 8 hafta, standart yem beslenme
LH = 8 hafta, % 45 yağlı yem beslenme
LV = 8 hafta, % 60 yağlı yem beslenme

5. TARTIŞMA

Beslenme ve yaşam tarzındaki değişiklikler, obezite, diabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser türlerinin görülme sıklığında artışa ve erken ölüme neden olmaktadır (42). Yüksek oranda doymuş yağ içeren besinlerin kronik tüketiminin, insülin hormonu fonksiyonunda ilerleyici bir bozulmaya yol açtığı ve insülin direncini başlattığı düşünülmektedir (22), fakat diyete bağlı oluşan obeziteyi, insülin direnci ile ilişkilendiren mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Dokularda meydana gelen değişikliklerin insülin direncine mi yol açtığı, yoksa insülin direncine sekonder mi olduğu tam olarak açığa çıkarılamamıştır (2).

Obezite kalp, karaciğer, böbrek ve pankreas gibi birçok organın lipidle infiltre olmasına neden olmaktadır. Pankreas dokusunun lipidle infiltre olması (non-alkolik yağlı pankreas hastalığı) durumunda pankreas TG ve SYA içeriği artmaktadır. Pankreasta lipid birikimi normal pankreas fonksiyonlarını değiştirmektedir (85). Fraulob ve arkadaşları yağlı beslenme ile sıçan pankreas dokusunda interlobüler ve intralobüler alanlarda ektopik yağ birikimi olduğunu bildirmişlerdir ve adipoz dokunun salgıladığı leptin, TNF- α ve adiponektin gibi moleküllerle lipid metabolizması ve insülin direncini etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir (85). Çalışmamızda YB gruplarda interlobüler ve intralobüler alanlarda artmış adiposit varlığı ile beraber leptin seviyesinde de artış olduğu gözlemlendi. (Tablo 4, Tablo 13).

Histopatolojik incelemelerde, YYD ile beslenmenin sıçan pankreas dokusunda mikroveziküller ve yer yer şiddetli vakuolizasyon oluşturduğu gösterilmiştir (24, 85, 86). Bizim çalışmamızda da yüksek yağlı beslenme ile pankreas dokusunda vakuolizasyon olduğu ve beslenme süresi uzadıkça ve yağ oranı arttıkça, vakuol sayısında belirgin artış olduğu gözlemlendi (Tablo 2).

Pankreasta artan yağ dokusunda, lokal olarak sentezlenen sitokinlerin inflamatuvar olayları başlatarak organ disfonksiyonuna yol açtığı rapor edilmiştir. (85). Zhang ve arkadaşları, 2 haftada pankreasta akut inflamasyon geliştiğini, 10 haftada ise kronik inflamasyon bulguları gözlemlendiğini (86), Yan ve

arkadaşları ise 20 hafta yağlı beslenme sonrasında pankreas dokusunda inflamasyonun belirgin olmadığını, yalnız bazı interlobüler veya intralobüler alanlarda birkaç lenfosit infiltrasyonu görüldüğünü bildirmişlerdir (24). Çalışmamızda besindeki yağ oranı arttıkça inflamasyonun arttığı gözlemlendi, fakat 3 ve 8 hafta beslenme grupları arasında fark gözlenmedi (Tablo 2). Ayrıca yer yer pankreas parankimine penetre olarak yerleşmiş lenf nodüllerine rastlandı.

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda, yağlı beslenme ile Langerhans adacıklarında dejenerasyon ve fibrozis görüldüğü bildirilmiştir (24, 78, 86). Biz de YB gruplarda adacıklarda hafif dejenerasyon ve fibrozise rastladık.

Kemirgenlerde YYD ile beslenmenin İnsülin aktivitesinin temel iki hedefi olan yağ ve iskelet kası dokularında insülinle indüklenen glukoz uptake'ini bozduğu bildirilmiştir (1). Unger, 1995'te obeziteyle indüklenen DM'ta hedef organlardaki insülin direncinin yüksek SYA konsantrasyonlarından kaynaklandığını öne sürmüştür. Diyabetik hale gelen obez bireylerde SYA'lerinin artması sonucu artan YA-CoA'lar TG'lere esterifiye olmaktadır (6). Kasta TG birikimi, lipidle indüklenen kas insülin direncine etki eden mekanizmalardan biri olarak bildirilmiştir (21). Obezite ve tip 2 DM'ta iskelet kası liflerinin TG içeriğinin arttığı pek çok klinik çalışmada gösterilmiştir (87-89). Shortreed ve arkadaşları 2009'da yaptıkları çalışmada YYD ile farelerde bacak gastrocnemius kasında intramiyosellüler lipid seviyelerinde belirgin artış olduğunu göstermişlerdir. YYD ile gastrocnemius kasında kas lif alanlarında artış olmadığını, fakat soleus kasında lif alanlarının arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki sonuçların YYD'ye erken adaptasyon bulguları olduğunu öne sürmüşlerdir (90). Chun ve arkadaşları 2010'da yaptıkları deneysel çalışmada YYD'nin 4 haftada ağır insülin direnci oluşturduğunu göstermişler, kas dokusundaki insülin aktivitesi üzerinde diyetdeki yağ tipinin belirleyici olduğunu öne sürmüşlerdir (91). Malenfant ve arkadaşları obez kişilerden aldıkları bacak kas biyopsilerinde Oil Red O ile yapılan boyamada lipid damlacıklarını küçük inklüzyonlar şeklinde göstermişlerdir (88). Çalışmamızda kas liflerinde inklüzyonlar şeklinde görülen lipid damlacıklarının yağlı beslenme ile arttığı,

özellikle 8 hafta beslenme ile yağ oranı arttıkça inklüzyonlu lif sayısındaki artışın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0,050$) (Tablo 5). Ayrıca çalışmamızda kas liflerinde dejenerasyon olduğu ve dejenere liflerin yağlı beslenme ile artış gösterdiği gözlemlendi (Tablo 5). Kas dokusunda epimisyumda adiposit miktarının YB gruplarda birbirine benzer şekilde arttığı gözlemlendi.

Morrison yaptığı çalışmada kronik hiperleptineminin, leptin reseptörlerinin azalmasına ve böylece leptin sensitivitesinin azalmasına yol açarak YYD'nin kronik tüketiminin leptin direncine yol açtığını belirtmiştir (2). Diyetle indüklenen obezitede vücuttaki yağ miktarıyla doğru orantılı olarak dolaşımdaki leptin seviyeleri de artmaktadır. Daha önce yapılan birçok çalışmada, sıçanlarda YYD'nin leptin düzeylerini artırdığı rapor edilmiştir (24, 86, 92-94). Çalışmamızda da benzer şekilde, beslenmede yağ oranı arttıkça ve yağlı beslenme süresi uzadıkça leptin değerlerinde artış gözlemlendi (%45YB grup için $p<0,001$, %60YB grup için $p=0,050$) (Tablo 13). Ayrıca sıçan ağırlıklarının haftalık olarak yapılan tüm ölçümlerde anlamlı olarak arttığı ($p<0,001$) (Grafik 1- 2, Tablo 15) ve diğer YYD çalışmaları ile benzer olduğu gözlemlendi (95, 96).

Yağlı beslenmenin serumda biyokimyasal parametrelerde lipid profilleri açısından oluşturduğu değişiklikler incelendiğinde, sıçanlarda yapılan pek çok yüksek yağlı beslenme çalışması ile uyumlu şekilde (24, 86, 92-94), serumda TG, VLDL değerlerinde 8 hafta beslenme ile yükselme olduğunu gözledik (Tablo 14).

YYD ile beslenme sonucu insülin direncinin olduğu rapor edilen çalışmalara (92, 94) benzer şekilde, çalışmamızda hem 3 hafta hem de 8 hafta süreyle beslenme ile %45 ve %60 YB gruplarında serumda açlık glukoz değerlerinin ve insülin dirençlerinin (HOMA-IR) kontrol gruba göre arttığını gözledik (Her iki grup için $p<0,005$) (Tablo 13).

Surwit ve arkadaşları 1991'de yaptıkları çalışmada doymuş yağ içeren diyetle beslenen farelerin 1 ay sonra açlık hiperglisemisi, 5 ay sonra hiperinsülinemi geliştirdiklerini, hiperglisemi ve insülin sensitivitesinin farklı

genetik aktarımları olduğunu bildirmişlerdir. İnsülin sensitivitesinin vücut ağırlığı ile bağlantılı olmadığını, insülin sensitivitesinde bozulmanın hiperglisemiye yol açmadığını, diyabet gelişiminin başka genetik faktörlere bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir (97). Çalışmamızda Surwit ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumlu olarak, glukoz ve insülin direncinin aksine, bazal insülin değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Ayrıca 8 hafta beslenme ile 3 hafta beslenme arasında glukoz, insülin ve insülin direnci açısından fark olmadığı gözlemlendi. Yağlı beslenme süresinin 8 haftadan daha uzun süre devam etmesi durumunda bu parametrelerin nasıl etkileneceğinin değerlendirilmesinin yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Obezite (25, 74, 98) ve tip 2 DM'ta TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin plazma konsantrasyonlarının arttığı (25, 98), plazma TNF- α düzeylerindeki yükselmenin insülin direncine neden olabileceği, diyabetik kişilerde plazma TNF- α düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (68). Çalışmamızda YB gruplarda TNF- α değerlerinin kontrol gruplara göre daha yüksek olduğu, fakat gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Viseral adipoz dokudaki makrofajların, TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışına, antiinflamatuvar etkili adipokin olan adiponektinin ise azalmasına yol açtığı rapor edilmiştir (99). Çalışmamızda yağlı beslenme ile serum IL-6 düzeylerinin arttığı, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Suzuki ve arkadaşları yaptıkları in vivo ve in vitro deneylerde, IL-6'nın direk pankreas β -hücrelerine etki ederek glukozla stimüle olan insulin sekresyonunu artırdığını bildirmişlerdir (100). Chentouf ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada obez Zucker sıçanlarda prediyabetik dönemde pankreatik adacıklarda inflamatuvar bir cevap başladığını, IL-1b, IL-6 ve TNF- α ekspresyonlarının adacıkların içinde arttığını göstermişlerdir (98). Çalışmamızda 3 hafta beslenen %45YB grupta ve %60YB grupta adacıklarda IL-6 immün boyanma yoğunluğunun arttığı (sırasıyla $p=0,020$ ve $p=0,020$) (Tablo 11), AdipoR1 immün boyanma yoğunluğunun ise uzun sürede %60YB grupta azaldığı gözlemlendi ($p=0,005$) Biz özellikle uzun süre ve çok yüksek yağlı beslenmenin, kas adiponektin reseptörünü etkilediğini gözledik.

YYD'nin pankreas üzerindeki olumsuz etkilerinden biri de fibrozise yol açmasıdır (24, 86). Zhang ve arkadaşları YYD ile beslenen sıçan pankreasında asinar hücrelerin TGF- β 1 ile immün boyanma gösterdiğini bildirmişlerdir (86). Hiroyuki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada transgenik obez ve diyabetik sıçanlarda dejenere Langerhans adacıklarında TGF- β 1 ile immün boyanma olduğunu göstermişlerdir. Diyabetik olmayan sıçanlarda ise TGF- β 1 ile immün boyanma çok hafif olmuş ve sadece adacıklarda birkaç hücrede görülmüştür (78). Benzer şekilde çalışmamızda Langerhans adacıklarında TGF- β 1 ile immün boyanma varlığı gözlemlendi, fakat gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Pankreatik stellat hücreler TGF- β 'ya yanıt olarak ekstrasellüler matriks proteinleri üretmekte ve bu sitokin pankreatik fibroziste önemli rolü bulunmaktadır. (76). YYD'nin pankreasta stellat hücreleri aktive ederek fibrogeneze yol açabileceği (YAN, 2006), Desminin stellat hücreler için güçlü bir gösterge olduğu bildirilmiştir (81, 86). Haber ve arkadaşları 1999'da yaptıkları çalışmada sıçan pankreasında fibrotik alanlarda desmin için yoğun boyanma gösteren stellat hücreler gözlemişlerdir (81). Zhang ve arkadaşları 2008'de yaptıkları çalışmada YYD ile sıçan pankreasında interasinar bölgelerde yoğun şekilde desmin pozitif hücreler gözlemişler ve YYD'nin pankreas stellat hücrelerinde proliferasyona yol açtığını öne sürmüşlerdir (86). Çalışmamızda farklı olarak YYD ile belirgin bir fibrozis ve desmin ile immün boyanma gözlenmedi. Bunun yanı sıra Langerhans adacıklarında TGF- β ile immün boyanma gözlemlendi. Yağlı beslenme ile eksprese olan TGF- β 'nın stellat hücreleri 3 ve 8 haftada henüz aktive etmediği, bu nedenle desmin pozitif immün boyanma gözlenmediği düşünüldü.

Obezitede oluşan insülin direnci ile ilgili olarak bugün kabul edilen görüş, obezitede artan insülin ihtiyacının genetik predispozisyonu olan bireyler tarafından karşılanamaması nedeniyle insülin direnci oluştuğu ve gelişen β -hücresi disfonksiyonuna bağlı olarak DM'un ortaya çıktığı yönündedir (101). Tip 2 DM'ta görülen kronik hiperglisemi, β -hücre fonksiyonunu ve insülin

sensitivitesini bozmakta ve bu durum glukotoksisite olarak adlandırılmaktadır (102).

Obezitede görülen artmış SYA düzeyleri insülin direnci gelişimine katkıda bulunmaktadır (3, 4, 103). Dolaşımda artan SYA düzeyleri bazal insülin sekresyonunda artış ve glukozla stimüle olan insülin sekresyonunda (GSIS) bozulmaya yol açmaktadır (85). Lipotoksisite terimi, artmış SYA seviyelerinin β -hücre disfonksiyonuna katkıda bulunarak insülin direncine yol açmasını ifade etmektedir (104). SYA'lerin β -hücresi üzerindeki etkileri; SYA'lerinin türüne (108), maruziyet süresine ve hipergliseminin de eşlik edip etmemesine göre belirlenmektedir (104,105).

Holness ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, uzun zincirli ω -3 YA eklenmesinin, yüksek oranda doymuş yağla beslenmeye bağlı gelişen insülin direncini önlediğini, in vivo olarak GSIS'nun artmasına engel olduğunu göstermişlerdir. Aynı etki, in vitro olarak da gözlenmiştir ve adacıklarda YA'lerinin direk etkisi olduğunu düşündürmüştür (106).

Maedler ve arkadaşları insan pankreas adacık hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmada, doymuş YA'leri veya yüksek konsantrasyonda glukozla maruz kaldığında 4 gün sonra β -hücrelerinde DNA fragmantasyonunun arttığını ve β -hücre proliferasyonunun azaldığını göstermişlerdir. Aksine tekli doymamış YA'leri bu zararlı etkileri göstermemiş, hatta koruyucu etki göstermiştir (107). Obezitede görülen β -hücresindeki fonksiyon bozukluğuna, pankreasta aşırı yağ birikiminin neden olduğu, lipotoksisite yoluyla β hücresinde apoptoza yol açtığı, postprandial hipergliseminin glukotoksisite yoluyla bu harabiyete katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (108).

Glukolipotoksisite terimi, tek başına ne glukozun ne de SYA'lerinin klinik olarak β -hücre toksisitesi oluşturamayacağı düşüncesiyle ortaya atılmıştır. Artmış glukoz seviyeleri normal veya prediyabetik kişilerde pankreas adacıklarına toksik etki göstermemekte, β -hücresi bu duruma gen ekspresyonlarında değişikliklerle adapte olabilmektedir. Tek başına yüksek SYA düzeylerinin toksik olmadığı, çünkü düşük glukoz düzeylerinde SYA'lerinin

β -hücresinde okside olarak detoksifiye oldukları bildirilmiştir (109). Uzun süre yüksek konsantrasyonlarda glukoz ve SYA'lerine birlikte maruz kalmak glukolipotoksisite yoluyla, GSIS'nun bozulmasına ve β -hücresinde apoptotik hücre ölümüne yol açmaktadır (104). Prentki ve Nolan çok yüksek düzeylerde olmayan SYA'lerinin, hiperglisemi olmaması durumunda, lipotoksisite değil lipoadaptasyon sağladığını, ancak adacıklarda YA oksidasyon defekti gibi bozukluklar olması durumunda SYA'lerinin normal glukoz seviyelerinde lipotoksik olabileceğini öne sürmüşlerdir. Kazanılmış YA oksidasyon defektinin ise santral adipozite ile gelişen adiponektin eksikliği ile oluşan hiperglisemi sonucu oluşabileceğini öne sürmüşlerdir (101). Çalışmamızda YB gruplarda glukoz düzeylerinin hem 3 hafta hem de 8 haftada yüksek olduğu, lipid parametrelerinin ise 8 haftada arttığı gözlemlendi. TG, VLDL ile leptin düzeylerinin YB gruplarda uzun sürede artış göstermesi ile, kısa sürede glukoz artışıyla oluşan glukotoksisite ile uzun sürede lipid parametrelerinde de artışla oluşan glukolipotoksisitenin etkilerinin, yağlı beslenme ve yüksek yağlı beslenme gruplarında farklı olduğu gözlemlendi. Özellikle uzun süre yüksek yağlı beslenmenin, AdipoR1'de azalmaya ve insulin direncine yol açtığını düşünmekteyiz.

Tip 2 DM teşhisinden sonra tedaviye rağmen, yıllar içinde β -hücre fonksiyonu azalmaktadır (3, 4, 103). Obez tip 2 DM olan kişilerde, β -hücre kompenzasyonu sağlanamayarak GSIS bozulmakta, bu da çoğunlukla β -hücre sayısında azalma sonucu olmaktadır. β -hücre fonksiyonu ile β -hücre yetmezliği ve DM arasındaki ilişkide, toplam sayı yerine fonksiyonel β -hücre sayısının önemi vurgulanmaktadır (110). β hücre lipotoksisitesine, duktal ve periduktal hücrelerden endokrin hücre rejenerasyonunun eşlik ettiği fakat bu yeni hücrelerin insülin salgılayamadığı öne sürülmüştür (1). Hull ve arkadaşları, yüksek yağlı beslenmenin adacık β -hücre sayısını artırırken (hiperplazi), hipertrofiye yol açmadığını deneysel olarak göstermişlerdir. Beslenmede yağ oranı arttıkça farelerin ağırlık artışı daha fazla olmuş, β -hücre alanının oranı hiperplazi ile artarak, ağırlık artışı ile pozitif korelasyon göstermiştir. Aksine, intraperitoneal glukoz uygulamasıyla insülin sekresyonu, diyetteki yağla birlikte artmamış, vücut ağırlığı ile korelasyon göstermemiştir. İnsülin salınımı / β -hücre

alanı oranına bakıldığında, diyetle yağ arttıkça bu oranın azaldığı gözlenmiştir (111). Peyot ve arkadaşları 2010'da yaptıkları çalışmada 8 hafta süreyle YYD ile beslenerek ağırlıkları artan farelerde β -hücre sayısının 2 kat arttığını, bu diyetle ağırlıkları artmayan farelerde ise β -hücre sayısının değişmediğini göstermişlerdir. Adacık başına düşen insülin miktarı ise tüm farelerde aynı olmuştur. Adacıktaki insülin içeriği adacıktaki protein içeriğine oranlandığında kontrol gruba göre ağırlığı artmayan farelerde %20, ağırlığı artan farelerde %24 azalmıştır (111). YYD ile beslenme sonucu pankreas Langerhans adacıklarının alanlarının arttığı pek çok çalışmada gösterilmiştir (85, 95, 96, 113). Çalışmamızda yağlı beslenme süresi uzadıkça ve besinde yağ oranı arttıkça, adacık alan ortalamaları artarken (adacık alan için %45YB $p=0,059$ ve %60YB $p=0,008$; insülin için $p>0,005$), serum insülin değerlerinde anlamlı artış gözlenmedi (Tablo 1, Tablo 13). Bu bulgu, Peyot ve arkadaşlarının yanı sıra Hull ve arkadaşlarının bulgularıyla paraleldi.

Fraulob ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yağlı beslenme ile adacık alan artışı ile birlikte α ve β hücre immün boyanma yoğunluklarında artış olduğunu bildirmişlerdir (85). Çalışmamızda benzer şekilde, YB gruplarda adacık alanlarında artış ile birlikte adacıklarda insülin immün boyanma yoğunluğunda artış gözlemlendi. İnsülin ile immün boyanma yoğunluğu YB gruplarda kontrol gruplara göre artmıştı. (3 hafta için $p<0,001$ ve 8 hafta için $p<0,001$). Sekiz haftada 3 hafta beslenmeye göre %45YB grupta boyanma yoğunluğu azalırken, %60YB grupta boyanmanın artmaya devam ettiği gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,167$) (Tablo 9).

Adiponektin, iskelet kası ve karaciğer düzeyinde yağ ve glukoz metabolizmasını düzenleyen (17), anti-diyabetik, anti-inflamatuar, anti-aterosklerotik etkilere aracılık eden bir protein hormondur (18). Genetik faktörlerle ve obezite gibi çevresel faktörlerle oluşan hipoadiponektinemi, insülin direncinde, tip 2 DM'ta ve metabolik sendromda önemli rol oynamaktadır. İnsülin direncinde, hem serum adiponektin düzeyleri hem de adiponektin reseptörleri azalmakta ve bu durum kısır döngü olarak adlandırılmaktadır (19). İskelet kası adiponektin içeriği ile diyetle bağlı insülin

direnci arasındaki ilişki, ilk kez Yang ve arkadaşlarının 2006'da yaptıkları çalışmada ortaya konmuştur. Bu çalışmada yüksek yağlı beslenme ile sıçanlarda hiperlipidemi ve insülin direnci gelişirken, serum adiponektin düzeylerinin değişmediği, kas dokusu adiponektin içeriğinin ise azaldığı gösterilmiştir (22). AdipoR1 ve AdipoR2, adiponektinin antidiyabetik etkilerine aracılık eden reseptörlerdir ve obeziteye bağlı insülin direncinde azalmaktadırlar (114). AdipoR1 temel olarak iskelet kasında eksprese olmaktadır (19). Tip 2 DM için aile hikayesi olan kişilerde iskelet kasında her iki adiponektin reseptör ekspresyonunun da azaldığı ve bu ekspresyonun insülin sensitivitesi ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (115). Farias ve arkadaşları 2012'de yaptıkları çalışmada fare iskelet kasında AdipoR1 düzeyinin yağlı diyetle beslenme sonucu azaldığını, egzersizle arttığını göstermişlerdir (116). Staiger ve arkadaşları yaptıkları çalışmada pankreasta insülin sekresyonu ile kas hücresinde AdipoR1 ekspresyonunu birlikte etkileyen bir metabolit olabileceği düşüncesiyle glukoz seviyeleri ile AdipoR1 ekspresyonlarını birlikte incelemişlerdir, fakat bu iki parametre arasında bir bağlantı olmadığı sonucuna varmışlardır (117). Çalışmamızda, kısa ve uzun süre beslenen YB gruplarda serum glukoz değerlerinin ve insülin dirençlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu, TG, VLDL ile leptin düzeylerinin ise uzun sürede arttığı gözlemlendi. AdipoR1 immün boyanma yoğunluğunun ise yalnızca uzun süre çok yüksek yağlı beslenen (%60YB) grupta azaldığı gözlemlendi ($p=0,005$). Özellikle yüksek YB gruplarda glukoz ve insülin direncindeki artışa, uzun sürede lipid parametrelerindeki artışın da eklenmesinin, AdipoR1'in azalmasına neden olarak kısır döngüyü başlatabileceğini düşünmekteyiz.

Hipotalamus, enerji homeostazında periferik sinyallerle birlikte çalışan bir köşetaşı olmakla birlikte (118), santral glukoz homeostazı için en önemli bölgedir, burada çok sayıda hormon ve nöropeptid birlikte etki göstererek karaciğer ve iskelet kası gibi periferik dokulara giden otonom uyarıları üretirler. Hipotalamusta oluşan komplike metabolik sinyallerin entegrasyonunu sağlayan moleküller henüz belirsizdir (54). OXA ve OXB, beyinde pek çok bölgeye projeksiyonlar gönderen LHA'daki nöronlar tarafından üretilmektedirler (119). LHA'daki orexin nöronlarının insülin aracılıklı santral glukoz homeostazında

önemli rolü olduğu düşünölmekle birlikte (54), orexinin glukoz homeostazı için santral ve periferik hormonal aktivitelerin koordinasyonunda asıl düzenleyici olması olasılığı gündeme gelmiştir (10) Skrzypski ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, OXA'nın glukoz uptake'ini, lipid depolanmasını ve adiponektin sekresyonunu stimüle ettiklerini göstermişlerdir (120). Bu nedenle çalışmamızda pankreasta OXA ve OXR ile birlikte kas dokusunda AdipoR1 ekspresyonunu değerlendirdik.

Çeşitli dokulardaki orexin reseptörlerinin metabolik aktivitenin ve enerji dengesinin entegrasyonunda rol aldığı gösterilmiştir (118). Prepro-orexin, OX1R ve OX2R mRNA'ları sıçanların pankreas, karaciğer, yağ dokusu ve kas dokularında gösterilmiştir (121). Pankreasta Langerhans adacıklarında OXA ve OX1R varlığı immünohistokimyasal olarak pek çok çalışmada gösterilmiştir (14, 15, 122, 123). İmmünohistokimyasal olarak Kirchgessner ve Liu 1999'da sıçan pankreas β hücrelerinde OXA ve OX1R (122), Nakabayashi ve arkadaşları ise 2003'te insan pankreas β hücrelerinde insülinle kolokalize şekilde OXA varlığını göstermişlerdir (123). Ouedraogo ve arkadaşları 2003'te pankreasta hem glukagon hem de insülin içeren hücrelerin, hem OXA hem de OXA reseptörleri içerdiğini bildirmişlerdir (14), Adeghate ve arkadaşları ise pankreasta endokrin hücrelerde ve sinirlerde immünohistokimyasal olarak OX1R varlığını göstermişlerdir (15). Orexinin plazma düzeyleri çok düşük olmasına karşın (121), enerji dengesi ve glukoz homeostazını düzenleyici periferik etkileri bulunmaktadır (10). Çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma, orexinlerin direk pankreas üzerindeki aktiviteleri ile insülin sekresyonunu etkilediklerini göstermiştir (11, 14, 15). İzole edilmiş adacık hücrelerinde ve açlık halindeki sıçanlarda OXA uygulanması glukagon salınımını artırırken, insülin salınımını azaltmıştır (14). Pankreasta OX1R'nin insülin ve glukagonla kolokalize olduğu, diyabet başlangıcından sonra adacıklarda OX1R pozitif hücre sayısının arttığı gösterilmiştir ve OX-OX1R yolağının STZ ile indüklenen deneysel DM'ta rolü olduğu öne sürölmüştür (15).

Funato ve arkadaşları yaptıkları çalışmada orexinin YYD ile indüklenen obezite, insülin direnci ve hiperlipidemiye karşı direnç gelişmesine yol açtığını,

orexin eksikliğinde obezite geliştiğini öne sürmüşlerdir (8). Tsuneki ve arkadaşları 2008'de yaptıkları çalışmada ilerleyen yaşlarda gelişen glukoz intoleransı ve insülin direncinin nedeninin orexin eksikliği olduğunu öne sürmüşlerdir. Yüksek yağlı beslenen orexin knockout farelerde bu değişiklikler daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır ve belirgin obezite geliştirmişlerdir (7). Çalışmamızda %60YB grupta kısa sürede serum insülin direnci artışıyla birlikte, pankreasta OXA ve OX1R'de azalma olurken, kasta AdipoR1 immün boyanmasında uzun sürede azalma oldu. %45YB grupta ise kısa sürede insülin direnciyle birlikte pankreasta insülin, OXA ve OX1R immün boyanma yoğunlukları da artış gösterirken, AdipoR1 boyanmasında değişiklik olmadı. %45YB grupta kısa sürede pankreasta OXA ve OX1R artışı ile β -hücresinde glukotoksisiteye karşı bir adaptasyon gelişimi olabileceğini düşündük. %45YB grupta uzun sürede de AdipoR1 boyanma yoğunluğu değişmedi. Bu bulgu, %45 yağlı beslenmenin 8 haftada β -hücresindeki bozulmaya karşın, kasta insülin direncine karşı konmasına yardımcı olduğunu düşündürdü.

Venner ve arkadaşları 2011'de yaptıkları çalışmada orexin nöronlarının glukozu cevabının intrasellüler enerji seviyelerinden etkilendiğini bildirmişlerdir. Bu nöronların elektriksel aktivitesi intrasellüler enerji seviyesi (ör. sitozolik laktat, piruvat, ATP) düşük olduğunda glukoz ile daha güçlü şekilde inhibe edilmektedir, yüksek enerji seviyeleri ise orexin nöronlarının glukozu cevabını azaltmaktadır (124). Adam ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, obez ve morbid obez kişilerde normal kişilere göre anlamlı olarak OXA seviyelerini düşük, leptin seviyelerini ise yüksek bulmuşlardır. Obez kişilerde plazma OXA seviyelerinin düşük olması, orexinin insan enerji metabolizmasında rolü olduğuna ve burada sadece santral olarak değil, periferik olarak da etkili olduğuna işaret etmiştir (125). Benzer şekilde çalışmamızda 8 hafta YB gruplarının leptin değerlerinin yüksek olduğu gözlemlendi (%45YB için $p=0,020$ ve %60YB için $p=0,029$). Pankreas adacıklarında OXA ile immün boyanma yoğunluğunun ise 8 hafta YB gruplarda hem kontrol gruptan ($p<0,001$), hem de 3 hafta YB gruplardan anlamlı olarak daha az olduğu (%45YB için $p=0,036$ ve %60YB için $p<0,001$) gözlemlendi. Yağlı beslenme ile süre uzadıkça leptin değerlerinin arttığı, OXA ile immün boyanma yoğunluğunun ise azaldığı gözlemlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda YYD'nin pankreas ve kas dokularında yapısal değişikliklere, serumda leptin artışı ve insülin direncine yol açarak, sistemik ve doku düzeyinde değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Yüksek yağlı besin tüketiminde pankreas OXA ve OX1R ile kas adipoR1 immün boyanma yoğunluklarındaki farklılıkların besindeki yağ oranı kadar, yağın cinsi ve tüketim süresi ile de ilgili olduğu gözlenmiştir. Yüksek yağlı beslenen grupta (%45YB) OXA, OX1R ve insülin immün boyanma yoğunlukları artarken, AdipoR1 boyanma yoğunluğu değişmemiştir. Bu bulgu, artan insülin direncinin öncelikle β -hücreleri tarafından kompanse edilmeye çalışıldığına ve kasta değişikliklerin daha sonra oluştuğuna işaret etmektedir. YYD ile Langerhans adacıklarının alanları artması da göz önüne alındığında, her iki bulgu da erken dönemde YYD'ye kompanseasyon veya adaptasyon bulgusu olarak değerlendirilebilir. Yağlı beslenme süresi uzadıkça OXA boyanma yoğunluğunun azalması, bu kompanseasyonun yerini dekompanseasyona bıraktığını düşündürülebilir. Çalışmamızda çok yüksek yağlı beslenen grupta (%60YB) kısa sürede OXA ve OX1R, uzun sürede AdipoR1 immün boyanma yoğunluklarının azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgu, beslenmede yağ oranı arttıkça kısa sürede β -hücrelerinde dekompanseasyon geliştiğini ve kasta da insülin direnci ortaya çıktığını düşündürmektedir. Besinde yağ oranı arttıkça insülin direnci daha hızlı ortaya çıkmakta, yağlı beslenme süresi uzadıkça β -hücre kompanseasyonu bozulmaktadır.

Yüksek yağlı besinle AdipoR1 azalması gözlenmezken, çok yüksek yağlı besinle uzun sürede gerçekleşmiştir. β -hücre fonksiyonuna benzer şekilde, AdipoR1 miktarı da beslenmedeki yağ çeşidinden etkilenmektedir. Daha uzun süreli ve farklı yağ çeşitleri içeren besinlerle yapılacak çalışmalarla, OXA ve adiponektin ilişkisinin incelenmesinin, obezitede insülin direnci ve DM'a yol açan mekanizmaların açığa çıkarılmasında yardımcı olacağı düşüncesindeyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. YYD ile beslenmenin 3 haftada sistemik değişikliklere yol açtığı gözlenmiştir. Açlık serum glukozu ve insülin direncinde (HOMA-IR) artış 3 haftada gözlenirken, serum leptin değerlerinde artış 8 haftada oluşmuştur.
2. YYD ile sıçan pankreas dokusunda Langerhans adacıklarının alanları artmıştır. Adacık alanlarındaki artışın YYD'ye adaptasyon bulgusu olduğu düşünülmektedir.
3. YYD ile sıçan pankreas dokusunda vakuolizasyon, inflamasyon, pankreas dokusuna penetre şekilde LN varlığı, Langerhans adacıklarında dejenerasyon, inter/ intralobüler adiposit birikimi ve hemoraji gözlenmiştir.
4. YYD ile sıçan iskelet kası dokusunda dejenere lifler, inklüzyonlu lifler, epimisyumda adiposit birikimi olduğu gözlenmiştir. Kas dokusunda lipid birikiminin insülin direnci gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.
5. Pankreas Langerhans adacıklarında OXA ile immün boyanma yoğunluğunda 3 hafta beslenme sonucu gruplar arasında anlamlı olarak farklı olması nedeniyle, pankreastan salgılanan OXA'nın insülin direnci gelişiminin erken döneminde etkili olduğu düşünülmektedir.
6. Üç hafta beslenme ile OXA ve OX1R immün boyanma yoğunlukları %45YB grupta artarken, %60YB grupta azalmıştır. OXA ve OX1R ekspresyonları açısından, kısa sürede yüksek yağlı beslenmenin β - hücrelerinde kompanzasyon sağladığı, çok yüksek yağlı beslenmenin ise kompanzasyonun sağlanamamasına yol açtığı düşünülebilir. Uzun süre çok yüksek yağlı beslenmenin β -hücrelerinde dekompanzasyon geliştirdiği öne sürülebilir.
7. Çok yüksek yağlı uzun süre beslenmede AdipoR1 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. YYD ile daha uzun süreli çalışmalar yapılması, serum adiponektin değerlerinin ve viseral yağ miktarının ölçülmesi, yağ dokusunun insülin direncine katkısını göstermesi açısından anlamlıdır.

8. YYD ile insülin direnci ilişkisinin açığa çıkarılması açısından daha uzun sürelerde ve farklı oranlarda yağ içeren besinlerle yeni çalışmalar yapılması yararlı olabilir.
9. Orexinin santral ve periferik etkileri olması nedeniyle hipotalamusta orexin etkileri göz önünde tutulmak kaydıyla, insülin direnci başlangıcında orexinin insülin sensitize edici etkisinden yararlanılarak yeni tedavi yöntemleri geliştirilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. MANCO, M., CALVANI, M., MINGRONE, G. (2004). Effects of Dietary Fatty acids on Insulin Sensitivity and Secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 6: 402–413.
2. MORRISON, C. D., HUYPENS, P., STEWART, L. K., GETTYS, T. W. (2009). Implications of Crosstalk Between Leptin and Insulin Signaling During The Development of Diet-Induced Obesity. *Biochim Biophys Acta*. 1792 (5): 409–416.
3. BURTIS, C. A., ASHWOOD, E. R. (2005). Karbonhidratlar. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 427-461.
4. CHAMPE, P. C., HARVEY, R. A., R. FERRIER, D. (2007). Metabolizmanın Düzenlenmesi. *Biyokimya, Lippincott's Illustrated Reviews*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. p.: 319-369.
5. RANDLE, P. J., GARLAND, P. B., HALES, C. N., NEWSHOLME, E. A. (1963). The Glucose Fatty Acid Cycle, Its Role in Insulin Sensitivity and The Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus. *The Lancet*. 816536: 785-789.
6. UNGER, R. H. (1995). Perspectives in Diabetes, Lipotoxicity in the Pathogenesis of Obesity-Dependent NIDDM, Genetic and Clinical Implications. *Diabetes*. 44: 863-870.
7. TSUNEKI, H., MURATA, S., ANZAWA, Y., SOEDA, Y., TOKAI, E., WADA T., KIMURA I., YANAGISAWA M., SAKURAI T., SASAOKA T. (2008). Age-Related Insulin Resistance in Hypothalamus and Peripheral Tissues of Orexin Knockout Mice. *Diabetologia*. 51: 657-667.
8. FUNATO, H., TSAI, A. L., WILLIE, J. T., KISANUKI, Y., WILLIAMS, S. C., SAKURAI, T., YANAGISAWA, M. (2009). Enhanced Orexin Receptor-2 Signaling Prevents Diet-Induced Obesity and Improves Leptin Sensitivity, *Cell Metabolism*. 9 (1): 64–76.
9. KARNANI, M. M., APERGIS-SCHOUTE, J., ADAMANTIDIS, A., JENSEN, L. T., DE LECEA, L., FUGGER L., BURDAKOV, D. (2011). Activation of Central Orexin/Hypocretin Neurons by Dietary Amino Acids. *Neuron*. 72: 616–629.

10. HEINONEN, M. V., PURHONEN, A. K., MAKELA, K. A., HERZIG, K. H. (2008). Functions of Orexins in Peripheral Tissues. *Acta Physiologica*. 192: 471–485.
11. DALLAGLIO, C., PEDINI, V., SCOCCO, P., BOITI, C., CECCARELLI, P. (2010). Immunohistochemical Evidence of Orexin-A in the Pancreatic Beta Cells of Domestic Animals. *Research in Veterinary Science*. 89: 147–149.
12. NOWAK, K. W., MACKOWIAK, P., SWITONSKA, M. M., FABIS, M., MALENDOWICZ, L. K. (2000). Acute Orexin Effects on Insulin Secretion in the Rat: In Vivo and In Vitro Studies. *Life Sciences*. 66 (5): 449-454.
13. EHRSTROM, M., GUSTAFSSON, T., FINN, A., KIRCHGESSNER, A., GRYBACK, P., JACOBSSON, H., HELLSTROM, P. M., NASLUND, E. (2005). Inhibitory Effect of Exogenous Orexin A on Gastric Emptying, Plasma Leptin, and the Distribution of Orexin and Orexin Receptors in the Gut and Pancreas in Man, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 90 (4): 2370–2377.
14. OUEDRAOGO, R., NASLUND, E., KIRCHGESSNER, A. L. (2003). Glucose Regulates the Release of Orexin-A From the Endocrine Pancreas. *Diabetes*. 52: 111–117.
15. ADEGHATE, E., FERNANDEZ-CABEZUDO, M., HAMEED, R., EL-HASASNA, H., WASILA, M., ABBAS, T., AL-RAMADI, B. (2010). Orexin-1 Receptor Co-Localizes with Pancreatic Hormones in Islet Cells and Modulates the Outcome of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus. *PLoS ONE* 5 (1) e8587: doi:10.1371.
16. SUN, X., ZEMEL, M. B. (2007). Leucine and Calcium Regulate Fat Metabolism and Energy Partitioning in Murine Adipocytes and Muscle Cells. *Lipids*. 42 (4): 297–305.
17. ZENG, Q., ISOBE, K., FU, L., OHKOSHI, N., OHMORI, H., TAKEKOSHI, K., KAWAKAMI, Y. (2007). Effects of Exercise on Adiponectin and Adiponectin Receptor Levels in Rats. *Life Sciences*. 80: 454–459.

18. VAN BERENDONCKS, A. M., CONRAADS, V. M., VAN LEUVEN, W., VAN HOOFF, V., DE WILDE, S., VRINTS, C., VICKY, J., HOYMANS, Y. (2010). Validation of an Adiponectin Immunoassay in Human Skeletal Muscle Biopsies. *Journal of Immunological Methods*. 362: 209–212.
19. KADOWAKI, T., YAMAUCHI, T. (2005). Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocrine Reviews*. 26 (3): 439–451.
20. BEYLOT, M., PINTEUR, C., PERONI, O. (2006). Expression of the Adiponectin Receptors AdipoR1 and AdipoR2 in Lean Rats and in Obese Zucker Rats. *Metabolism Clinical and Experimental*. 55: 396–401.
21. GOMEZ-RUIZ, A., MILAGRO, F. I., CAMPION, J., MARTINEZ, J. A., DE MIGUEL, C. (2011). High-Fat Diet Feeding Alters Metabolic Response to Fasting/Non Fasting Conditions. Effect on Caveolin Expression And Insulin Signalling. *Lipids in Health and Disease*. 10 (55). doi: 10.1186/1476-511X-10-55.
22. YANG, B., CHEN, L., QIAN, Y., TRIANTAFILLOU, J. A., MCNULTY, J. A., CARRICK, K., CLIFTON, L. G., HAN, B., GESKE, R., STRUM, J., BROWN, K. K., STIMPSON, S. A., PAHEL G. (2006). Changes Of Skeletal Muscle Adiponectin Content in Diet-Induced Insulin Resistant Rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 341 (1): 209-217.
23. HIRAI, S., TAKAHASHI, N., GOTO, T., LIN, S., UEMURA, T., YU, R., KAWADA, T. (2010). Functional Food Targeting the Regulation of Obesity-Induced Inflammatory Responses and Pathologies. *Mediators of Inflammation*. 2010: 367838. doi: 10.1155/2010/367838.
24. YAN, M., LI, Y., MENG, M., REN, H., KOU, Y. (2006). Long-Term High-Fat Diet Induces Pancreatic Injuries via Pancreatic Microcirculatory Disturbances and Oxidative Stress in Rats with Hyperlipidemia. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 347: 192–199.

25. DANDONA, P., ALJADA, A., BANDYOPADHYAY, A. (2004). Inflammation: The Link Between Insulin Resistance, Obesity and Diabetes. *TRENDS in Immunology*. 25 (1): 4-7.
26. STERNBERG, S. S. (1999). Pancreas. *Diagnostic Surgical Pathology*. Third Edition. Vol: 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p.: 1469-1471.
27. MOORE, K. L., PERSAUD, T. V. N. (2008). Sindirim Sistemi. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p.: 221-222
28. KIERSZENBAUM, A. L., (2006). Endokrin Sistem. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 520-522.
29. PANDOL, S. J. (2010). The Exocrine Pancreas, *Pancreatic Embryology and Development*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences, Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54135>. Erişim Tarihi: 14.01.2013
30. SANCAK, B., CUMHUR M. (2010). Pancreas. *Fonksiyonel Anatomi, Baş- Boyun ve İç Organlar*. Ankara: ODTU Yayıncılık. p.:236.
31. JUNQUEIRA, L. C. (2006). Sindirim Kanalına Bağlı Bezler. *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. Pp: 328-331.
32. KIERSZENBAUM, A. L. (2006). Sindirim Bezleri. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 453-454.
33. GARTNER, L. P., HIATT, J. L. (2009). Sindirim Sistemi III, *Renkli Histoloji Atlası*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi. p.: 303-307.
34. APTE, M. V., HABER, P. S., DARBY, S. J., RODGERS, S. C., MCCAUGHAN, G. W., KORSTEN, M. A., PİROLA, R. C., WILSON, J. S. (1999). Pancreatic Stellate Cells Are Activated By Proinflammatory Cytokines: İmplications For Pancreatic Fibrogenesis. *Gut*, 44: 534–541.
35. JUNQUEIRA, L. C. (2006). Adrenaller, Langerhans Adacıkları, Tiroid, Paratiroidler ve Pineal Bez. *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p.: 420-422.
36. MOORE, K. L., PERSAUD, T. V. N. (2008). Germ Tabakalarının Oluşumu Doku ve Organların Farklılaşmaya Başlaması. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p.: 65.

37. SADLER, T. W. (2005). Kas Sistemi. *Langman Medikal Embriyoloji*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 193.
38. KIERSZENBAUM, A. L. (2006). Kas Dokusu. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. , Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 177-198.
39. EROSCHENKO, V. P. (2008). Kas dokusu, *diFiore Histoloji Atlası*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.:110.
40. JUNQUEIRA, L. C. (2006). Kas dokusu. *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p.: 191-206.
41. GUYTON, A. C., HALL, J. E. (2007). İnsülin, Glukagon ve Diyabetes Mellitus. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. p.: 963-964.
42. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2010). Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper 91*. (Rome). ISSN: 0254-4725.
43. NELSON, D. L., COX, M. M. (2005). Lipitler. *Lehninger Biyokimyanın Temel İlkeleri*. Ankara: Palme Yayınları. p.: 363-386.
44. BURTIS, C. A., ASHWOOD, E. R. (2005). Lipitler. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara: Palme Yayıncılık. s.: 462- 493.
45. ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E. Y. (2006). Lipidler. *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 334-335.
46. WATT M. J., VAN DENDEREN B. J. W., CASTELLI L. A., BRUCE C. R., HOY A. J., KRAEGEN E. W., MACAULAY L., KEMP B. E. (2008). Adipose Triglyceride Lipase Regulation of Skeletal Muscle Lipid Metabolism and Insulin Responsiveness. *Molecular Endocrinology*. 22 (5): 1200–1212.
47. İŞILDAK, M., GÜVEN, G. S., GÜRLEK, A. (2004). Metabolik sendrom ve insülin direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 35 (2): 96-99.
48. ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E. Y. (2006). Hormonlar. *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık. p.: 527-532.
49. LEWIS, G. F., CARPENTIER, A., ADELI, K., GIACCA, A. (2002). Disordered Fat Storage and Mobilization in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*. 23 (2): 201–229.

50. KOVES, T. R., USSHER, J. R., NOLAND, R. C., SLENTZ, D., MOSEDALE, M., ILKAYEVA, O., BAIN, J., STEVENS, R., DYCK, J. R. B., NEWGARD, C. B., LOPASCHUK, G. D., MUOIO, D. M. (2008). Mitochondrial Overload and Incomplete Fatty Acid Oxidation Contribute to Skeletal Muscle Insulin Resistance. *Cell Metabolism*. 7: 45–56.
51. MATHER, K. (2009). Surrogate measures of insulin resistance: of rats, mice, and men, *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296: 398–399.
52. MATTHEWS, D. R., HOSKER, J. P., RUDENSKI, A. S., NAYLOR, B. A., TREACHER, D. F., TURNER, R. C. (1985). Homeostasis Model Assessment: Insulin Resistance and Beta-Cell Function From Fasting Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Man. *Diabetologia*. 28 (7): 412-420.
53. SAKURAI, T., AMEMIYA, A., ISHII, M., MATSUZAKI, I., CHEMELLI, R. M., TANAKA, H., WILLIAMS, S. C., RICHARDSON, J. A., KOZLOWSKI, G. P., WILSON, S., ARCH, J. R. S., BUCKINGHAM, R. E., HAYNES, A. C., CARR, S. A., ANNAN, R. S., MCNULTY, D. E., LIU, W., TERRETT, J. A., ELSHOUBAGY, N. A., BERGSMA, D. J., YANAGISAWA, M. (1998). Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell*. 92 :573–585.
54. TSUNEKI, H., WADA, T., SASAOKA, T. (2012). Role Of Orexin In The Central Regulation of Glucose and Energy Homeostasis. *Endocrine Journal*. 59 (5): 365-374.
55. CHEMELLI, R. M., WILLIE, J. T., SINTON, C. M., ELMQUIST, J. K., SCAMMELL, T., LEE, C., RICHARDSON, J. A., WILLIAMS, S. C., XIONG, Y., KISANUKI, Y., FITCH, T. E., NAKAZATO, M., HAMMER, R. E., SAPER, C. B., YANAGISAWA, M. (1999). Narcolepsy in Orexin Knockout Mice: Molecular Genetics of Sleep Regulation. *Cell*. 98: 437–451.
56. DUNMORE; S. J., BROWN; J. E. P. (2012). The Role of Adipokines in Beta-Cell Failure of Type 2 Diabetes. *Journal of Endocrinology*. 216 (1): 37–45.

57. NISHIDA, M., FUNAHASHI, T., SHIMOMURA, I. (2007). Pathophysiological Significance of Adiponectin. *Med Mol Morphol.* 40: 55-67.
58. MATSUZAWA, Y. (2005). Adiponectin: Identification, Physiology and Clinical Relevance in Metabolic and Vascular Disease. *Atherosclerosis Supplements.* 6: 7–14.
59. TSUKADA, T., FUSHIDA, S., HARADA, S., TERAJ, S., YAGI, Y., KINOSHITA, J., OYAMA, K., TAJIMA, H., FUJITA, H., NINOMIYA, I., FUJIMURA, T., OHTA, T. (2011). Adiponectin Receptor-1 Expression is Associated With Good Prognosis in Gastric Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.* 30-107. doi:10.1186/1756-9966-30-107.
60. KIM, M. J., MAACHI, M., DEBARD, C., LOIZON, E., CLEMENT, K., BRUCKERT, E., HAINQUE B., CAPEAU J., VIDAL H., BASTARD J. P. (2006). Increased Adiponectin Receptor-1 Expression in Adipose Tissue of Impaired Glucose-Tolerant Obese Subjects During Weight Loss. *European Journal of Endocrinology.* 155: 161–165.
61. JEONG Y., BONG J., PARK S., CHOI J., OH H. (2011). Expression of Leptin, Leptin Receptor, Adiponectin, and Adiponectin Receptor in Ductal Carcinoma In Situ and Invasive Breast Cancer. *J Breast Cancer.* 14 (2): 96-103.
62. HEINONEN, M. V. (2005). Apelin, Orexin-A and Leptin Plasma Levels in Morbid Obesity and Effect of Gastric Banding. *Regulatory Peptides.* 130: 7–13.
63. BLUHER, S. (2004). The Role of Leptin in Regulating Neuroendocrine Function in Humans. *J Nutr.* 134 (9): 2469S-2474S.
64. THALER, J. P., SCHWARTZ, M. W. (2010). Inflammation and Obesity Pathogenesis: The Hypothalamus Heats Up. *Endocrinology.* 151 (9) 4109–4115.
65. RUBIO-PEREZ, J. M., MORILLAS-RUIZ J. M. (2012). A Review: Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines. *The ScientificWorld Journal.* Article ID 756357. doi:10.1100/2012/756357.

66. MISHIMA, Y., KUYAMA, A., TADA, A., TAKAHASHI, K., ISHIOKA, T., KIBATA, M. (2001). Relationship Between Serum Tumor Necrosis Factor-A and Insulin Resistance in Obese Men With Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 52: 119–123.
67. WINKLER, G., SALAMON, F., HARMOS, G., SALAMON, D., SPEER, G., SZEKERES, O., HAJOS, P., KOVACS, M., SIMON, K., CSEH, K. (1998). Elevated Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha Concentrations and Bioactivity in Type 2 Diabetics and Patients with Android Type Obesity. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 42: 169–174.
68. PLOMGAARD, P., NIELSEN, A. R., FISCHER, C. P., MORTENSEN, O. H., BROHOLM, C., PENKOWA, M., KROGH-MADSEN, R., ERIKSTRUP, C., LINDEGAARD, B., PETERSEN, A. M. W., TAUDORF, S., PEDERSEN, B. K. (2007). Associations Between Insulin Resistance and TNF-A in Plasma, Skeletal Muscle and Adipose Tissue in Humans With and Without Type 2 Diabetes. *Diabetologia*. 50: 2562–2571.
69. LYON, C. J., LAW, R. E., HSUEH W. A. (2003). Minireview: Adiposity, Inflammation, and Atherogenesis. *Endocrinology*. 144 (6): 2195–2200.
70. MEIER, U., GRESSNER, A. M. (2004). Endocrine Regulation of Energy Metabolism: Review of Pathobiochemical and Clinical Chemical Aspects of Leptin, Ghrelin, Adiponectin, and Resistin. *Clinical Chemistry*. 50 (9) 1511–1525.
71. KERR, R. (2001). Interleukin 6 and Haemostasis, *British Journal of Haematology*. 115: 3-12.
72. WALDNER, M. J., FOERSCH, S., NEURATH, M. F. (2012). Interleukin-6 – A Key Regulator of Colorectal Cancer Development. *International Journal of Biological Sciences*. 8 (9): 1248-1253.
73. KRISTIANSEN O. P., MANDRUP-POULSEN T. (2005). Interleukin-6 and Diabetes The Good, the Bad, or the Indifferent?. *Diabetes*. 54 (2): 114–124.
74. KERN, P. A., RANGANATHAN, S., LI, C., WOOD, L., RANGANATHAN, G. (2001). Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor and Interleukin-6

Expression in Human Obesity and Insulin Resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 280: 745–751.

75. YESSOUFOU, A., MOUTAIROU, K., KHAN, N. A. (2011). A Model of Insulin Resistance in Mice, Born to Diabetic Pregnancy, Is Associated with Alterations of Transcription-Related Genes in Pancreas and Epididymal Adipose Tissue. *Journal of Obesity*. Article ID: 654967. doi:10.1155/2011/654967.
76. SHEK, F. W., BENYON, R. C., WALKER, F. M., MCCRUDDEN, P. R., PENDER, S. L., WILLIAMS, E. J., JOHNSON, P. A., JOHNSON, CD, BATEMAN, A. C., FINE, D. R., IREDALE, J. P. (2002). Expression of Transforming Growth Factor- β 1 by Pancreatic Stellate Cells and Its Implications for Matrix Secretion and Turnover in Chronic Pancreatitis. *Am J Pathol.* 160 (5): 1787-1798.
77. YAMANAKA, Y., FRIESS, H., BUCHLER, M., BEGER, H. G., GOLD, L. I., KORC, M. (1993). Synthesis and Expression of Transforming Growth Factor Beta-1, Beta-2, and Beta-3 in The Endocrine And Exocrine Pancreas. *Diabetes.* 42 (5): 746-56.
78. YOSHIKAWA, H., KIHARA, Y., TAGUCHI, M., YAMAGUCHI, T., NAKAMURA, H., OTSUKI, M. (2002). Role of TGF- B1 in the Development of Pancreatic Fibrosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 282: 549–558.
79. LEE, M. S., GU, D., FENG, L., CURRIDEN, S., ARNUSH, A. M., KRAHL, T., GURUSHANTHAIAH, D., WILSON, C., LOSKUTOFF, D. L., FOX, H., SARVETNICK, N. (1995). Accumulation of Extracellular Matrix and Developmental Dysregulation in the Pancreas by Transgenic Production of Transforming Growth Factor- β 1, *American Journal of Patholog,* 147 (1): 42-52.
80. OMARY, M. B., LUGEA, A., LOWE, A. W., PANDOL, S. J. (2007). The Pancreatic Stellate Cell: A Star On The Rise in Pancreatic Diseases. *J. Clin. Invest.* 117: 50–59.
81. HABER, P. S., KEOGH, G. W., APTE, M. V., MORAN, C. S., STEWART, N. L., CRAWFORD, D. H. G., PIROLA, R. C.,

- MCCAUGHAN, G. W., RAMM, G. A., WILSON, J.S. (1999). Activation of Pancreatic Stellate Cells in Human and Experimental Pancreatic Fibrosis. *Am J Pathol.* 155: 1087–1095.
82. JELODAR, G., MOHSEN, M. I, SHAHRAM, S. (2007). Effect Of Walnut Leaf, Coriander and Pomegranate on Blood Glucose and Histopathology of Pancreas of Alloxan Induced Diabetic Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 4 (3): 299–305.
83. XIA, X., LI, B., XING, S., RUAN, H. (2012). Emodin Promoted Pancreatic Claudin-5 and Occludin Expression in Experimental Acute Pancreatitis Rats. *World J Gastroenterol.* 18 (17): 2132-2139.
84. MORGAN, J. E. (1990). Normal Myogenic Cells From Newborn Mice Restore Normal Histology to Degenerating Muscles of the Mdx Mouse. *The Journal of Cell Biology.* 111 (6): 2437-2449.
85. FRAULOB, J. C., OGG-DIAMANTINO, R., FERNANDES-SANTOS, C., AGUILA, M. B., MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. (2010). A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. *J Clin Biochem Nutr.* 46 (3): 212–223.
86. ZHANG, X., CUI Y., LI F., LI F. (2008). Chronic High-Fat Diets Induce Oxide Injuries and Fibrogenesis of Pancreatic Cells in Rats. *Pancreas.* 37 (3): 31-38.
87. SIMONEAU J., COLBERG S. R., THEETE F. L., KELLEY D. E. (1995). Skeletal Muscle Glycolytic and Oxidative Enzyme Capacities are Determinants of Insulin Sensitivity and Muscle Composition in Obese Women. *FASEB J.* 9: 273-278.
88. MALENFANT, P., JOANISSE, D. R., THERIAULT, R., GOODPASTER, B. H., KELLEY, D. E., SIMONEAU, J-A. (2001). Fat Content in Individual Muscle Fibers of Lean and Obese Subjects. *International Journal of Obesity.* 25: 1316–1321.
89. HE, J., WATKINS, S., KELLEY, D. E. (2001). Skeletal Muscle Lipid Content and Oxidative Enzyme Activity in Relation to Muscle Fiber Type in Type 2 Diabetes and Obesity. *Diabetes.* 50: 817–823.

90. SHORTREED, K. E., KRAUSE, M. P., HUANG, J. H., DHANANI, D., MORADI, J., CEDDIA, R. B., HAWKE, T. J. (2009). Muscle-Specific Adaptations, Impaired Oxidative Capacity and Maintenance of Contractile Function Characterize Diet-Induced Obese Mouse Skeletal Muscle. *PLoS ONE*. 4 (10): e7293. doi:10.1371/journal.pone.0007293.
91. CHUN, M., LEE, Y. J., KIM, K., KIM, Y., PARK, S., LEE, K., KIM, J., PARK, Y. (2010). Differential Effects of High-carbohydrate and High-fat Diet Composition on Muscle Insulin Resistance in Rats. *J Korean Med Sci*. 25: 1053-1059.
92. AKERFELDT, M. C., LAYBUTT, D. R. (2011). Inhibition of Id1 Augments Insulin Secretion and Protects Against High-Fat Diet-Induced Glucose Intolerance. *Diabetes*. 60: 2506–2514.
93. LO, C., OBICI S., DONG, H. H., HAAS, M., LOU, D., KIM, D. H., LIU, M., DALESSIO, D., WOODS, S. C., TSO, P. (2011). Impaired Insulin Secretion and Enhanced Insulin Sensitivity in Cholecystokinin-Deficient Mice. *Diabetes*. 60: 2000–2007.
94. PARK, S., CHO, Y., KIM, H., HIGASHIMORI, T., DANTON, C. L., LEE, M., DEY, A., ROTHERMEL, B., KIM, Y., KALINOWSKI, A., RUSSELL, K. S., KIM, J. K. (2005). Unraveling the Temporal Pattern of Diet-Induced Insulin Resistance in Individual Organs and Cardiac Dysfunction in C57BL/6 Mice. *Diabetes*. 54: 3530–3540.
95. GILBERT, E. R., FU, Z., LIU, D. (2011). Development of a Nongenetic Mouse Model of Type 2 Diabetes, *Experimental Diabetes Research*. Volume 2011. Article ID 416254. doi:10.1155/2011/416254.
96. SAMPEY, B. P., VANHOOSE, A. M., WINFIELD, H. M., F.A. J., MUEHLBAUER, M. J., FUEGER, P. T., NEWGARD, C. B., MAKOWSKI, L. (2011). Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet *Obesity*. 19: 1109–1117.
97. SURWIT, R. S., SELDIN, M. F., KUHN, C. M., COCHRANE, C., FEINGLOS, M. N. (1991). Control of Expression of Insulin Resistance

and Hyperglycemia by Different Genetic Factors in Diabetic C57BL/6J Mice. *Diabetes*. 40: 82–87.

98. CHENTOUF, M., DUBOIS, G., JAHANNAUT, C., CASTEX, F., LAJOIX, A. D., GROSS, R., PERALDI-ROUX, S. (2011). Excessive Food Intake, Obesity and Inflammation Process in Zucker fa/fa Rat Pancreatic Islets. *PLoS ONE*. 6 (8) e22954: doi:10.1371.
99. NDISANG, J. F. (2010). Role of Heme Oxygenase in Inflammation, Insulin-Signalling, Diabetes and Obesity. *Mediators of Inflammation*. Volume 2010. Article ID 359732. doi:10.1155/2010/359732.
100. SUZUKI T., IMAI J., YAMADA T., ISHIGAKI Y., KANEKO K., UNO K., HASEGAWA Y., ISHIHARA H., OKA Y., KATAGIRI H. (2011). Interleukin-6 Enhances Glucose-Stimulated Insulin Secretion From Pancreatic β -Cells, *Diabetes*, 60: 537–547.
101. PRENTKI, M., NOLAN, C. J. (2006). Islet B Cell Failure In Type 2 Diabetes. *J. Clin. Invest.* 116: 1802–1812.
102. JONAS, J. C., BENSELLAM, M., DUPREZ, J., ELOUIL, H., GUIOT, Y., PASCAL, S. M. A. (2009). Glucose Regulation of Islet Stress Responses and B-Cell Failure in Type 2 Diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 11 (4): 65–81.
103. POITOUT, V., AMYOT, J., SEMACHE, M., ZARROUKI, B., HAGMAN, D., FONTES, G. (2010). Glucolipotoxicity of the Pancreatic Beta Cell. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1801: 289–298.
104. KIM, J. W., YOON, K. H. (2011). Glucolipotoxicity in Pancreatic β -Cells, *Diabetes Metab J.*, 35 (5): 444-450.
105. ZHOU, Y., GRILL, V. E. (1994). Long-Term Exposure of Rat Pancreatic Islets to Fatty Acids Inhibits Glucose induced Insulin Secretion and Biosynthesis through a Glucose Fatty Acid Cycle. *J. Clin. Invest.* 93: 870-876.
106. HOLNESS, M. J., GREENWOOD, G. K., SMITH N. D., SUGDEN M. C. (2003). Diabetogenic Impact of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids on Pancreatic Beta-Cell Function and the Regulation of Endogenous Glucose Production. *Endocrinology*. 144: 3958–3968.

- 107.** MAEDLER, K., OBERHOLZER, J.BUCHER, P., SPINAS, G. A., DONATH, M. Y. (2003). Monounsaturated Fatty Acids Prevent the Deleterious Effects of Palmitate and High Glucose on Human Pancreatic β -Cell Turnover and Function., *Diabetes*. 52: 726–733.
- 108.** KLUTH, O., MIRHASHEMI, F., SCHERNECK, S., KAISER, D., KLUGE, R., NESCHEN, S., JOOST, H. G., SCHURMANN, A. (2011). Dissociation of Lipotoxicity and Glucotoxicity in a Mouse Model of Obesity Associated Diabetes: Role of Forkhead Box O1 (FOXO1) in Glucose-Induced Beta Cell Failure. *Diabetologia*. 54 (3): 605-616.
- 109.** PRENTKI, M., JOLY, E., EL-ASSAAD, W., RODUIT, R. (2002). Malonyl-CoA Signaling, Lipid Partitioning, and Glucolipotoxicity Role in β -Cell Adaptation and Failure in the Etiology of Diabetes. *Diabetes*. 51 (3): 405–413.
- 110.** EL-ASSAAD, W., BUTEAU, J., PEYOT, M., NOLAN, C., RODUIT, R., HARDY, S., JOLY, E., DBAIBO, G., ROSENBERG, L., PRENTKI, M. (2003). Saturated Fatty Acids Synergize with Elevated Glucose to Cause Pancreatic β -Cell Death, *Endocrinology*, 144 (9): 4154–4163.
- 111.** HULL, R. L., KODAMA, K., UTZSCHNEIDER, K. M., CARR, D. B., PRIGEON, R. L., KAHN, S. E. (2005). Dietary-Fat-Induced Obesity in Mice Results in Beta Cell Hyperplasia, But Not Increased Insulin Release: Evidence for Specificity, of Impaired Beta Cell Adaptation. *Diabetologia*. 48: 1350–1358.
- 112.** PEYOT, M., PEPIN E., LAMONTAGNE J., LATOUR M. G., BADER ZARROUKI B., LUSSIER R., PINEDA M., JETTON T. L., MADIRAJU S. R. M., JOLY E, PRENTKI M. (2010). β -Cell Failure in Diet-Induced Obese Mice Stratified According to Body Weight Gain: Secretory Dysfunction and Altered Islet Lipid Metabolism Without Steatosis or Reduced β -Cell Mass. *Diabetes*. 59: 2178–2187.
- 113.** LURIAA, A., BETTAIEBB, A., XIB, Y., SHIEHA, G., LIUA, H., INOUEC, H., TSAIA, H., IMIGD, J. D., HAJB, F. G., HAMMOCK, B. D. (2011). Soluble Epoxide Hydrolase Deficiency Alters Pancreatic Islet Size and

Improves Glucose Homeostasis in a Model Of Insulin Resistance. *PNAS*. 108 (22): 9038–9043.

114. KADOWAKI, T., YAMAUCHI, T., KUBOTA, N., HARA, K., UEKI, K., TOBE, K. (2006). Adiponectin and Adiponectin Receptors in Insulin Resistance, Diabetes, and the Metabolic Syndrome. *J. Clin. Invest.* 116: 1784–1792.
115. CIVITARESE, A. E., JENKINSON, C. P., RICHARDSON, D., BAJAJ, M., CUSI, K., KASHYAP, S., BERRIA, R., BELFORT, R., DEFRONZO, R. A., MANDARINO, L. J., RAVUSSIN, E. (2004). Adiponectin Receptors Gene Expression and Insulin Sensitivity in Non-Diabetic Mexican Americans With or Without A Family History of Type 2 Diabetes. *Diabetologia*. 47: 816–820.
116. FARIAS, J. M., MAGGI, R. M., TROMM, C. B., SILVA, L. A., LUCIANO, T. F., MARQUES, S. O., LIRA, F. S., SOUZA, C.T., PINHO, R. A. (2012). Exercise Training Performed Simultaneously to a High-Fat Diet Reduces The Degree of Insulin Resistance and Improves AdipoR1-2/APPL1 Protein Levels in Mice, *Lipids in Health and Disease*. 11: 134-142.
117. STAIGER H., KALTENBACH S., STAIGER K., STEFAN N., FRITSCH E. A., GUIRGUIS A., PETERFI C., WEISSER M., MACHICAO F., STUMVOLL M., HARING H. (2004). Expression of Adiponectin Receptor mRNA in Human Skeletal Muscle Cells is Related to In Vivo Parameters of Glucose and Lipid Metabolism. *Diabetes*. 53: 2195–2201.
118. DIGBY, J. E., CHEN, J., TANG, J. Y., LEHNERT, H., MATTHEWS, R. N., RANDEVA, H. S. (2006). Orexin Receptor Expression in Human Adipose Tissue: Effects of Orexin-A and Orexin-B. *Journal of Endocrinology*. 191: 129–136.
119. PEYRON, C., TIGHE, D. K., POL, A. N., LECEA, L., HELLER, H. C., SUTCLIFFE, J. G. R, KILDUFF, T. S. (1998). Neurons Containing Hypocretin (Orexin) Project to Multiple Neuronal Systems. *The Journal of Neuroscience*. 18 (23) 9996–10015.

120. SKRZYPSKI, M., LE, T. T., KACZMAREK, P., PRUSZYNSKA-OSZMALEK, E., PIETRZAK, P., SZCZEPANKIEWICZ, D., KOLODZIEJSKI, P. A., SASSEK, M., ARAFAT, A., WIEDENMANN, B., NOWAK, K. W., STROWSKI, M. Z. (2011). Orexin A Stimulates Glucose Uptake, Lipid Accumulation and Adiponectin Secretion From 3T3-L1 Adipocytes and Isolated Primary Rat Adipocytes. *Diabetologia*. 54: 1841–1852.
121. JOHREN, O., NEIDERT, S. J., KUMMER, M., DENDORFER, A., DOMINIAK, P. (2001). Prepro-Orexin and Orexin Receptor mRNAs are Differentially Expressed in Peripheral Tissues of Male and Female Rats. *Endocrinology*. 142: 3324–3331.
122. KIRCHGESSNER, A. L., LIU, M. (1999). Orexin Synthesis and Response in the Gut, *Neuron*. 24: 941–951.
123. NAKABAYASHI, M., SUZUKI, T., TAKAHASHI, K., TOTSUNE, K., MURAMATSU, Y., KANEKO, C., DATE, F., TAKEYAMA, J., DARNEL, A. D., MORIYA, T., SASANO, H. (2003). Orexin-A Expression in Human Peripheral Tissues. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 205: 43-50.
124. VENNER, A., KARNANI, M. M., GONZALEZ, J. A., JENSEN, L. T., FUGGER, L., BURDAKOV, D. (2011). Orexin Neurons as Conditional Glucosensors: Paradoxical Regulation of Sugar Sensing by Intracellular Fuels. *J Physiol*. 589 (23): 5701–5708.
125. ADAM, J. A., MENHEERE, P. P. C. A., DIELEN, F. M. H., SOETERS, P. B., BUURMAN, W. A., GREVE, J. W. M. (2002). Decreased Plasma Orexin-A Levels in Obese Individuals. *International Journal of Obesity*. 26: 274–276.