

ATAKAN ÖZTÜRK	DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.	DOKTORA TEZİ	DİYARBAKIR-2022
---------------	------------------------------------	--------------	-----------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BATI DİYETİ İLE BESLENEN SIÇANLARDA PROBİYOTİKLERİN
İNFLAMATUAR VE ANTİ-İNFLAMATUAR ADİPOKİNLERE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Atakan ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

İKİNCİ DANIŞMAN: Prof.Dr. Cemil TÜMER

DİYARBAKIR 2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BATI DİYETİ İLE BESLENEN SIÇANLARDA PROBİYOTİKLERİN
İNFLAMATUAR VE ANTİ-İNFLAMATUAR ADİPOKİNLERE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Atakan ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

İKİNCİ DANIŞMAN: Prof.Dr. Cemil TÜMER

DİYARBAKIR 2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Atakan ÖZTÜRK'ün hazırladığı “Batı Diyeti ile Beslenen Sıçanlarda Probiyotiklerin İnflamatuar ve Anti-İnflamatuar Adipokinlere Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 21/12/2021

Danışman

Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

Üye Prof. Dr. Hüda Diken OFLAZOĞLU

Üye Prof. Dr. Veysi AKPOLAT

Üye Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

Üye Doç. Dr. Enver Ahmet DEMİR

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../20.. tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Mahmut BALKAN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

21/12/2021

Atakan ÖZTÜRK

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğumuz bu doktora tezi ile okurlara bu konuda dikkat edilmesi gereken noktaları gösterebilmek hedeflenmiştir. Öncelikle çalışmayı destekleyen Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, bilime katkıları olacağı düşünülen bu doktora tezinin her aşamasında desteklerini esirgemeyen hoşgörü ve ilgi sahibi danışmanım Prof. Dr. sayın Mukadder BAYLAN hocama saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, hoş sohbeti ve akademik hayata dair bakış açısı ile bana rehberlik eden Doç. Dr. sayın Enver Ahmet DEMİR hocama, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerini paylaşan aynı zamanda bu tezin de ikinci danışmanlığını yaparak beni onurlandıran anlayışlı ve sabırlı insan Prof. Dr. sayın Cemil TÜMER hocama çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimimde, deneyim ve bilgilerinden faydalandığım güler yüzleri, hoş sohbetleri, engin sabır ve anlayışları için başta D.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Hüda OFLAZOĞLU DİKEN olmak üzere birimin kıymetli hocaları Prof.Dr. Orhan DENLİ'ye, Prof.Dr. Abdurrahman ŞERMET'e, Prof.Dr. Cihat Güzel'e, Prof.Dr. Mustafa KELLE'ye, Prof.Dr. Mehmet AYBAK'a, Prof. Dr. Basra DENİZ OBAY'a ve Prof.Dr. H. Murat BİLGİN'e, teşekkür eder saygılarımı sunarım. Ayrıca güzel anılar biriktirdiğim özellikle Vet. Hekim Hamza KAYA ile tüm lisansüstü öğrenci arkadaşlarıma ayrıca kürsümüzün değerli çalışanlarına teşekkür ederim.

Sadece bu tezin değil akademik hayatım boyunca her zaman yanımda olan, yardım istemek için elimi her uzattığımda elimi tutan ve yardımlarını esirgemeyen, sonsuz sabır, hoşgörü ve anlayış sahibi sevgili eşim Doç. Dr. Aliye SAĞKAN ÖZTÜRK' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak ise varlıkları ile bana güç veren değerli aileme ve biricik kızlarım Elif Su ve Meva Duru'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **TIP.20.013** numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	i
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	iii
TABLolar LİSTESİ.....	v
RESİMLER LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
1. ÖZET	1
1.1 Türkçe Özet	1
1.2 Abstract.....	3
2. GİRİŞ VE AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER	8
3.1. Yağ Doku.....	8
3.1.1 Yağ dokusu	8
3.1.1.1 Beyaz yağ dokusu	9
3.1.1.2 Kahverengi yağ dokusu.....	11
3.2 Adipokinler	12
3.2.1. Antiinflamatuvar adipokinler	14
3.2.1.1. Adiponektin	14
3.2.1.2. Omentin	15
3.2.1.3. Salgılanan kıvrılmış ilgili protein (Secreted frizzled-related protein 5 SFRP5)	16
3.2.1.4. Kardiyotropin-1	17
3.2.2 İnflamatuvar adipokinler	18
3.2.2.1. FABP-4 (Yağ asidi bağlayıcı protein).....	18
3.2.2.2. Visfatin	19
3.2.2.3. Vaspin.....	20
3.2.2.4. Asprosin.....	22
3.3. Sitokinler	23
3.4. Probiyotikler	24
4. MATERYAL-METOD	27
4.1. Etik Kurul İzni	27
4.2. Hayvan Modeli ve Gruplar	27
4.3. Diyet	30
4.4. Kilo Kazanımları-Vücut Kitle İndeksi	30
4.5. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler	30
4.6. Örneklerin Analizlerinin Yapılması	31

4.6.1. Biyokimyasal analizler	31
4.6.2. Elisa analizleri	32
4.7. İstatistiksel Analizler	33
5. BULGULAR	34
5.1. Fiziksel Bulguların Değerlendirilmesi	34
5.1.1. Vücut ağırlıkları	34
5.1.2. Nazo-anal Uzunluk	35
5.1.3. Vücut kitle indeksi değişimleri	36
5.2 Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi	37
5.2.1. Açlık kan glikoz düzeyleri	37
5.2.2. Serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimler	39
5.2.3. Serum örneklerinde ELISA analizleri	52
6. TARTIŞMA	67
7. SONUÇ	88
8. KAYNAKLAR	90
9. ÖZGEÇMİŞ	113
10. EKLER	114

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

DİO: Diyetle indüklenen obezite

YYD: Yüksek yağlı diyetler

KD: Kafeterya diyeti

BD: Batı diyeti

T2DM: Tip 2 Diyabetes Mellitusun

YD: Yağ doku

BYD: Beyaz yağ doku

KYD: Kahverengi yağ doku

ALB: Albümin

ALP: Alkalen fosfotaz

ALT: Alanin amino transferaz

AST: Aspartat amino transferaz

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

Chol: Kolesterol

CK: Creatin Kinaz

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

GGT: Gama Glutamil Transferaz

HDL: High Density Lipoprotein

IL-6: İnterlökin 6

IL-4: İnterlökin 4

IL-1 β : İnterlökin 1 beta

IL-10: İnterlökin 10

IL-11: İnterlökin 11

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LPS: Lipopolisakkarit

T Bil: Total Bilürubin

TP: Total Protein

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör-alfa

TG: Trigliserid

SVF: Stromal vasküler fraksiyon

SFRP5: Secreted Frizzled-Related Protein 5
SYA: Serbest yağ asitleri
AMPK: Aktive edilmiş protein kinaz
mTOR: Mammalian target of rapamycin
MAPK: Mitogen activated protein kinase
STAT3: Signal Transducer And Activator Of Transcription 3
NF-κB: Nuclear factor-kappa B
PI3K / AKT: Phosphatidylinositol 3-kinase
PPAR-α: Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
CT-1: Kardiyotropin-1
FABP-4: Yağ asidi bağlayıcı protein
TLR: Toll like receptor
PBEF: pre-B hücresi koloni güçlendirici faktör
RBP-4: Retinol bağlayıcı protein4
NAD: Nikotinamid adenin dinükleotid
NAMPT: Nicotinamide phosphoribosyltransferase
NMN: Nikotinamid mononükleotidi
OLETF: Otsuka Long-Evans Tokushima fatty
POMC: Pro-opiomelanocortin
AgRP: Agouti-related protein

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 5.1 Vücut Ağırlıkları Değişimleri ($p<0,05$ için anlamlıdır).....	34
Tablo 5.2 Nazo-Anal Uzunluk Değişimleri ($p<0,05$ için önemlidir).	35
Tablo 5.3. VKİ Değişimleri ($p<0,05$ için önemlidir).....	36
Tablo 5.4. Açlık Kan Glikoz Değerleri ($p<0,05$ için önemlidir).....	38
Tablo 5.5. Serum Biyokimyasal Değişimler	39
Tablo 5.6. Anti-İnflamatuar adipokin seviyeleri	52
Tablo 5.7. İnflamatuar adipokin seviyeleri	57
Tablo 5.8. Sitokin seviyeleri	61

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4-1. HMKÜ Deney Araştırma Merkezi.....	28
Resim 4-2. Oral gavaj uygulaması	29
Resim 4-3. Sıçanların kardiyak kan alma yöntemi ile sakrifiye edilmesi.....	29
Resim 4-4 Elisa analiz aşamaları	32
Resim 4-5 Elisa analiz aşamaları (Standart, kontrol, örneklerin kuyucukları koyulması, reaksiyonu sonlandırma ve okuma)	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 5-1. 16. Hafta Ağırlık Grafiği	34
Şekil 5-2. 16. Hafta Nazo-Anal uzunluk grafiği.....	35
Şekil 5-3. 16. Hafta VKİ grafiği.....	37
Şekil 5-4. 16. Hafta Açlık Kan Glikoz Değerleri.....	38
Şekil 5-5. Trigliserit seviyeleri	40
Şekil 5-6. Kolesterol	41
Şekil 5-7. HDL.....	42
Şekil 5-8. Total Protein.....	43
Şekil 5-9. Albümin	43
Şekil 5-10 Total Bilirubin	44
Şekil 5-11. Direk Bilirubin.....	45
Şekil 5-12. ALT.....	46
Şekil 5-13. AST.....	47
Şekil 5-14. LDL.....	48
Şekil 5-15. ALP.....	48
Şekil 5-16. LDH	49
Şekil 5-17. GGT.....	50
Şekil 5-18. LIP.....	51
Şekil 5-19. CK	51
Şekil 5-20. Adiponektin.....	53
Şekil 5-21. Omentin	54

Şekil 5-22. SFRP5	55
Şekil 5-23. CT1	56
Şekil 5-24. Fabp4	57
Şekil 5-25. Visfatin	58
Şekil 5-26. Vaspın	59
Şekil 5-27. Asprosin	60
Şekil 5-28. IL-1 β	61
Şekil 5-29. IL-4	62
Şekil 5-30. IL-6	63
Şekil 5-31. IL-10	64
Şekil 5-32. IL-11	65
Şekil 5-33. TNF α	66



1. Özet

Batı Diyeti ile Beslenen Sıçanlarda Probiyotiklerin İnflamatuvar ve Anti-İnflamatuvar Adipokinlere Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Atakan ÖZTÜRK

Danışmanı: Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

Anabilim Dalı: Fizyoloji

1.1 Türkçe Özet

Amaç: Bu çalışmada probiyotiklerin yüksek kalorili Batı Diyeti (BD) ile beslenen sıçanlarda inflamatuvar/antiinflamatuvar adipokin seviyelerine olan etkileri araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Toplam 40 adet Wistar Albino türü 5-6 haftalık erkek sıçan kullanıldı. Kontrol (K) grubundaki hayvanlar ticari sıçan diyeti (Bil-Yem®, 12% yağ, 60% karbonhidrat ve 28% protein; 2700 kcal) ile, kontrol (KP) grubundaki hayvanlar ticari sıçan diyetine ek olarak probiyotik takviyesi (*Lactobacillus rhamnosus* GG (LbGG)1x10⁹) ile 16 hafta beslendi. Deney (D) grubundaki hayvanlar BD ile (%45 yağ, %35 karbonhidrat %20 protein; 5000 kcal) ile, deney (DP) grubundaki hayvanlar BD ye ek olarak probiyotik takviyesi ile 16 hafta beslendi. Hayvanların ağırlıkları, nazo-anal uzunlukları, açlık kan glikoz seviyeleri haftalık kaydedildi ve vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplandı. Çalışmanın sonunda hayvanların kalpten kanları alınarak serum örneklerinde biyokimyasal parametreler ve adipokinler ölçüldü.

Bulgular: BD ile beslenen gruptaki kilo artışı standart yem ile beslenen gruplardan (K ve KP) anlamlı olarak yüksekti (p<0,05). Nazo-anal uzunluklar KP ve DP gruplarında anlamlı artış gösterdi(p<0,05). En yüksek VKİ değeri BD ile beslenen grupta saptandı (p<0,05). Kan glukoz değerleri çalışmanın ortalarından itibaren BD ile beslenen gruplarda yüksekti (p<0,05). TG, Chol ve HDL seviyeleri KP grubunda en yüksekti (p<0,05). TP, ALB, TBIL, DBIL, ALT, ALP ve LIP, DP grubunda en yüksekti (p<0,05). Visfatin ve SFRP5 seviyeleri K grubunda diğer gruplardan yüksekti (p<0,05). CT-1, IL-10, IL-11, TNF-α ve IL-4 seviyeleri KP grubunda en yüksekti (p<0,05). Adiponektin seviyeleri D grubunda en yüksek olup DP grubu ile

farkı anlamlıydı ($p<0,05$). Omentin, Vaspın, IL-6, IL-1 β ve asprosin seviyeleri DP grubunda yüksek bulundu($p<0,05$).

Sonuç: BD ile beslenmeye ilaveten probiyotik kullanımının büyüme, VKİ ve adipokinler üzerine olumlu etkilerinin olduğu, yağ dokuyu etkileyerek proinflamatuvar/antiinflamatuvar sitokin dengesini sağladığı gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Adipokinler, Batı Diyeti, Probiyotik, Sitokinler



1.2 Abstract

Investigation of the Effects of Probiotics on Inflammatory and Anti-Inflammatory Adipokines in Western Diet-Fed Rats.

Student's Surname and Name: OZTURK Atakan

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Mukadder BAYLAN

Department: Physiology

Objective: To investigate the effects of probiotics on inflammatory/anti-inflammatory adipokine levels in rats fed on a high-calorie Western Diet (WD).

Material-Method: A total of 40 male wistar albino rats (5-6 weeks old) were used in the study. Animals in the control (K) group were fed a commercial rat diet (Bil-Yem®, 12% fat, 60% carbohydrate and 28% protein; 2700 kcal) while the animals in the control (KP) group were fed on a probiotic supplement (Lactobacillus rhamnosus GG (LbGG)1x10⁹) in addition to the commercial rat diet for 16 weeks. The animals in the experimental group (D) were fed a high-energy western diet (45% fat, 35% carbohydrate 20% protein; 5000 kcal) while the animals in the experimental (DP) group were fed with a probiotic supplement in addition to WD for 16 weeks. Weights, nasoanal lengths, fasting blood glucose levels of all animals were recorded weekly and body mass indexes (BMI) were calculated. Finally, all animals were sacrificed by puncturing cardiac blood under anesthesia

Results: A statistically significant ($p<0.05$) increase in weights were noticed in animals fed on WD when compared to the K and KP groups. Naso-anal lengths increased in both groups (KP and DP) compared with other groups (F, D) ($p<0.05$). BMI was significantly high in D group ($p<0.05$). Blood glucose values increased in the groups fed with WD ($p<0.05$). TG, Chol and HDL levels were significantly higher in the KP group ($p<0.05$). TP, ALB, TBIL, DBIL, ALT, ALP and LIP were significantly higher in DP group ($p<0.05$). Visfatin and SFRP5 levels were highest in the K group ($p<0.05$). CT-1, IL-10, IL-11, TNF- α and IL-4 levels were highest in the KP group ($p<0.05$). Adiponectin levels were higher in the D group compared with the DP group ($p<0.05$). Omentin, Vaspin, IL-6, IL-1 β and asprosin levels were higher in the DP group compared with the other groups ($p<0.05$).

Conclusion: Probiotics in addition to WD has positive effects on growth, BMI and adipokines as well as constructs pro-/anti-inflammatory cytokine balance over the adipose tissue.

Keywords: Adipokines, Western Diet, Probiotics, Cytokines



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Adipoz doku, adipokinler olarak adlandırılan yüzlerce biyoaktif molekülü salgılayan endokrin bir organdır. Adipokinler, adiposit fonksiyonlarını otokrin ve parakrin şeklinde etkiler. Adipoz dokunun düzenlenmesine katılan beyin, karaciğer, kas, pankreas ve diğer enerji tüketen organlarla yoğun şekilde iletişim kurmasını sağlar (1). Pro-inflamatuar biyobelirteçlerin (interlökin 6: IL-6, tümör nekroz faktör alfa: TNF α gibi) konsantrasyonundaki değişiklikler adipoz doku disfonksiyonunun ve patojenik süreçlerin bir göstergesi olabilir. Ek olarak, vaspin, visfatin gibi adipokinlerin seviyesinde meydana gelen değişiklikler metabolik sendromun üyelerinden olan obezite ve Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) belirlenmesinde faydalı birer biyobelirteç olarak önerilmektedir. Bu nedenlerden dolayı adipokinlerin yağ dokudaki bileşimleri ve dağılımları, metabolik homeostazın korunması için önemlidir (1–3).

Enerji alımı ile harcanması arasındaki dengesizliğe bağlı olarak oluşan aşırı yağ birikimiyle ile adipokinler arasındaki ilişki son yıllarda araştırma konusu olmuştur (1,4). Adipokinlerin temel rolü, iştah ve enerji harcanımını, insülin duyarlılığını, oksidatif kapasiteyi ve lipit alımını düzenlemektir (1,2,4). Özellikle yağlanma veya obezitede artmış olan adipokinlerin yağ doku, karaciğer, kas, pankreas ve kan damarları gibi diğer periferik dokularda inflamasyona neden olabileceği gibi, insülin direncini ve glikoz/insülin metabolizmasını da bozabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte adipokin seviyeleri yağ dokusunun miktarına ve durumuna cevap olarak değişmektedir. Bu nedenle aşırı yağ doku birikiminde adipokinlerin salınımı insülin direnci, T2DM ve artmış kardiyovasküler hastalık riskinin gelişiminde merkezi rol olarak metabolik hastalıklara yol açtığı belirtilmektedir (1–5).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de değişen beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzına bağlı olarak obezitenin yaygınlığı giderek artmaktadır. Bunun yanında, bu konuda yapılan çalışmaların sonuçları dikkate alındığında barsak florasının obezite gelişimi ve ilerlemesinde katkıları olduğu görülmektedir. Bağırsak mikroflorası, obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavinin desteklenmesinde önemli bir unsur olarak klinik uygulamalarda yerini almıştır.

“Yeterli miktarlarda uygulandıklarında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizma” olan probiyotiklerin, yağ depolarını azalttığı, doyumluk hissini ve enerji tüketimini arttırdığı ve obezite gelişimini önlediği, dolayısıyla obezite ile ilişkili bağırsak ve metabolik bozuklukların iyileştirilmesinde faydalı etkilere sahip olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (6,7).

Dünya çapında obezite gelişimini önlemeye yönelik yapılan çalışmalarda kullanılan deneysel modellerin geliştirildiği ve bu modeller arasında en çok kullanılanın ise diyetle indüklenen obezite (DİO) modeli olduğu görülmüştür. İnsanların beslenme alışkanlıklarına benzer modeller sunan DİO modellerinde, yüksek yağlı diyetler (YYD'ler) ve kafeterya diyetleri (KD) dahil olmak üzere çok sayıda obeziteye neden olabilecek diyet kullanılmaktadır. Bizde çalışmamızda, ülkemiz yaşam tarzı ve şartları göz önünde bulundurularak, YYD modelinin ve KD modelinin optimal özelliklerinin birleştirilmesinden ortaya çıkan yüksek yağ ve şeker içeriğine sahip Batı Diyeti modeli tercih edilmiştir. Bu sayede yukarıda kısaca özetlenen durumlardan dolayı ortaya çıkan karışıklıkların giderilmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca bu tez çalışmasında son yıllarda ülkemizde de kullanımı yaygınlaşan probiyotiklerin yüksek kalorili BD ile beslenen sıçanlarda inflamatuvar ve anti-inflamatuvar adipokin seviyelerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Tezin konu ve amacına uygun olarak seçilen probiyotiğin günümüz beslenme alışkanlıkları ile etkileşimi deneysel olarak test edilmiştir. Adipokinler, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi, iştah ve tokluk gibi biyolojik süreçlerin modülasyonu, insülin sekresyonu ve duyarlılığı, adipoz doku yağ dağılımı, enerji harcaması, endotelial fonksiyon, inflamasyon, kan basıncı ve homeostazın düzenlenmesine katkıda bulunur. Sistemik düzeyde adipokinler; beyin, karaciğer, kas, damar sistemi, kalp, pankreas ve bağışıklık sistemi dahil olmak üzere hedef organlardaki farklı biyolojik süreçleri düzenler veya modüle eder (8,9). Yapılan literatür taramalarında, probiyotik kullanımı ile adipokin seviyeleri arasındaki ilişkinin birçok çalışmaya ilham kaynağı olduğu görülmüştür. Ancak bu çalışmaların çoğu tek bir adipokin ve onun etkileri üzerine yoğunlaşarak yapıldığı görülmüştür. Oysa bu çalışma ile aynı anda birden fazla adipokin seviyesinin incelenip

aralarındaki ilişkinin ortaya konulması ve adipokin/probiyotik etkileşimleri daha iyi bir şekilde açıklanabilecektir. Bu hali ile mevcut tez çalışmasının orijinal olduğunu ifade edebiliriz. Özellikle adipokinlerin inflamatuvar-antiinflamatuvar olarak ele alınması ile BD modelinde probiyotik kullanmanın değerlendirilmesine olanak sağlayabileceği kanaatini taşımaktayız.

Yapılan çalışmalar probiyotiklerin konakçı üzerindeki etkilerinin suşa özgü olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni, kullanılan probiyotiklerin muhtemelen farklı etki mekanizmaları ve farklı metabolitlerin üretimi olabilir (10). Ayrıca probiyotiklerin cinsiyete göre değişen belirli faydaları bulunmaktadır (11). Birden fazla suştan oluşan probiyotik kullanmak hangi türün daha etkili/etkisiz olduğunu tespit etmemizi olanaksız kılacağından dolayı tek probiyotik suşu ve erkek sıçan kullanmak çalışmamızın kısıtlayıcı unsurları olarak ön plana çıkmaktadır. Çalışma sonunda serum örneklerinden spektrofotometrik yöntem ile lipid profil belirteçleri (Trigliserit (TG), kolesterol (Chol), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)), bazı karaciğer enzim (ALT: Alanin amino transferaz, AST: Aspartat amino transferaz, ALP: Alkalen fosfotaz, GGT: Gama Glutamil Transferaz) seviyeleri ölçülerek gruplar arasındaki farklar incelenecektir. Yine serum örneklerinden ELİSA yöntemi ile, bazı pro-inflamatuvar/anti-inflamatuvar sitokin (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 ve TNF- α) ve adipokin (adiponektin, omentin, SFRP5, kardiyotropin-1, Fabp4, vaspın, visfatin, asprosin) seviyeleri ölçülerek gruplar arasındaki farklar incelenecektir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Yağ Doku

3.1.1 Yağ dokusu

Yağ dokusu (YD) geleneksel olarak enerjiyi lipit biçiminde depolayan bir doku olarak kabul edilmiştir. Ancak metabolik açıdan aktif olan yağ dokusuna ilişkin yeni keşiflerin ardından tanımı değişmiştir. Leptinin 1994 yılında tanımlanması yağ dokusunun hayati bir endokrin organ olarak kabul edilmesini sağlayan dönüm noktası olmuştur (12). Yağ dokusu; polipeptit hormonları, proinflamatuvar sitokinleri (13) pıhtılaşma faktörlerini (14) ve vazoaaktif peptitleri salgılar. Yağ dokusu ayrıca steroid hormonların biyosentezini ve aktivitelerini kontrol eden enzimler üretir (15).

Yağ dokusu, omurgalılarda enerji depolama ve salınımının kontrol edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Vücudun genişleme yeteneği en yüksek olan dokusu olup enerji alımının harcamasından fazla olduğu durumlarda genişlemektedir. Fizyolojik işlevinin yanı sıra, mekanik bir işlevi de vardır. Bu da sıcak ve soğuğa karşı yalıtım sağlamaktır. Yağ dokusu tüm vücuda yayılmış olup birçok organın etrafını sarmaktadır. Fazla kiloya ve ardından obeziteye yol açan aşırı yağ depolaması sağlık açısından çeşitli problemlere neden olmaktadır. (16). Yağ dokusu morfolojisine göre beyaz, kahverengi veya bej alt kümeler olarak sınıflandırılmaktadır. Beyaz yağ dokusu (BYD) ise bulunduğu yere göre subkutan (ciltaltı) ve viseral olmak üzere sınıflandırılmaktadır (5). Subkutan yağ dokusu özellikle kalça, gluteal bölge ve karın bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır. Viseral yağ dokusu ise karın içinde; iç organların, mide, bağırsak ve böbreklerin arkasına yapışık halde bulunmaktadır (5,16). Subkutan ve viseral yağ dokular arasındaki farklılık sadece konumlarıyla ilişkili olmayıp aynı zamanda moleküler profilleri, metabolizmaları, embriyonik kökenleri ve metabolik hastalıkların etiyojisinde oynadıkları rollere göre farklılık göstermektedir (17). Beyaz yağ dokusu sağlıklı bireylerde, subkutan ve viseral olarak tanımlanmış depolarla sınırlıdır. Ancak obezite ve lipodistrofi gibi durumlarda BYD kütlesi normalde bulunmaması gereken alanlarda kümelenerek diyabet ve ateroskleroz gibi

komorbiditelere duyarlılığı arttırabilmektir. Bu tür ektopik BYD alanları çoğunlukla viseral boşluk içinde yer almaktadır ve intrahepatik, epikardiyal, perivasküler, mezenterik, omental ve retroperitoneal yağ olarak tanımlanmaktadır (5). Sağlıklı bireylerde yağ dokusunun çoğu ısı düzenleyici bir fonksiyona hizmet ettiği ve depolanan trigliseridlerin ihtiyaç duyulduğunda kolayca mobilize edilebildiği subkutan depolarda bulunmaktadır (17). Erkekler yaşlandıkça yağ kütlelerinde artış, abdominal, viseral ve subkutan bölgelerin genişlemesi ile ağırlıklı olarak bel çevresinde meydana gelmektedir ve bu durumun azalan testosteron ile ilgili olduğu kabul edilmektedir (18). Premenopozal kadınlarda, yağ dokusu ağırlıklı olarak gluteal femoral subkutan kompartmanlara dağılmıştır. Menopoza ulaştıktan sonra kadınlarda östrojen seviyelerinin düşmesi ile androjenin östrojene oranı artarak lipidlerin viseral yağ dokusunda dağılımı yeniden düzenlenmektedir (19).

Yağ doku adipositlerden ve stromal vasküler fraksiyon (SVF) olarak bilinen mezenkimal, endotelyal ve immün hücrelerden oluşan immünolojik bir organdır (20). Bu nedenle, obezite sırasında yağ dokusunun aşırı genişlemesi, immünolojik bir doku olarak hareket etme ve sistemik inflamasyon ve metabolizmayı kontrol etme yeteneğini arttırır (21). Fizyolojik durumda, yağ dokuda eozinofiller, mast hücreleri, tip 2 doğal lenfoid hücreler, doğal öldürücü T hücreleri, düzenleyici T lenfositler ve özellikle adipoz doku makrofajları yer almaktadır. Bu bağışıklık hücrelerinin hiperkalorik durumda salgıladıkları ürünlerin YD bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunduğu ve makrofaj sayısındaki artışların ise metabolik bozukluklarla başa çıkmak için vücudun koruyucu bir mekanizması olabileceği öne sürülmüştür (22).

3.1.1.1 Beyaz yağ dokusu

Beyaz yağ dokusu sistemik enerji homeostazını düzenleyen hormonları, lipidleri ve sitokinleri salgılayabilen endokrin bir organdır Temel olarak yağ (trigliserid; TG) damlacıkları açısından zengin bir enerji deposu olarak hizmet eder ve vücut ağırlığının yaklaşık %25'ini oluşturur (23). Yemek sonrasında beyaz adipositler dolaşımdaki lipoproteinler tarafından taşınan yağ asitlerini alır, trigliseridlere dönüştürür ve bunları hücre içi büyük bir lipid damlacığında depolar. Aksine, öğünler arasında ve diğer katabolik durumlarda BYD hücre içi lipoliz tarafından

serbest bırakılan serbest yağ asitlerini (SYA) diğer organlara enerji sağlamak için kan dolaşımına salgılar (24,25).

Aynı zamanda anjiyogenez, kan basıncı kontrolü, kan pıhtılaşması ve bağışıklık gibi diğer biyolojik süreçleri de etkilemektedir. BYD, lokal veya sistemik düzeyde etki eden hormon olarak tanımlanan adipokinleri ve sitokinleri salgılayarak düzenleyici işlevlerini gerçekleştirmektedir (26).

Beyaz yağ dokusu; adipositler, çeşitli immün, progenitör ve kök hücrelerin yanı sıra vasküler yapıları da içeren heterojen bir yapıya sahiptir. Beyaz yağ dokusunun genişlemesi ve iltihaplanması obezitenin ayırt edici özellikleridir. Aynı zamanda bu durum metabolik ve kardiyovasküler hastalıkların gelişmesine neden olmaktadır (27). Beyaz yağ dokusunun genişlemesi, adipositlerin boyutunun artması (hipertrofi) ya da yeni adipositlerin (hiperplazi) oluşması ile meydana gelir (28). Yeni oluşturulan adipositler BYD'nun stromal vasküler fraksiyonunda bulunan adiposit progenitörlerinden türetilir (28). Stromal vasküler fraksiyon yağ dokusunun enzimatik yıkımı sonucunda elde edilen kök hücreden zengin, adipoz kökenli mezenkimal kök hücreleri; preadipositleri, endotel hücreleri, hematopoietik seri hücrelerini, fibroblastları ve perisitleri içeren heterojen bir yapıdır (29).

Beyaz yağ dokunun iki temel metabolik aktivitesi bulunmaktadır. Bunlar lipogenez ve lipolizdir. Her ikisi de normal koşullar altında vücut yağ oranını sabit tutmak için nöral (otonom sinir sistemi yağ dokusu üzerinde doğrudan kontrole sahiptir) (30) ve endokrin (norepinefrin, atriyal natriüretik peptid, insülin) mekanizmaların entegrasyonu ile düzenlenmektedir (31).

Metabolik bozuklukların gelişimi üzerindeki etkileri göz önüne alındığında iki ana tip BYD tanımlanmıştır. Bunlar hücre bileşimi, gen ekspresyonu, gelişimsel soy ve adipokin sekresyonu açısından farklı özelliklere sahip subkutan BYD (scBYD) ve viseral BYD (vBYD) dur (32). Viseral beyaz yağ dokunun patolojik genişlemesi insülin direnci, inflamasyon, dislipidemi, obezite ve T2DM gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (1). Viseral yağ dokunun adipositleri, aktivasyon açısından subkutan adipositlerden daha lipolitik ve lipojenik olarak aktiftir ve dolayısıyla plazma serbest yağ asidi seviyelerine daha fazla katkıda bulunduğu gösterilmiştir (33).

Subkutan beyaz yağ dokusu sıklıkla kahverengi tip adipositler de barındırmaktadır. Kahverengi adipositler metabolik iyileşme ve insülin duyarlılığı gibi fonksiyonlara sahiptir (34). Viseral YD, artan insülin direnci ve kardiyovasküler hastalık riski ile bağlantılıyken, subkutan YD artışı, plazma lipid profilleri ile ilişkilidir. Ayrıca viseral yağ doku proinflatuar sitokinlerin ana kaynağı iken subkutan adipositler leptin ve adiponektinin ana kaynağıdır (26).

3.1.1.2 Kahverengi yağ dokusu

Kahverengi yağ dokusu (KYD) memelilerde termogenezin ana bölgesidir (35). Kahverengi adipositler, yağ asitlerini yakabilen ve oksidasyon enerjisini ısı olarak dağıtabilen hücrelerdir. Bu adipositler oksitadif aktivitesini yüksek mitokondri içeriği ve benzersiz bir mitokondriyal membranöz protein ile gerçekleştirmektedir. Ayırıcı protein 1 (UCP1: uncoupling protein 1) kahverengi adipositler tarafından gerçekleştirilen özel bir işlev olan adaptif termojenezde görev almaktadır. UCP1, ATP sentezi ile solunumu birbirinden ayırır ve bu sayede yüksek seviyelerde yağ asidi oksidasyonunu uyarırken enerjinin ısı olarak dağıtılmasını sağlamaktadır (36). Rodent çalışmalarına göre KYD organizmanın soğuk bir ortama adapte olmasını sağlamak için ısı üretir ve ayrıca enerji harcamasını teşvik ederek obeziteye karşı korur (37,38). Kahverengi yağ dokusunun enerji tüketimini artırabileceği gerçeği, obezite ve obezite ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmüştür. Bu sebeple araştırmacılar, obeziteyi tedavi etmek için metabolik olarak aktif KYD kullanmaya odaklanmıştır (39). Termogenez etkinleştirildiğinde, KYD depoları hipertrofik ve hiperplazik süreçlerle genişler (40). Sürekli soğuğa maruz kalmak KYD'nin "esmerleşmesine" yol açar, bu sayede kahverengi adiposit benzeri hücreler KYD depolarında görünür (41). Hatta deneysel olarak yapılan çalışmada 20-73 yaşları arasındaki sağlıklı gönüllüler 2 saat süre ile soğuğa maruz bırakılmış ve deneklerin yaklaşık %40'ında soğukta aktif olan KYD tespit edilmiştir (42). İnsanlarda KYD'nin soğuk aracılı enerji dağılımında ve sistemik lipid havuzunun düzenlenmesinde kritik öneme sahip olduğu vurgulanmaktadır (43).

İnsanlarda yapılan çalışmalar aktif KYD içeriğinin VKİ ile negatif korelasyon gösterdiği ve vücut metabolizmasının düzenlenmesinde bir role sahip olduğunu belirtmektedir (44). Tekrarlayan (sistemik olarak) soğuğa maruz kalan kişilerde KYD yanıtında küçük artışlar bildirilmiş olsa da KYD insidansının ve aktivitesinin yaşla birlikte azaldığı belirtilmiştir. İnsidansın genç deneklerde (20-29 yaş) % 50'den fazla olduğu daha yaşlı deneklerde ise (>40 yaş) %10'dan az olduğu gösterilmiştir (42). Yetişkin insanlarda, iki skapula kemiği arasındaki yüzeysel KYD ortadan kalkmıştır. Bununla birlikte aktif KYD özellikle genç erişkinlerde böbrek ve omurilik boyunca, yüzeysel supraklaviküler alanda ve daha derin depolarda bulunabilir (44).

3.2 Adipokinler

Yağ dokusu içinde 600'den fazla sekretuar protein tanımlanmış olmasına rağmen bu sayının günümüzde daha da artması beklenmektedir (45). Leptinin keşfinden (12) sonra yapılan çalışmalar yağ dokusunun kütlesindeki değişiklikleri, enerji durumunu diğer organlara bildiren ve kontrol eden yağdan türetilmiş bir "adipokin" ailesini ortaya çıkarmıştır (46). Adipokinlerin ve inflammatuar belirteçlerin konsantrasyonundaki değişiklikler yağ doku disfonksiyonunun ve patolojik koşulların göstergesi olabileceği bildirilmiştir (1).

Adipokinler, adipoz dokulardaki inflammatuar yanıtlar üzerindeki etkilerine göre proinflammatuar ve antiinflammatuar adipokinler olarak sınıflandırılmaktadır (47). İnflammatuar yanıtlarla farklı şekillerde ilişkilendirilmiş; bazıları pro- bazıları ise anti-inflammatuar koşullar ile ilgili olduğu vurgulanmıştır. Yağ dokusu, çoğu pro-inflammatuar aktivite gösteren adipokinlerin yanında inflamasyon durumlarında çok önemli koruyucu roller oynayan bir dizi anti-inflammatuar adipokinleri de (adiponektin, SFRP5, omentin) salgılamaktadır (48). Proinflammatuar ve antiinflammatuar adipokinlerin dengesizliğinin obeziteye bağlı bozuklukların gelişimine katkıda bulunduğu belirtilmiştir. Yağ birikiminin artması sonucunda anti-inflammatuar adipokinlerin düzensizliği, lokal veya sistemik inflammatuar yanıtlara katılarak metabolik ve kardiyovasküler bozuklukların başlamasına veya ilerlemesine yol açtığı belirtilmektedir (49).

Adipokinler lokal olarak adipogenez ve adiposit metabolizması immün hücre göçü ve insülin duyarlılığının düzenlenmesinde rol oynarken sistemik olarak ise insülin salgılanması, kan basıncı, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi, iştah ve tokluk gibi farklı biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde görev almaktadır (15,45). Adipokinler, doğal bağışıklık yanıt ve inflamatuvar süreçlerde yer alan adezyon molekülü ekspresyonunu, kemotaksiyi, apoptozu ve fagositozu içine alan çeşitli hücrelerin aktivitesini düzenlemektedir (50).

Adipositlerdeki orantısız lipid birikimi hipertrofiye neden olur ve lökosit göçünü uyaran kemokinlerin eşlik ettiği lokal bir proinflamatuvar yanıtı teşvik eder (51). Yapılan gözlemler, fizyolojik olarak arzu edilen miktarlarda yağ dokusunun vücut homeostazının korunmasına yardımcı olduğu sonucuna varmıştır. Yağ dokusu tarafından salgılanan maddeler vücuttaki enerji, lipid ve karbonhidrat metabolizmasını kontrol ettiği ve bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını düzenlediği gösterilmiştir (52). Obezite, sadece vücutta anormal derecede artmış yağ dokusu değil, aynı zamanda adipokinlerin salınımının da artması anlamına gelmektedir. İnsülin direnci, diyabet gibi kronik inflamatuvar hastalıklar için adipokinlerin sistemik etkileri tanımlanmıştır (53). Sonuç olarak artmış yağ dokusu tarafından üretilen adipokin ve sitokinler tüm vücudu etkileyebilir ve bu da obez bireylerde dokuların insülin duyarlılığını azaltarak iltihaplanmaya ve kronik komplikasyonların gelişmesine neden olmaktadır (52,53). Abdominal yağ dağılımı ve adipokinler birbiriyle ilişkilidir ve vBYD adipokinlerin düzenlenmesinde yaşlanmayla yakından bağlantılıdır (54).

Obezite ile ilişkili inflamasyon, doku kompozisyonunu önemli ölçüde değiştirebilir, böylece kanser gelişimi için uygun bir ortam geliştirebilir; bu değişikliklerin tümör oluşuma karşı mutasyonel ve epigenetik engelleri azaltabileceği düşünülmektedir (55). Örneğin, obeziteye bağlı meme (56) ve pankreasta (57), meydana gelen kanser hücre dışı matriks bileşimi ile ilişkilidir. Bununda, kanser hücre oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (55). Obezite ilişkili inflamasyon onkojenik transformasyonu kolaylaştırmak için hem doku mikroçevresini hem de premalign epitel hücrelerini uygun hale getirdiği gösterilmektedir (58). Obez mikroçevre spesifik onkojenik mutasyonlara neden olabilir. Buna göre, obez bir

mikroçevrede gelişen tümörler, aşırı beslenme ve inflamatuvar sitokinelere bağımlılıkları nedeniyle obeziteye bağımlılık gösterebilirler (55).

Obezitenin tümör ile ilişkisinin altında yatan sebeplerden biri de inflamatuvar ve anti-inflamatuvar adipokin tipine bağlı olarak hem onkojenik hem de anti-tümöral özellikler gösteren adipokinlerdeki anormal sekresyondur (59). Leptin, IL-6 ve TNF α gibi proinflamatuvar adipokinlerin kanserlerde serum seviyeleri artarken, kanserli hastalarda tümör oluşumuna karşı koruyucu olan adiponektin gibi bazı adipokinlerin serum seviyeleri azalır (60).

3.2.1.Antiinflamatuvar adipokinler

3.2.1.1. Adiponektin

Bir anti-inflamatuvar adipokin olan adiponektin, ilk olarak 90 lı yılların ortasında keşfedilmiş sistemik dolaşımda bol miktarda bulunan bir proteindir (61,62). Anti-inflamatuvar etkilere sahip olan adiponektinin ve başta iskelet kası ile karaciğer olmak üzere çeşitli dokularda insülin duyarlılığını artırabildiği bilinmektedir. Adiponektin, Adipor1 ve Adipor2 adı verilen ve kas, karaciğer ve kalpte yüksek oranda tespit edilen G proteinine bağlı iki reseptör aracılığıyla etki ettiği gösterilmiştir (63). Adiponektin serum konsantrasyonu, VKİ ve insülin direnci ile ters orantılıdır (64). Tip 2 diyabet, obezite ve ateroskleroz gibi kronik inflamasyon ile karakterize patolojik durumlarda, adiponektinin serum seviyelerinin düşük olduğu bulunmuştur (65,66). Adiponektin çoğunlukla AMPK (aktive edilmiş protein kinaz), mTOR (Mammalian Target of Rapamycin), PI3K / AKT (phosphatidylinositol 3-kinase), MAPK (Mitogen-activated protein kinase), STAT3 (Signal Transducer And Activator Of Transcription 3) ve NF-kB (nuclear factor-kappa B) üzerinden etkilerini göstermektedir (67–69).

Adiponektin, proinflamatuvar belirteçleri, oksidatif stresi, insülin direncini azaltır ve ateroskleroza önler (70). Anti-diyabetik etkilerini esas olarak hepatik glikoz üretiminin baskılanması yoluyla gösterir. Ancak aynı zamanda in vitro iskelet kasında glikoz alımını da artırır (66,70). Adiponektin uygulaması diyabetik farelerde kan şekerini insülin seviyelerini etkilemeden düşürdüğü gösterilmiştir (66).

Lipoatrofik farelerde, fizyolojik dozlarda adiponektin ve leptin kombinasyonunun insülin direncini tamamen tersine çevirdiği gösterilmiştir. Adiponektinin azalmasının ise hem obezite hem de lipoatrofi fare modellerinde insülin direncinin artmasında rol oynadığı gösterilmiştir (64). Adiponektin, AMPK ve PPAR- α (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha) aktivasyonu yoluyla hepatik ve sistemik insülin direncini iyileştirir (70).

Adiponektinin, lipoprotein metabolizmasının çeşitli parametreleriyle özellikle HDL ve trigliserit metabolizmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Adiponektinin, serum HDL'yi arttırdığı ve serum trigliserid seviyelerini düşürdüğü belirtilmiştir (71).

Adiponektin geni susturulmuş farelerde normal farelere kıyasla artmış neointimal hiperplazi, düzensiz endotelyuma bağlı vazodilatasyon ve kan basıncı olduğu gösterilmiştir (70). Hızlı proliferasyon ve vasküler düz kas hücrelerinin (VDK) intimaya doğru göçü, arterlerin intimal kalınlaşmasına ve ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur. İnsanlarda yapılan bir çalışmada, adiponektinin trombosit kaynaklı büyüme faktörü, temel fibroblast büyüme faktörü ve heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü gibi aterojenik büyüme faktörlerini inhibe ederek aortik VDK'ların proliferasyonunu ve göçünü engellediği gösterilmiştir (70).

3.2.1.2. Omentin-1

Omentin-1 epiBYD, omental yağ dokusu ve diğer visceral yağ dokusu depolarında eksprese edilen bir adipokindir (72). Omentinin, hem subkutan adipositlerde insülin etkisi de dahil olmak üzere sistemik metabolizmayı modüle etmek için bir endokrin faktör hem de visceral yağ biyolojisini lokal olarak düzenlemek için otokrin ve parakrin faktör olarak hareket eden yeni bir hormon olduğu düşünülmektedir (72). Zayıf kişilerde plazma omentin-1 seviyesi yüksek iken obez hastalarda düşük olduğu bulunmuştur (73). Metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarda omentin-1 in azalmış seviyeleri görülmektedir (74). Omentin-1 gen ekspresyonunun obezitede azaldığı ve omentin-1 gen ekspresyonu ile omentin-1 plazma seviyeleri arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Yani, azalmış omentin seviyeleri artan obezite ve insülin direnci ile ilişkilidir (73). Tip 2 diyabet,

obezite, diyabete (diyabet + obezite) ve metabolik sendromu olan hastalarda serum omentin-1 düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (75–78). Ayrıca serum omentin düzeyindeki azalma, koroner arter hastalığının (KAH) bağımsız bir prediktörü olduğu ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (79).

Omentin-1, doymuş yağ asitleri alımı, VKİ, insülin direnci, total kolesterol, hemoglobin A1c, leptin ve sistolik kan basıncı ile negatif ilişkilidir. Adiponektin ve HDL kolesterol konsantrasyonları ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) parçacık boyutu ile pozitif olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (80–85).

Omentinin insülin sinyalini etkileyip etkilemediğini araştırmak için izole insan subkutan adipositlerinde omentinin glukoz alımının insülin stimülasyonu üzerindeki etkisi test edilmiş, 300 ng/ml omentin uygulamasının bazal glukoz alımını etkilemediği ancak insülinin glukoz alımını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Böylelikle, omentinin insülinin glukoz alımı üzerindeki etkisini arttığı gösterilmiştir (72).

3.2.1.3. Salgılanan kıvrılmış ilgili protein (Secreted frizzled-related protein 5 SFRP5)

Adipoz dokuda SFRP5 transkript ekspresyonu, özellikle epididimal ve perikardiyal depolarda yoğunken subkutan BYD ve KYD ekspresyonu çok daha düşüktür (86). Hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz ve hücre döngüsü düzenlemesi gibi süreçlere katılan ve 5 üyeden (SFRP1-SFRP5) oluşan SFRP ailesi Wnt yolağının inhibitörleridir (87). SFRP ekspresyonunun adipogenez sırasında arttığı, yüksek yağlı diyet ile geçici olarak uyarıldığı ve hafif (morbid olmayan) obezite ile yükseldiği gösterilmiştir (88). Obezite durumunda, adipositler tarafından salgılanan SFRP5, adipoz doku içindeki inflamatuvar hücreleri kontrol ederek metabolik disfonksiyon üzerinde yararlı etkiler sağlamaktadır (89). SFRP5, Wnt sinyal iletim yolunun negatif modülatörleri olarak tanımlanan beş glikoproteinden oluşur (90).

İnsülin direnci, tip 2 diyabet, dislipidemi, ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gibi yağ dokusuna bağlı kronik inflamasyonların efektör adipokini olan SFRP5

(1,91) Wnt5a'ya bağlanarak Wnt sinyalini zayıflatır. Böylece kronik inflamatuvar durumu sınırlar, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık gelişimini baskılar (1,90,92,93). Wnt yolu; gelişimde, homeostazda ve hastalıkta temel bir rol oynar ve anormal Wnt sinyali yaygın olarak çeşitli kanser türlerinde görülür. Wnt yolunun kanonik olmayan ligandı Wnt5a, bir tümör baskılayıcı olarak kök hücre yenilenmesi, hücre göçü ve hücre polaritesinin önemli bir düzenleyicisidir (94,95).

SFRP5'in bir anti-inflamatuvar etkiye sahip olduğu ve bu etkileri kanonik olmayan Wnt5a/JNK sinyal yolunun bastırılması yoluyla uyguladığı düşünülmektedir (86). Genetik modeller kullanılarak, SFRP5/Wnt5a sinyallemesinin, yağ dokusu iltihabı ve sistemik metabolik sağlığın bir düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (89).

Serum SFRP5 düzeyleri obezite ve tip 2 diyabet olan bireylerde düşüktür. Bunlar, SFRP5'in azalmış ekspresyonunun obezite ve tip 2 diyabet riski için prognostik bir belirteç olduğunu göstermektedir (1).

3.2.1.4. Kardiyotropin-1

Kardiyotropin-1 (CT-1) IL-6 ailesi üyeleriyle yapısal benzerlik gösterdiği için bu ailenin bir üyesi olarak tanımlanmıştır (96). Kardiyotropin-1 kodlayan mRNA kalp, iskelet kası, prostat ve yumurtalıklarda yüksek seviyelerde görülmüştür (97). CT-1'in motor nörodejeneratif bozukluklarda potansiyel nöroprotektif etkiler sergilediği gösterilmiştir (98). CT-1 eksikliği olan farelerde, gıda alımının azalmasına rağmen obezite, insülin direnci ve kanda yüksek kolesterol seviyeleri görülmüştür. Yapılan bir çalışmada 12 hafta boyunca YYD maruz kalan 2 aylık CT-1 geni susturulmuş farelerin normal hayvanlardan daha fazla kilo aldıkları ve daha fazla epididimal, retroperitoneal ve subkutan yağ kütlesi biriktirdikleri gösterilmiştir. Dahası bu hayvanlarda 6 aydan itibaren hiperkolesterolemi, hiperglisemi ve hiperinsülinemi gibi metabolik sendromun belirtileri görülmüştür (99). İlave olarak CT-1'in YYD ile indüklenen obez farelerde enerji ve lipid metabolizmasını kontrol eden bir molekül olduğu da ortaya konulmuştur (99).

Deneyssel bir çalışmada CT-1, fare beyinde mitokondriyal/sinaptik disfonksiyonun iyileştirilmesi ve AMPK aktivasyonu yoluyla insülin duyarlılığının

artırılması ile bilişsel eksiklikleri tersine çevirerek farelerin öğrenmesini ve hafızasını geliştirdiği gösterilmiştir. Yine mitokondriyal siklooksijenaz (COX) aktivitesini ve ATP düzeylerini artırarak, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimini azaltarak ve mitokondriyal membran potansiyelini artırarak mitokondriyal hasarı önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (98). CT-1'in enerji dengesini kontrol eden önemli bir sitokin olduğu ve CT-1'den yoksun farelerin, hiperglisemi, hiperinsülinemi ile birlikte obezite geliştirdiği gösterilmiştir (99).

CT-1'in akut ve kronik uygulaması, bağırsaklardan glikoz emilimini azaltarak hipoglisemik ve anti-obezite özellikleri sergilemektedir (100). Fakat insan ve rodent çalışmalarında obezite sırasında CT-1 seviyelerinin düzenlenmesi konusunda belirsizlikler olduğu vurgulanmıştır (101). Yapılan çalışmalar; CT-1'in gen ekspresyonunun diyetle bağlı obez farelerin beyaz yağ dokusunda aşağı regüle edildiği (102), fazla kilolu ve obez olan deneklerin, normal kilolu olanlardan önemli ölçüde daha düşük CT-1 seviyelerine sahip olduğu (103) gösterilmesine rağmen obezite ve metabolik sendromu olan hastalarda plazma seviyelerinin yükseldiği de gösterilmiştir (101,104–106).

3.2.2 İnflamatuvar adipokinler

3.2.2.1. FABP-4 (Yağ asidi bağlayıcı protein)

Yağ asidi bağlayıcı proteinin 1972'de ilk keşfinden bu yana (107) bu proteine ait çok sayıda üye tespit edilmiştir. Yağ asidi bağlayıcı protein 4, esas olarak adipositlerde ve makrofajlarda eksprese edilir (1). İnsülin direnci, ateroskleroz ve inflamasyonda kritik bir rol oynar. Dolaşımdaki FABP4 seviyeleri ile obezite, insülin direnci (108), hipertansiyon (109), dislipidemi (110), ateroskleroz (111) ve gibi metabolik risk faktörleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (112). FABP-4 ekspresyonu makrofajlarda TLR (Toll Like Receptor) aktivatörleri tarafından indüklenir (113).

Obezite, pankreas β hücrelerinden insülin sekresyonunu artırır. FABP4 de in vitro ve in vivo olarak insülin sekresyonunu teşvik eder ve dolaşımdaki yüksek FABP4 seviyeleri insanlarda glikozla uyarılan insülin sekresyonunu uyarır. Bunun tersine insülin farelerde ve insanlarda adipositlerden FABP4 salgılanmasını baskılar

(114). Bu veriler FABP4'ün, obezitede pankreas β hücrelerinden insülin salgılanmasını arttırdığını, adipoziteyle uyarılan bir β hücre aktivitesi gösterdiği, FABP4'ün obeziteyi yansıtabilen proinflamatuvar biyobelirteç olduğunu ortaya koymaktadır (1). Adiposit FABP'yi kodlayan aP2 geni olmayan farelerin gelişimsel ve metabolik olarak normal oldukları görülmüştür. aP2 gen yokluğu olan farelerde diyetle obezite geliştirilmiş, ancak kontrol farelerinin aksine insülin direnci veya diyabet geliştirmedikleri gösterilmiştir (115).

3.2.2.2. Visfatin

Visfatin ilk olarak lenfositlerden izole edilmiş olup pre-B hücresi koloni güçlendirici faktör (PBEF) olarak adlandırılmıştır (116). Obezite gelişimi sırasında plazmadaki ekspresyon seviyesi hem insanlarda hem de farelerde iç organ yağlarından bol miktarlarda izole edilmektedir. Visfatin hem in vivo hem de in vitro olarak insülin ile benzer özellikler göstermektedir (117).

İnsan ve fare yağ doku ve 3T3-L1 adipositlerinde yapılan çalışmalarda leptinin visfatinin düzenleyicisi olduğunu gösterilmiştir. Yağ dokuda leptin tarafından visfatin üretiminin düzenlenmesinde hem MAPK hem de PI3K sinyal yollarının önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Leptin ve visfatin, aralarındaki MAPK ve PI3K sinyal yollarını içeren karşılıklı iletişim nedeniyle adipogenez dahil olmak üzere çeşitli vücut fonksiyonlarında koordineli bir rol oynayabilir. Yağ dokudaki leptinin çeşitli etkileri kısmen visfatin tarafından, aynı şekilde, visfatinin çeşitli fonksiyonları da kısmen leptin tarafından yönlendirilebilir (118).

Adipositlerde tanımlanan visfatin mRNA'larda CD14⁺ monosit hücrelerinde bulunmuştur. Artan vücut kitle indeksi ile visseral beyaz yağ dokuda CD14⁺ hücrelerinin arttığı gösterilmiştir (119). Bu da visseral beyaz yağ dokunun obezitede proinflamatuvar bir durum geliştirdiğini ve makrofaj birikiminin ise obezitede visfatinin yanı sıra kemokin üretiminden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (119). Plazma visfatin ve RBP-4 (Retinol bağlayıcı protein4) konsantrasyonları, VKİ, bel/kalça oranı, insülin ve HOMA IR (Homeostatik Model Değerlendirmesi İnsülin

Direnci), diyabetik hastalarda visceral yağ ve karaciğer yağı ile pozitif korelasyon gösterdiği de bulunmuştur (120).

İnflamatuvar barsak hastalıkları olan kişilerde dolaşımdaki visfatin seviyeleri yükselmektedir (121,122). Visfatinin, insan monositlerinde pro- ve anti-inflamatuvar sitokinler IL-1 β , IL-6, IL-10 ve TNF- α 'nın üretimini doza bağlı olarak arttırdığı gösterilmiştir (122). Bunlar visfatinin proinflamatuvar sinyale aracılık ettiğini göstermektedir. Visfatin, bir fosforibosil transferaz (NAMPT: nicotinamide phosphoribosyltransferase) enzimi olan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) sentezinde kritik bir rol oynar. NAMPT aracılı NAD⁺ biyosentezinin yüksek yağlı diyet ve yaşlanma ile bozulduğu ve T2DM'nin patogeneze katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, nikotinamid mononükleotidi (NMN) 'i uyararak NAD⁺ biyosentezini teşvik etmenin, diyet ve yaşa bağlı T2DM patofizyolojisini tedavi etmek için etkili olabileceği gösterilmiştir (123). Visfatin, beta hücresi apoptozunu inhibe ederek ve beta hücresi proliferasyonunda ve fonksiyonunda faydalı bir rol oynamaktadır. Özetle, visfatinin proinflamatuvar bir aracı olduğu bunun yanında NMN üretimi ile NAMPT aracılı NAD⁺ biyosentezi gibi fizyolojik ve beslenme koşullarına bağlı olarak yararlı etkiler de gösterebileceği düşünülmektedir (1).

3.2.2.3. Vaspin

Viseral adipoz dokudan türetilmiş serpin (vaspin), serin proteaz inhibitör ailesinin bir üyesidir (124,125). Yağ doku (125), karaciğer, iskelet kası, pankreas (126), mide (127) ve cilt altı gibi çeşitli dokular tarafından da üretilmektedir (128). Vaspinin hem abdominal obezite hem de vasküler komplikasyonların patogeneze katılabileceği ileri sürülmüştür (124). Vaspin tedavisinin esas olarak BYD'de gen ekspresyonunu normalleştirerek insülin duyarlılığını geliştirdiği görülmektedir (125). Vaspin ekspresyonu visceral adipoz dokulara özgü olmakla birlikte dolaşımda da bulunmaktadır. Hem obezitenin zirvesinde hem de insülin direncinde 30 hafta kadar bir süre içerisinde arttığı ve Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF 1984'te keşfedilen poliüri, polidipsi, hipertansiyon, dislipidemi ve hafif obeziteye sahip spontan diyabetik bir sıçan türü (129)) sıçanlarında diyabetin kötüleşmesi ile (50. Hafta) azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada potansiyel antiproteaz özelliklerine sahip

olan vaspin özellikle BYD'da insülin etkisini hassaslaştırarak diyabetik/obez metabolik sendromda görülen bazı anormallikleri iyileştirdiği ileri sürülmüştür(125).

Serum vaspin konsantrasyonları ile VKİ ve insülin duyarlılığı arasında önemli bir korelasyon bulunmuş, obezite ve bozulmuş insülin duyarlılığı için faydalı bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (130). Serum vaspin konsantrasyonlarının T2DM-obezlerde, T2DM-zayıf ve diyabetik olmayan obezlere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (131). Vaspinin hipotalamusta bulunduğu ve sağlıklı bireylerin beyin omurilik sıvısında tespit edilebileceği gösterilmiş ve hem periferik hem de merkezi vaspin uygulamasının, obez (db/db) ve zayıf C57BL/6 genetik farelerinde gıda alımını azalttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında vaspinin anti-oreksijenik faktörü bozan bir proteazı inhibe ettiği hipotezi ileri sürülmüştür (127,132). Ayrıca, adipoz dokudan artan vaspin seviyelerinin hipotalamusta (muhtemelen leptin ve adiponektin ile uyum içinde) adipostatik bir sinyal sağlamak ve anorektik yollar oluşturmak için hareket edebileceği ileri sürülmüştür (132). İntra serobro ventriküler (ICV: 0.25 ug h) vaspinin hem obez hem de zayıf sıçanlarda ilk gün gıda alımında önemli oranda geçici azalmaya neden olduğunu ve daha sonra bu etkinin her iki gruptaki hayvanlarda tersine döndüğünü bulunmuş ve vaspinin gıda alımının merkezi düzenlenmesinde bir rolü olduğu öne sürülmüştür. ICV vaspininin, yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda daha yüksek bir metabolik hıza yol açtığını gösterilmiştir. Yazarlar yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda bozulmuş olan glukoz homeostazı ve insülin sinyallemesinin düzenlenmesinde ICV vaspin'in önemli rolü olduğunu vurgulamışlardır (133). Vaspinin glikoz düşürücü etkisini insülin yarı ömrünü arttırmak suretiyle gerçekleştirdiği gösterilmiştir Bu durumun vaspin-hK7 (human kallikrein 7) kompleksinin oluşumu ile dolaşımdaki insülin bozulmasının gecikmesine katkıda bulunduğu ve dolaşımdaki insülin konsantrasyonlarını sabit tutarak insülin aracılı glikoz alımının iyileşmesine yol açtığı belirtilmiştir (134). Bu bulgular, vaspin'in obezite ve T2DM tedavisi için umut verici bir hedef olabileceğini göstermektedir (1).

3.2.2.4. Asprosin

Asprosin, hepatik glikoz salınımını modüle eden açlık kaynaklı protein bir hormondur. Beyaz yağ doku tarafından salgılanan asprosin, profibrilinin C-terminal bölünme ürünüdür. Asprosinin kritik işlevi hepatik glikoz üretimi ve iştahın uyarılmasıdır. Plazma asprosinin, beslenmenin başlangıcına denk gelen zamanlarda akut bir düşüşle birlikte sirkadiyen salınım gösterdiği bulunmuştur. Bakteriyel olarak eksprese edilen rekombinant asprosinin endojen olarak eksprese edilen asprosin ile aynı biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve tek doz rekombinant asprosinin farelerde kan glikozunu ve insülini yükselttiği gösterilmiştir (135).

Asprosin tedavisinin, hepatik glikoz salınımını indüklediği bilinen katabolik hormonların (glukagon, katekolaminler ve glukokortikoidler) plazma seviyeleri üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Asprosin etki alanının karaciğer olduğunu göstermek için hiperinsülinemik-öglisemik klempt uygulanan çalışmada yüksek plazma asprosinin hepatik glikoz üretiminde artışa neden olduğu açıkça ortaya koyulmuştur. Asprosinin hem in vivo hem de in vitro olarak G protein-cAMP-PKA eksenini kullanarak hepatik glukoz salınımını arttırdığını gösterilmiştir. İnsülin direnci olan insan deneklerde plazma asprosin düzeylerinin patolojik olarak yükseldiği gösterilmiştir (135). Asprosinin intraserebroventriküler enjeksiyonu yoluyla doğrudan beyin omurilik sıvısına girmesi üzerine oreksijenik bir etkisi olduğu kaydedilmiştir. Asprosinin, istirahat membran potansiyelini ve ateşleme sıklığını azaltarak POMC + nöronlarının yaklaşık %85'ini akut olarak inhibe ettiği bulunmuştur. Aynı şekilde doza bağımlı olarak AgRP+ (Agouti-related protein) nöronlarının ateşleme frekansı ve istirahat membran potansiyelini aktive ettiği gösterilmiştir. Anti-asprosin antikorunun uygulanması ile asprosinin bu etkileri doğrulanmak istenmiş ve monoklonal asprosin antikoru ile tedavi sonrasında asprosinin AgRP+ nöronlarını aktive etme ve POMC+ nöronlarını inhibe etme kabiliyetini tamamen nötralize ettiği bulunmuştur. Bu durum obez farelerde gıda alımı ve vücut ağırlığında azalma ile sonuçlanmaktadır. Özetle asprosin açlıkla yükselen, beslenmeyle azalan ve tüm vücudun enerji durumuna son derece duyarlı olan glukojenik ve oreksijenik bir hormondur. (136).

3.3. Sitokinler

Sitokinler, küçük, yapısal olmayan proteinlerdir. Bunlar, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi, hücre büyümesi, farklılaşması, ölümü, anjiyogenez ve homeostazın düzenlenmesini amaçlayan gelişim ve onarım süreçlerinde görev alan hücrelerin önemli hücre içi düzenleyicileri ve mobilizatörleridir (137). Başlangıçta hücreler kaynaklarını belirtmek için lenfokinler ve monokinler olarak adlandırılmış fakat neredeyse tüm çekirdekli hücreler bu proteinleri sentezleme ve buna karşılık onlara yanıt verme yeteneğine sahip olduğundan, "sitokin" teriminin en iyi tanım olduğu ortaya çıkmıştır (138). Eritrositler hariç, her hücre bir sitokine yanıt vermenin yanı sıra sitokin üretebilir (139). Sitokinler çoğunlukla hastalığa veya enfeksiyona karşı konakçı tepkilerinde birincil olarak rol oynar. Bazı sitokinler inflamasyonu destekler ve proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırken, diğer sitokinler proinflamatuvar sitokinlerin aktivitesini baskılar ve antiinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılır. Buna rağmen sitokinleri bu şekilde sınıflandırırken dikkatli olmak gerekir çünkü biyolojik sürece bağlı olarak herhangi bir sitokin farklı roller üstlenebilir (138).

Bağışıklık sisteminin proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinleri arasında dinamik ve sürekli değişen bir denge vardır. Herhangi bir sitokinin net etkisi, sitokin salınımının zamanlamasına, etki ettiği ortama, antagonist veya sinerjistik elemanların varlığına, sitokin reseptör yoğunluğuna ve her bir sitokine karşı doku yanıtına bağlıdır (140).

Obezite ile ilişkili inflamasyonda hiperplazik ve hipertrofik adipositler, proinflamatuvar adipokinleri sentezler, makrofajlar, M2'den M1 makrofajlarına polarizasyonun arttığı YD ya göç eder. TH2/TH1 oranı ve düzenleyici T (Treg) hücre aktivitesi azalır. Bu süreçlerin, obezitede anti-inflamatuvar özelliklere sahip sitokinlerden pro-inflamatuvar sitokinlere doğru seviyelerinde bir kaymaya yol açtığı ileri sürülmektedir (141).

3.4. Probiyotikler

Beslenme ve diyet içeriği metabolik fonksiyonlarda pek çok değişiklik yapmanın yanı sıra bağırsak mikrobiyota bileşiminin üzerine de pek çok etkileri vardır. Beslenme ile ilgili yeni yaklaşımlar, bağırsak ekolojisinin veya spesifik mikrobiyal türlerin manipölasyonunu da önermektedir (10).

İnsanlarda deri ve vücut boşluklarında bulunan çok sayıda bakteri, virüs ve mantar gibi mikroorganizmaların hepsi mikrobiyata olarak adlandırılmaktadır. İnsan sağlığı ve hastalık riski üzerindeki çevresel etkinin önemli bir bölümünün mikrobiyata tarafından şekillendirilebileceği veya değiştirilebileceği görölmektedir. (142). Bağırsak mikrobiyotası, iltihaplı bağırsak hastalıkları ve irritabl bağırsak sendromu gibi lümen hastalıklarından, obezite ve diyabet gibi metabolik hastalıklara, alerjik hastalıklardan nörogelişimsel hastalıklara kadar değişen geniş hastalıklar dizisi ile ilişkilendirilmiştir (143).

Prebiyotikler, kolondaki bir türün veya sınırlı sayıdaki bakteri türünün büyümesini ve aktivitesini uyarak konakçıyı faydalı bir şekilde etkileyen sindirilemeyen ancak fermente olabilen gıdalar olarak tanımlanır (144). “Probiyotiklerin Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneęine göre tanımı “yeterli miktarlarda uygulandıklarında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır” şeklindedir” (145). Probiyotikler, metabolik sendroma bağlı kronik düşük dereceli inflamasyonu önlemek için immün sistemin düzenlenmesinde proaktif bir rol oynayabilir (10). Probiyotik bakterilerin çeşitli yararlı etkileri arasında;

- a) gıda ürünlerinin besin değerini artırmak,
- b) serum kolesterolünü kontrol etmek ve azaltmak,
- c) bağışıklık sistemini iyileştirmek,
- d) bağırsak enfeksiyonlarını önlemek ve antibiyotikle ilişkili ishali azaltmak ve ortadan kaldırmak,

e) laktoz intolerans semptomlarının azaltmak,

f) kolon kanseri riskinin azaltmak ve

g) probiyotik suş tipine bağlı olan gluten içeren gıdalardaki gliadinin çölyığa karşı sindiriminin iyileştirilmesi sağlamak sayılabilir (146).

Probiyotiklerin gastrointestinal patojenlere karşı koruyucu bir rol oynamasına rağmen yararlı etkilerini sergileyebilmeleri için 1- patojenlerle yapışma bölgeleri ve beslenme kaynakları için rekabetçi olması, 2- antimikrobiyal maddelerin salgılanması, 3- bağırsak bariyer fonksiyonunun artırılması ve 4- immünomodülasyon etkilerine sahip olmaları gerekmektedir (147). Bunun yanında probiyotik seçiminde dikkat edilmesi gereken bazı noktalar da vardır. Öncelikle seçilecek probiyotik suşunun vücutta karşılaşıacağı koşullara karşı dirençli olması gerekmektedir. Bu koşulların başında ağızda bulunan sindirim enzimleri gelmektedir. Probiyotik suşlarının bu noktadan sonra vücut sıcaklığı, düşük mide pH'sı ve safra tuzlarına dayanıklı olması gerekmektedir. Bunların yanı sıra yapışma yeteneği, anti-patojenik aktivite ve güvenlik değerlendirmelerinden geçmesi gerekmektedir (148). Ayrıca yapılan bir meta-analiz ile probiyotik ürünlerin etkinliğinin hem türe özgü hem de hastalığa özgü olduğu gösterilmiştir. Uygun probiyotik seçiminde suşların hedeflenen hastalık veya durum ile eşleşmesi, formülasyonu, kullanılan dozu ve kaynağının da önemli faktörler olduğu vurgulanmıştır (149). Faydalı etkilerine rağmen Kothari ve arkadaşlarının kaleme aldıkları derlemede probiyotiklerin düzensiz ve kontrolsüz kullanımı bağırsak patojenlerine bağlı enfeksiyon ve antibiyotik direnci aktarımı gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olduğu bildirilmektedir (150).

Bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı bireylerde, bağırsak mukozası ile simbiyotik bir ilişki içerisinde immünolojik, metabolik ve koruyucu işlevleri bulunmaktadır. Besinlerini diyet bileşenlerinden ve dökülen epitel hücrelerinden elde eden bağırsak mikrobiyotası, kendi başına geniş bir metabolik kapasiteye ve önemli fonksiyonel yapıya sahip olduğu belirtilmiştir (151).

Bağırsak mikrobiyomu, sindirilemeyen diyet bileşenlerinin fermentasyonu, mikro besinlerin sentezi, merkezi sinir sistemi ile etkileşimler yoluyla açlığın

uyarılması ve konakçı besin sindirimi ve metabolizmasının modülasyonu dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla konakçı beslenme durumunu etkileyebilmektedir. Bu potansiyelden yararlanmak, çocukların yetersiz beslenmesini önlemeye veya tedavi etmeye yardımcı olacak stratejilerde rol oynayabilir (152). Kemik büyümesinin, probiyotik *L. rhamnosus* GG ve diğer bağırsak mikropları tarafından üretilen kısa zincirli bir yağ asidi (KZYA) olan butirat tarafından uyarılabileceğini gösterilmiştir. Butiratın kemik iliği Treg hücrelerini uyararak kemik gelişimi üzerine anabolik etkili olan Wnt10b'nin salgılanmasını sağlayarak kemik oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (153).

Lactobacillus rhamnosus GG, *Lactobacillus casei* gibi birkaç probiyotik bakteri proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (154,155). Probiyotikler bağırsakta dendritik hücrelerin olgunlaşmasını, bağırsak epitel hücreleri ve dendritik hücreler üzerindeki TLR ekspresyonundaki değişiklikler (156), inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltılması (157), anti-inflamatuvar sitokinlerin üretiminin uyarılması, T yardımcı hücrelerin Th2 hücrelerine farklılaşmasının indüksiyonu (158) aracılığı ile antiinflamatuvar etki gösterebilirler (12). Probiyotiklerin, adipoz dokudaki adipokin sekresyonunu uyaran kronik inflamasyonu baskıladığı ve makrofaj aracılı proinflamatuvar sitokinlerin inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir (159).

Yağ doku kaynaklı adipokin seviyelerindeki değişikliklerin obezite ile ilgili sağlık problemlerini değerlendirmek için uygun birer biyobelirteç olarak kullanılabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Probiyotiklerin bilinen birçok yararlı etkilerinin yanında hipertorfiye uğramış yağ dokuda adipokin seviyelerini uyararak kronik inflamasyonu engellediği ve proinflamatuvar sitokin üretimini baskıladığı göz önünde bulundurulduğunda metabolik hastalıkların tedavisi için probiyotik ve adipokin ikilisinin terapotik bir hedef olabileceği ümidini vaat etmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda *L.rhamnosus* GG'nin yüksek kalorili beslenme alışkanlığına bağlı olarak adipokin seviyelerini nasıl etkilediğini araştırmayı amaçladık.

4. MATERYAL-METOD

4.1. Etik Kurul İzni

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar 2019/8-14). Hayvanların yaşam koşulları ve deneyler Merkezi ve Yerel Etik Kurulların ilgili yönetmeliklerine uygun olarak yapıldı. Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar ve Uygulama Merkezinde sorumlu Veteriner Hekimler gözetiminde gerçekleştirildi.

4.2. Hayvan Modeli ve Gruplar

Çalışmada toplam 40 adet wistar albino türü 5-6 haftalık erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar bir hafta adaptasyon sürecine tabi tutulduktan sonra rastgele 4 gruba ayrıldı, deneme süresince yem ve suları ad libitum olarak sağlandı. Sıçanlar 12/12 saat karanlık/aydınlık döngüsü ile nem ve sıcaklıkları sırasıyla %60-70 ve 23°C olacak şekilde Hatay MKU Deneysel Araştırma Merkezinde barındırıldı. Yaşam koşulları korunurken ve deneyler yapılırken Merkezi ve Yerel Etik Kurulların ilgili yönetmeliklerine uyuldu. Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 2019/8-14 numaralı izni ile yapıldı.

Kontrol grubu 1 (K): Toplam 10 sıçandan oluşturuldu. Bunlar ticari sıçan diyeti (Bil-Yem[®], 12% yağ, 60% karbonhidrat ve 28% protein; 2700 kcal) ile 16 hafta beslendi ve ağırlıkları haftalık kayıt altına alındı.

Kontrol grubu 2 (KP): Toplam 10 sıçandan oluşturuldu. Bunlar ticari sıçan diyeti (Bil-Yem[®], 12% yağ, 60% karbonhidrat ve 28% protein; 2700 kcal) ve probiyotik ilavesi (*Lactobacillus rhamnosus* GG (LbGG)1x10⁹) ile 16 hafta beslendi ve ağırlıkları haftalık kayıt altına alındı.

Deney grubu 1 (Batı diyeti: D): Toplam 10 sıçandan oluşturuldu. Bu sıçanlara D12451 numaralı araştırma diyeti formülasyonuna göre hazırlanmış yüksek enerjili batı diyeti ile (%45 yağ, %35 karbonhidrat %20 protein; 5000 kcal) ile 16 hafta beslendi ve ağırlıkları haftalık kayıt altına alındı.

Deney grubu 2 (Batı diyeti+probiyotik: DP): Toplam 10 sıçandan oluşturuldu. D12451 Araştırma Diyeti formülasyonuna göre hazırlanmış yüksek enerjili batı diyeti ile (%45 yağ, %35 karbonhidrat %20 protein; 5000 kcal) ve probiyotik ilavesi (*Lactobacillus rhamnosus* GG (LbGG) 1×10^9) ile beslendi ve ağırlıkları haftalık kayıt altına alındı. Çalışmanın sonunda tüm gruplarda aynı şekilde anestezi altında (Xylasine 10 mg/kg ve Ketamin HCl 75 mg/kg) (160) kalpten kanları alınarak sakrifiye edildi. Kan örneklerinin pıhtılaşması için 30 dakika oda ısısında bekletildi ve +4 °C'de 15 dk 4000xg'de santrifüj edildi. Alınan serum örnekleri analizler yapılana kadar -80°C de muhafaza edildi.

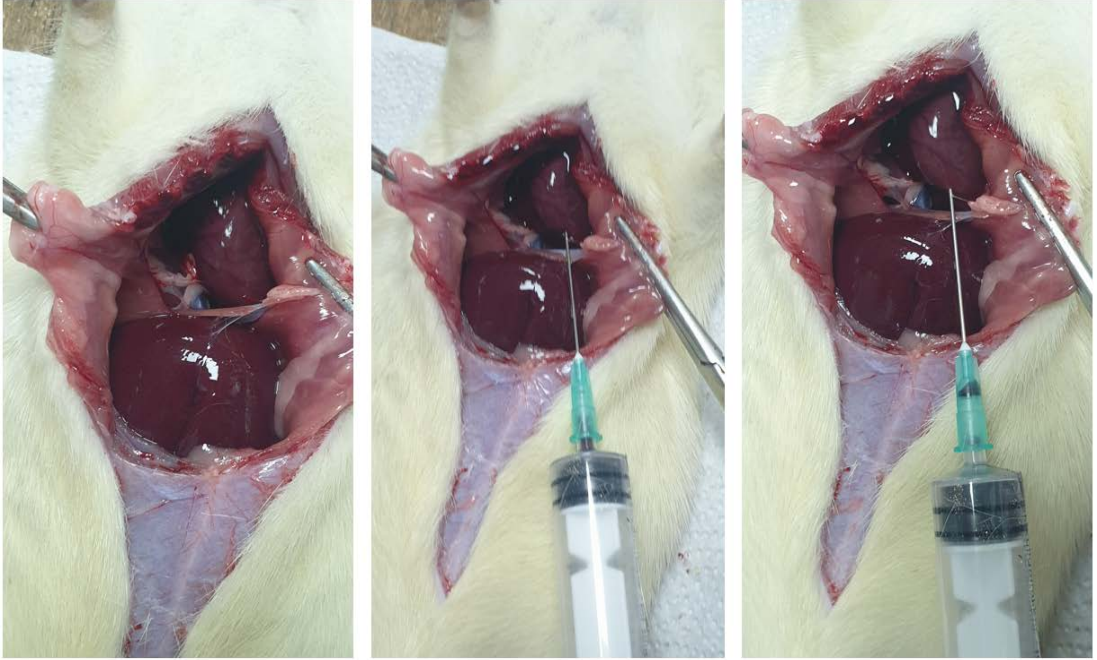
Resim 4-1. HMKÜ Deney Araştırma Merkezi



Resim 4-2. Oral gavaj uygulaması



Resim 4-3. Sıçanların kardiyak kan alma yöntemi ile sakrifiye edilmesi



4.3. Diyet

Öncelikle çalışmada kullanılacak sıçanların kilo kontrolleri yapılarak gruplar arasında kilo farkı minimum olacak şekilde rastgele dört gruba ayrıldı ve bir hafta adaptasyon sürecine tabi tutuldu.

Çalışmada 2 türlü diyet kullanıldı. Bunlardan ilki ticari sıçan yemi olup 12% yağ, 60% karbonhidrat ve 28% protein (2700 kcal) içermektedir. Batı diyeti modeline uygun olarak hazırlanan diyetimiz ise 5000 kcal ve %45 yağ, %35 karbonhidrat %20 protein içermektedir. Kullandığımız probiyotik tek bir suş içeren ticari *Lactobacillus rhamnosus* GG olup 1 damlasında 1×10^9 aktif bakteri içeriğine sahipti.

Günlük olarak taze ve temiz su ad libitum olarak sağlandı. Yüksek kalorili batı diyeti bir sıçanın tüketeceği yem miktarı göz önünde bulundurularak 2-3 günlük olacak şekilde taze hazırlandı ve oda sıcaklığında (+20-23°C) muhafaza edildi.

4.4. Kilo Kazanımları-Vücut Kitle İndeksi

Vücut Kitle İndeksi (VKİ) Hesaplamaları:

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların kilo kazanımları ve nazo-anal uzunlukları haftalık olarak kayıt altına alındı. Ayrıca vücut kondüsyon skorları belirlendi (161,162). Bu kayıtlar kullanılarak VKİ aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$VKİ = \frac{\text{Vücut Ağırlığı (gr)}}{(\text{Nazo-Anal Uzunluk})^2 (\text{cm}^2)}$$

4.5. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Deneylerde için kullanılan araç ve gereçler aşağıda listelenmiştir:

DF290 Derin Dondurucu (Nüve Sanayi Malz. İma ve Ticaret A.Ş. Türkiye)

NF800 Masaüstü Santrifüj (Nüve Sanayi Malz. İma ve Ticaret A.Ş. Türkiye)

FN400 Etüv (Nüve Sanayi Malz. İma ve Ticaret A.Ş. Türkiye)

Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO, Portugal)
BMG LABTECH Microplate reader SPECTROstar Nano (Germany)

ELISA analizlerinde kullanılan ticari kitlerin katalog numaraları;

Adiponectin Elisa Kit: ER0006 (FineTest China)
Omentin- 1 Elisa Kit: ER1117 (FineTest China)
SFRP-5 Elisa Kit: ER1945 (FineTest China)
Cardiotrophin-1 Elisa Kit: ER0868 (FineTest China)
FABP-4 Elisa Kit: ER0249 (FineTest China)
Visfatin Elisa Kit: ER1427 (FineTest China)
Vaspin Elisa Kit: ER1420 (FineTest China)
Asprosin Elisa Kit: ER1944 (FineTest China)
IL-1 β Elisa Kit: ER1094 (FineTest China)
IL-4 Elisa Kit: ER0041 (FineTest China)
IL-6 Elisa Kit: ER0042 (FineTest China)
IL-10 Elisa Kit ER0033 (FineTest China)
IL-11 Elisa Kit: ER0093 (FineTest China)
TNF- α Elisa Kit: ER1393 (FineTest China)

4.6. Örneklerin Analizlerinin Yapılması

4.6.1. Biyokimyasal analizler

Biyokimyasal analizlerin tamamı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında yapıldı.

Rutin biyokimyasal parametreler otoanalizatör ile spektrofotometrik olarak yapıldı ve alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), alkalen fosfotaz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), albümin (ALB), total bilirubin (TBIL), kolesterol (Chol), lipaz, total protein (TP), trigliserid (TG), kreatin kinaz (CK), direk bilirubin (DBIL) ve lipaz (LIP) parametreleri için sonuç belirlendi. Açlık glukoz ölçümleri şeker ölçüm cihazı ile yapıldı.

4.6.2. Elisa analizleri

Serum örneklerinin analizi ELİSA yöntemi ile yapıldı. Yapılan analizler ticari kitin prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi

ELISA yöntemi ile serum örneklerinde Vaspın, Visfatin, Omentin, CT1, Adiponektin, SFRP5, Asprosin, Fabp4, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-4, IL-11 ve TNF α analizleri yapıldı.

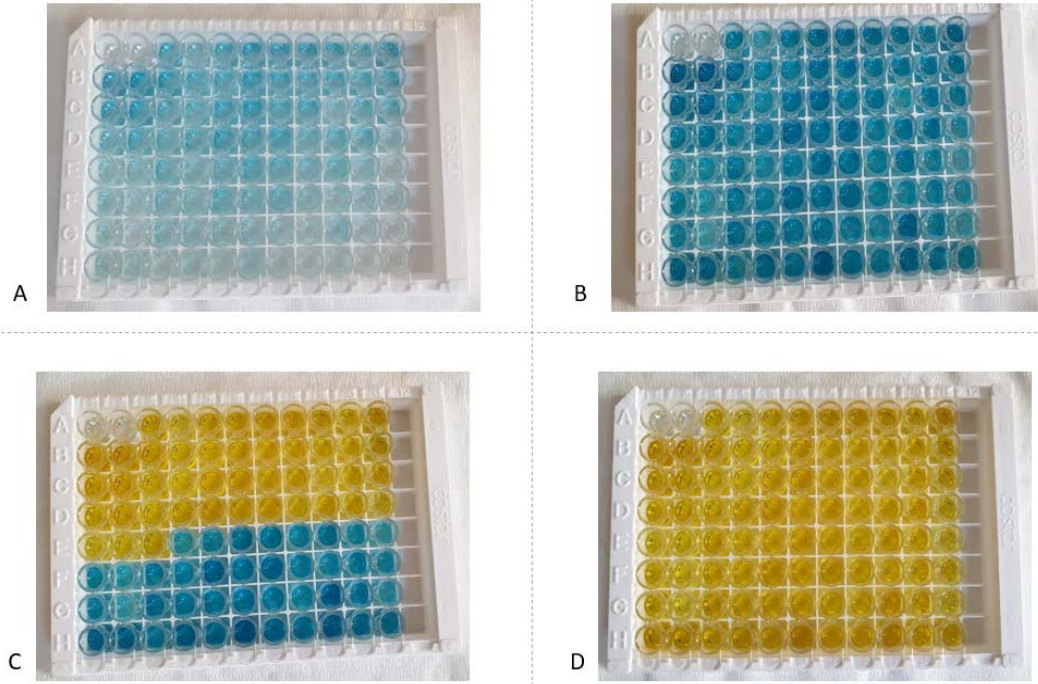
İşlemlerin sonucunda tüm hesaplamalar MARS Data Analysis Software programından elde edilen standartlara uygun olarak yapıldı.

Resim 4-4 Elisa analiz aşamaları



A. Fizyoloji Elisa laboratuvarı, B. Elisa plate yükleme, C. Santrifüj ve etüv, D. Elisa mikropılaka okuyucu

Resim 4-5 Elisa analiz aşamaları (Standart, kontrol, örneklerin kuyucukları konulması, reaksiyonu sonlandırma ve okuma)



4.7. İstatistiksel Analizler

Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmeler için Windows SPSS 22,0 paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildi. Normal dağılım göstermeyen veriler için nonparametrik Kruskal Wallis testi uygulandı ve $p < 0,05$ olanlar için post hoc Tamhane testi ile gruplar arası farklılıklar tespit edildi. Normal dağılım gösteren parametreler için parametrik ANOVA testi uygulandı ve $p < 0,05$ için önemli kabul edildi. Tablolar ortalamalar ile standart sapma ($\text{mean} \pm \text{SD}$) ve bununla ilişkili Asymp. Sig (2-tailed) değeri p değeri ($p < 0,05$ için önemli) kullanılarak oluşturuldu.

5. BULGULAR

5.1. Fiziksel Bulguların Değerlendirilmesi

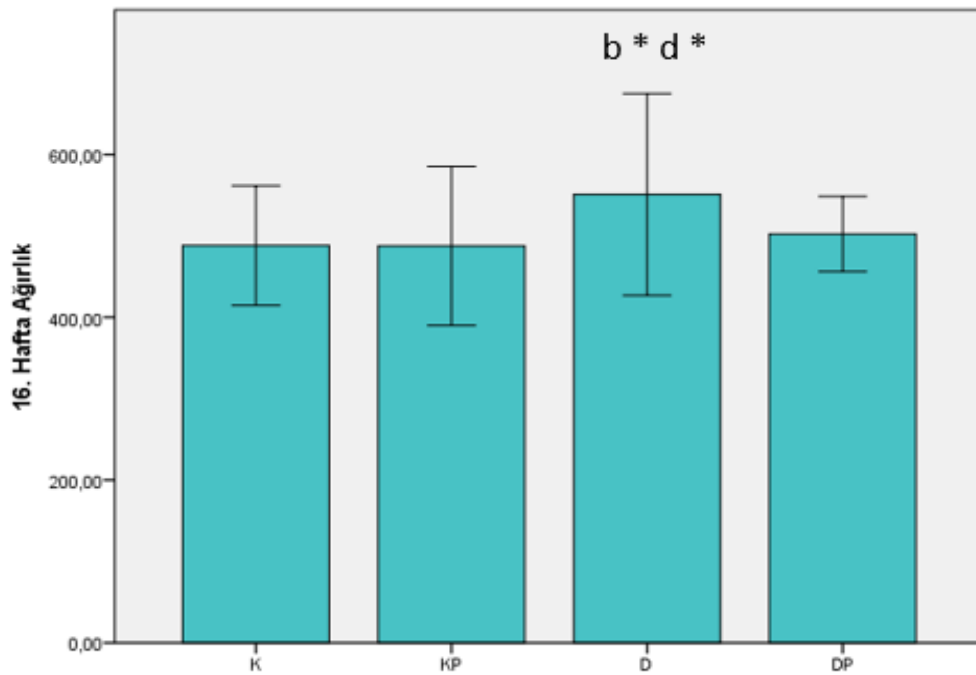
5.1.1. Vücut ağırlıkları

Deneyde kullanılan sıçanların vücut ağırlıkları çalışmanın başlangıcında ölçülerek ağırlık ortalamalarına göre farklılık olmayacak şekilde gruplara ayrıldı (Tablo 5.1). Çalışmanın başında ve çalışma boyunca her hafta aynı gün aynı saatte ağırlıkları kaydedildi.

Tablo 5.1 Vücut Ağırlıkları Değişimleri ($p<0,05$ için anlamlıdır).

Ağırlık (gr)	K	KP	D	DP	p
Başlangıç	122,02±21,10	131,30±14,02	125,83±27,69	123,00±11,64	0,719
16. Hafta	488,06±36,77	487,56±48,82	550,88±61,95	502,28±23,14	≤0,01

Değerler, ortalama±standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-1. 16. Hafta Ağırlık Grafiği

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,05$, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,05$. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Çalışmada kullanılan ve 16 hafta beslenen 40 adet wistar albino türü sıçan için vücut ağırlıklarının değişimleri 8-10. haftalara kadar eşit oranlarda artma gösterdi

(veriler gösterilmemiştir). Son hafta ağırlık ortalamaları K grubu 488,06±36,77, KP grubu 487,56±48,82, D grubu 550,88±61,95 ve DP grubu 502,28±23,14 (gr) olarak ölçüldü. Özellikle son haftalarda batı diyeti ile beslenen D grubunda gözlenen kilo kazanımı K ve KP gruplara göre daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Diyet grubu K grubuna göre daha yüksek ağırlıklarda ve arasındaki fark $p<0,005$, KP grubuna göre daha yüksek ağırlıklarda olup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulundu (Şekil 5.1). DP grubu ile D grubu ağırlıkları benzer olmasına rağmen DP grubunda azalma eğilimindeydi. (Tablo 5.1). DP grubu ile K ve KP grupları ağırlıkları benzer ve aralarında anlamlı farklılık bulunmadı.

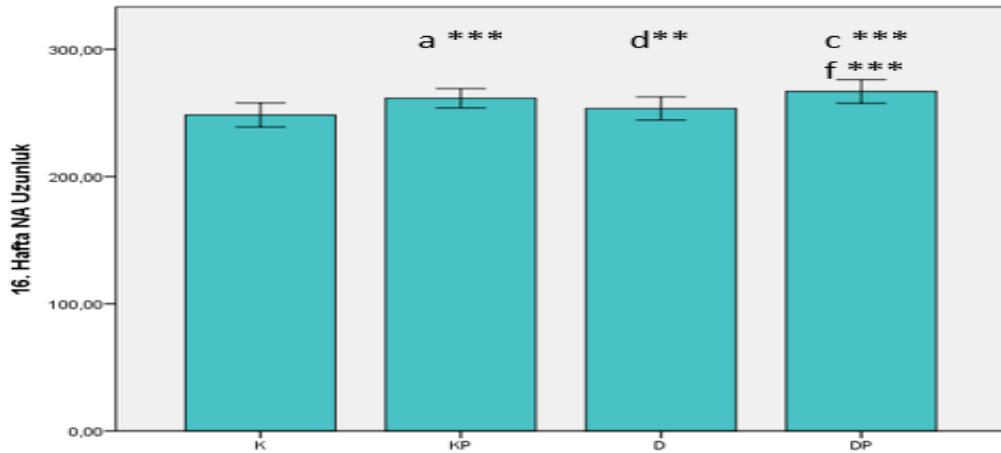
5.1.2. Nazo-anal Uzunluk

Çalışmada kullanılan sıçanların nazo-anal uzunlukları benzer olacak şekilde gruplara ayrıldıktan sonra her hafta aynı gün ve aynı saatte ölçülmek suretiyle kayıt altına alındı.

Tablo 5.2 Nazo-Anal Uzunluk Değişimleri ($p<0,05$ için önemlidir).

Boy (mm)	K	KP	D	DP	p
Başlangıç	153,10±10,343	157,90±5,11	152,40±14,14	147,1±6,00	0,115
Son	248,40±4,718	261,50±3,81	253,50±4,58	266,9±4,61	0,000

Değerler, ortalama±standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-2. 16. Hafta Nazo-Anal uzunluk grafiği.

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,001$, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,001$, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,01$, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,001$. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Sıçanların son hafta nazo-anal uzunlukları K grubunda $248,40 \pm 4,718$, KP grubunda $261,50 \pm 3,81$, D grubunda $253,50 \pm 4,58$ ve DP grubunda ise $266,9 \pm 4,61$ (mm) olarak ölçüldü. İstatistik sonuçlarına göre probiyotik takviyesi ile beslenen KP ve DP gruplarında nozo-anal uzunluklarda artış gözlemlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 5.2). Probiyotik takviyesi alan KP ve DP grupları K grubuna göre daha uzun ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Aynı şekilde D grubuna göre daha uzun olan KP ve DP grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0,01$ ve $p < 0,001$) (Şekil 5.2). KP ve DP gruplarında probiyotik takviyesinin boy uzamasına pozitif yönlü anlamlı katkı sağlayabileceği görülmektedir.

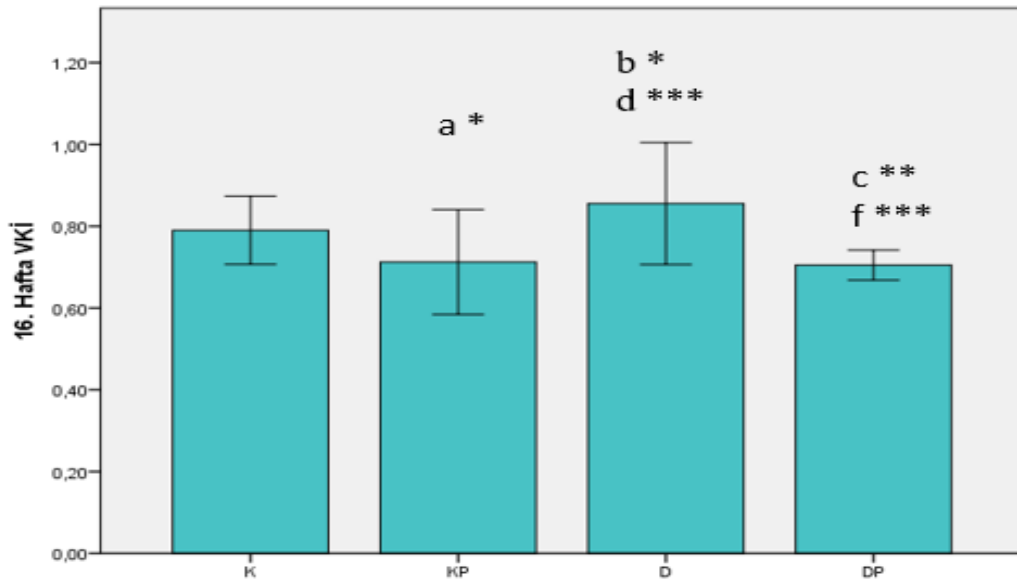
5.1.3. Vücut kitle indeksi değişimleri

Deney hayvanlarının başlangıç ağırlık ve nazo-anal uzunlukları birbirlerine benzer olacak şekilde ayarlandığından dolayı başlangıç VKİ değerleri de benzerdi. Vücut kitle indeksleri hesaplaması ağırlıklarının (gram) nazo-anal uzunluklarının (cm) karesine bölünerek hesaplandı.

Tablo 5.3. VKİ Değişimleri ($p < 0,05$ için önemlidir).

VKİ	K	KP	D	DP	P
Başlangıç	$0,52 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,14$	$0,57 \pm 0,06$	0,507
Son	$0,79 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,06$	$0,86 \pm 0,07$	$0,70 \pm 0,02$	0,000

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-3. 16. Hafta VKİ grafiği

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,05$, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır $p=0,05$, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,01$, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,001$, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır $p<0,001$. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Vücut kitle indeksi değişimleri; vücut ağırlıklarına paralel olarak değişim göstererek, özellikle son haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hesaplanan değerler K grubu için $0,79\pm0,04$, KP grubu için $0,71\pm0,06$, D grubu için $0,86\pm0,07$ ve DP grubu için ise $0,70\pm0,02$ olarak ölçüldü. En yüksek VKİ seviyesi batı diyeti ile beslenen D grubunda tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 5.3). Kontrol grubu ile bütün gruplar arasında anlamlı fark bulundu (K-KP için $p<0,05$, K-D için $p=0,05$ ve K-DP için $p<0,01$). Batı diyeti ile beslenen D grubu ile probiyotik takviyesi alan gruplar (KP ve DP) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$) (Şekil 5.3). Bu sonuçlar probiyotik takviyesinin VKİ değerlerinin düşürülmesi noktasında anlamlı katkısı olabileceğini göstermektedir.

5.2 Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi

5.2.1. Açlık kan glikoz düzeyleri

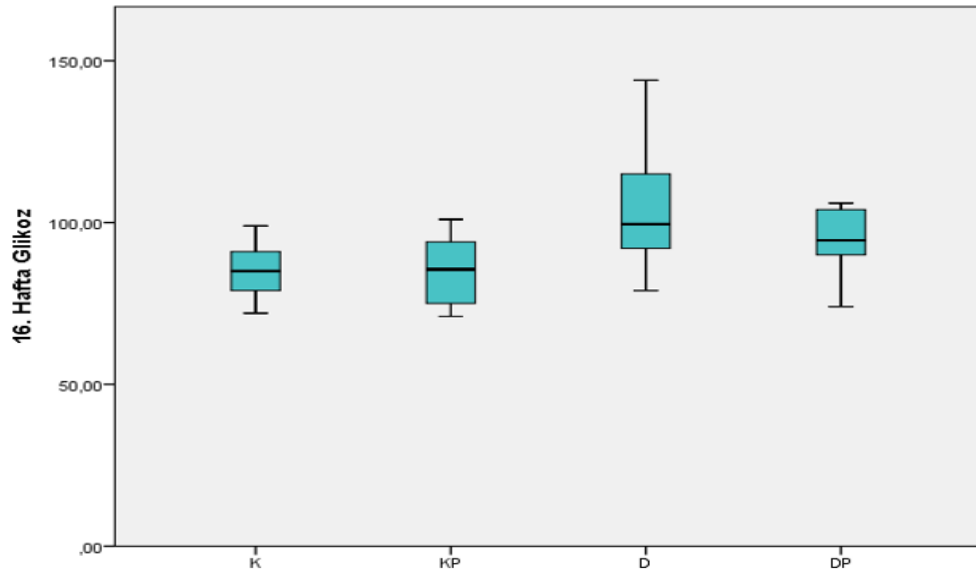
Çalışmanın başlangıcında tüm sıçanların açlık glikoz seviyeleri hızlı strip ile ölçüldü. Bu çalışmanın ilerleyen haftalarında diyetin ve probiyotik takviyesinin açlık glikoz seviyeleri üzerine etkisini görmek açısından önemliydi. Açlık glikoz

seviyeleri sıçanların ortalama 12 ± 2 saatlik açlık periyotlarından sonra ve her haftanın aynı gün ve saatinde ölçüldü.

Tablo 5.4. Açlık Kan Glikoz Değerleri ($p < 0,05$ için önemlidir).

Glikoz(mg/dl)	K	KP	D	DP	P
Başlangıç	$84,10 \pm 14,65$	$85,60 \pm 7,40$	$85,40 \pm 14,84$	$81,70 \pm 12,30$	0,895
Son	$85,20 \pm 8,31$	$85,10 \pm 10,66$	$104,10 \pm 19,27$	$95,10 \pm 10,03$	0,005

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-4. 16. Hafta Açlık Kan Glikoz Değerleri

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

Başlangıç açlık glikoz seviyeleri K grubunda $84,10 \pm 14,65$, KP grubunda $85,60 \pm 7,40$, D grubunda $85,40 \pm 14,84$ ve DP grubunda $81,70 \pm 12,30$ (mg/dl) olarak ölçüldü (Tablo 5.4). Sıçanlar ağırlık ve nazo-anal uzunlukları benzer olduğu gibi başlangıç açlık glikoz değerleri de benzer seviyelerde ölçüldü. Son hafta yani 16. haftada ise açlık glikoz seviyeleri şu şekilde ölçüldü; K: $85,20 \pm 8,31$, KP: $85,10 \pm 10,66$, D: $104,10 \pm 19,27$ ve DP: $95,10 \pm 10,03$ (mg/dl) (Tablo 5.4).

Açlık glikoz değerleri çalışmanın ortalarına kadar referans aralığında seyretti. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen ($p < 0,05$) gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Batı diyeti ile beslenen grupta diğerlerine göre belirgin bir yükselme bulundu. Kontrol ve KP grupları benzer ölçüldü. Probiyotik

takviyesi alan diyet grubu yalnız batı diyeti alan gruba göre daha düşük açlık glikoz seviyesine sahip olduğu bulundu. Bu özellikle yüksek kalorili diyetlerde probiyotik takviyesinin açlık glikoz seviyesi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

5.2.2. Serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimler

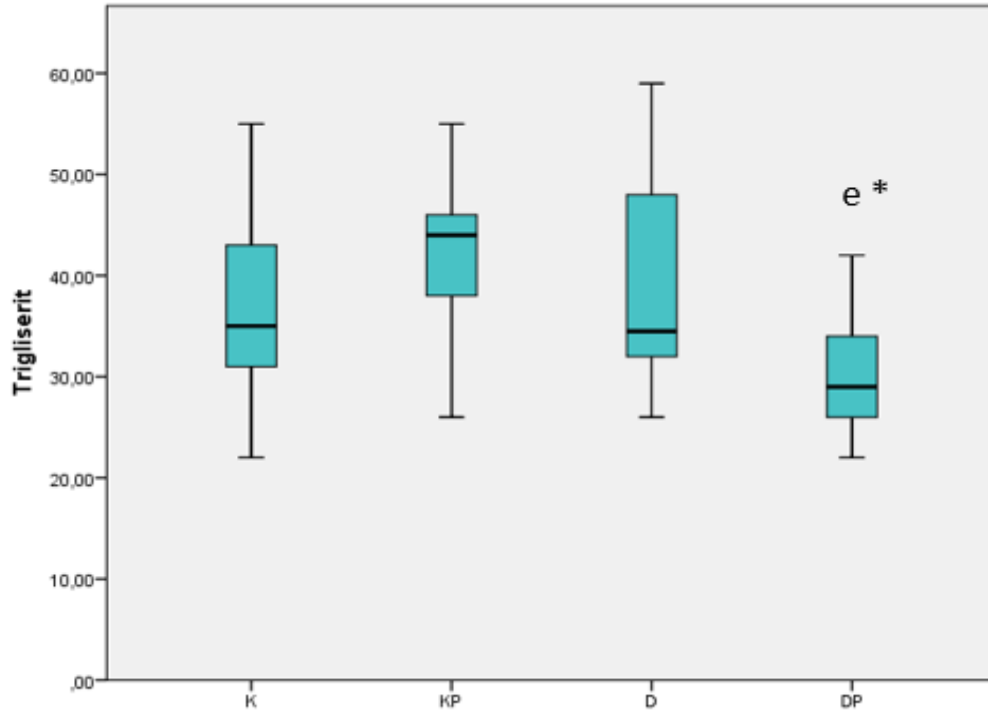
Çalışmanın sonunda sıçanlardan anestezi altında kalplerinden kan alınarak serum ayrıldı. Analizlerin yapılacağı zamana kadar -80° C saklandı. Alınan serum örneklerinden ALB, AST, ALT, TBİL, DBİL, Chol, GGT, LDH, LIP, TP, TG, HDL, LDL, ALP ve CK analizleri otoanalizörde yapıldı. Sonuçlar Tablo 5.6’da verildi

TP, ALB, LDL ve LIP parametrelerinde kontrol ve deney grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. TG, Chol ve HDL seviyeleri en yüksek KP grubunda ölçüldü ve gruplar arasında bu üç parametre için anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). TP, ALB, TBİL, DBİL, ALT, ALP ve LIP en yüksek DP grubunda olmak üzere gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0,05$). AST, LDL, LDH, GGT ve CK verileri D grubunda en yüksek ölçüldü ve istatistiksel olarak farklıydı ($p<0,05$).

Tablo 5.5. Serum Biyokimyasal Değişimler

	K	KP	D	DP	P
TG (mg/dL)	36,42±9,48	41,70±7,76	39,90±10,89	30,00±6,51	0,027
Chol (mg/dL)	36,90±4,58	40,90±5,34	39,30±5,50	32,30±3,16	0,002
HDL (mg/dL)	25,72±5,68	26,85±4,65	20,88±2,80	17,18±4,26	0,000
TP (g/dL)	5,24±0,39	5,24±0,35	5,18±0,36	5,41±0,12	0,432
ALB (g/dL)	3,08±0,14	3,18±0,23	3,12±0,20	3,25±0,12	0,204
TBİL (mg/day)	0,03±0,01	0,05±0,02	0,04±0,02	0,06±0,02	0,001
DBİL (mg/dL)	0,03±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01	0,003
ALT (U/L)	38,00±5,98	34,80±1,55	44,10±5,67	44,80±5,57	0,000
AST (U/L)	97,80±17,69	96,00±17,08	123,60±19,44	99,80±19,69	0,006
LDL (mg/dL)	4,41±1,11	4,09±1,47	5,82±1,68	5,59±0,83	0,095
ALP (U/L)	101,00±11,91	81,90±7,13	139,60±22,48	152,60±25,18	0,000
LDH (U/L)	194,90±98,32	278,80±115,05	444,20±181,39	204,60±141,24	0,001
GGT (U/L)	8,60±0,52	8,70±0,67	9,40±0,52	8,70±0,48	0,009
LIP (U/L)	10,90±1,52	10,40±1,26	10,90±1,10	12,10±1,79	0,075
CK (U/L)	316,50±116,26	304,40±134,99	381,50±133,26	170,10±37,30	0,002

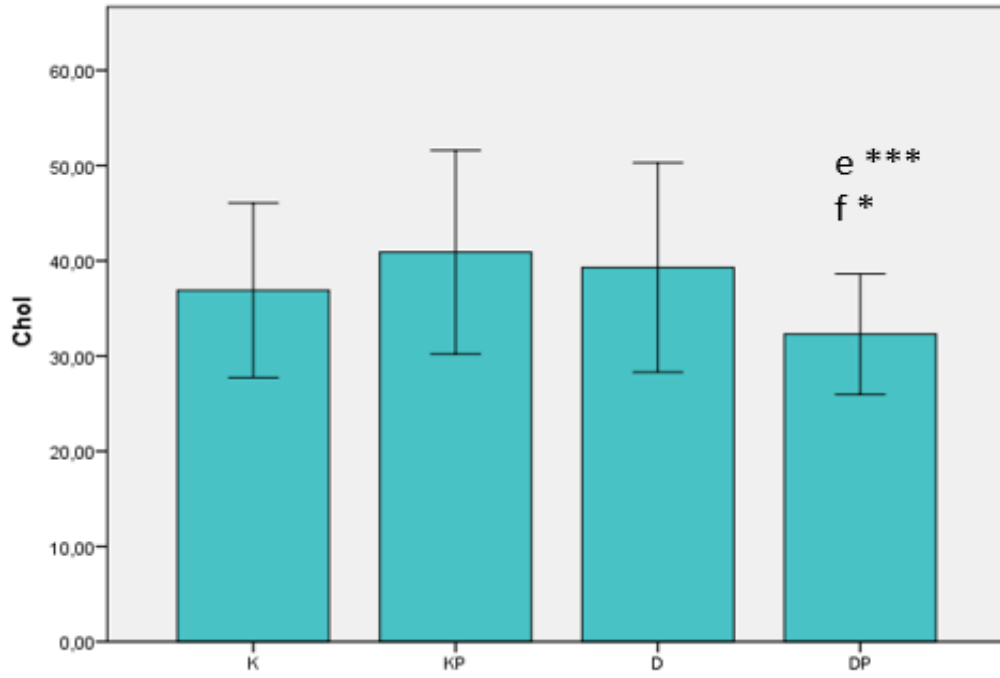
Değerler, ortalama±standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-5. Trigliserit seviyeleri

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

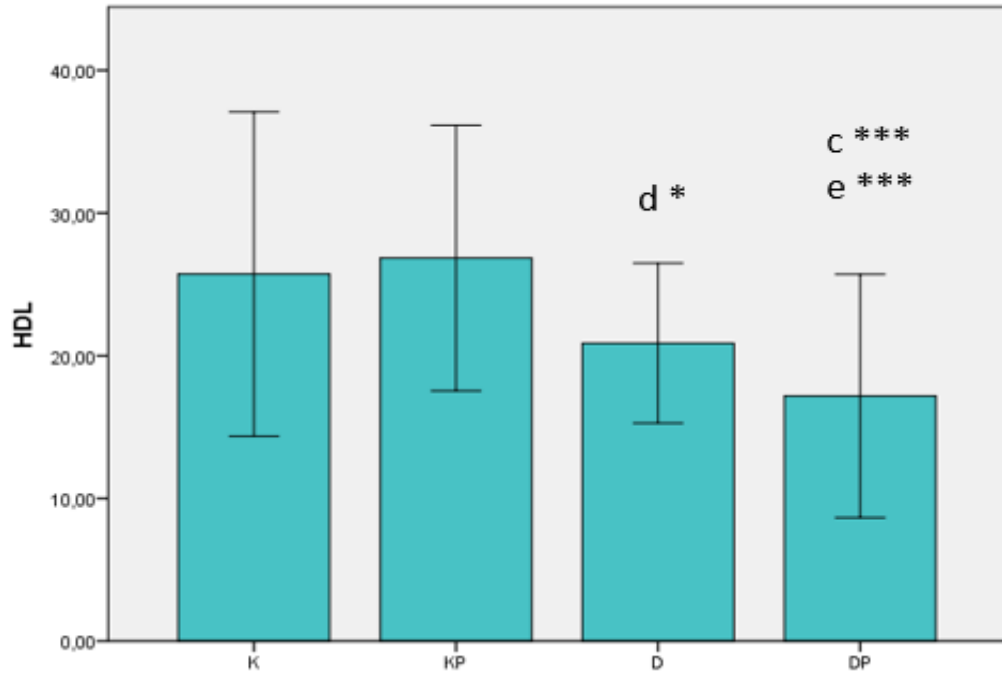
Serum trigliserit seviyeleri K grubunda $36,42\pm9,48$, KP grubunda $41,70\pm7,76$, D grubunda $39,90\pm10,89$ ve DP grubunda ise $30,00\pm6,51$ (mg/dL) olarak ölçüldü. Bu sonuçlara göre KP grubu DP grubuna göre daha yüksek ve arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 5.5).



Şekil 5-6. Kolesterol

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

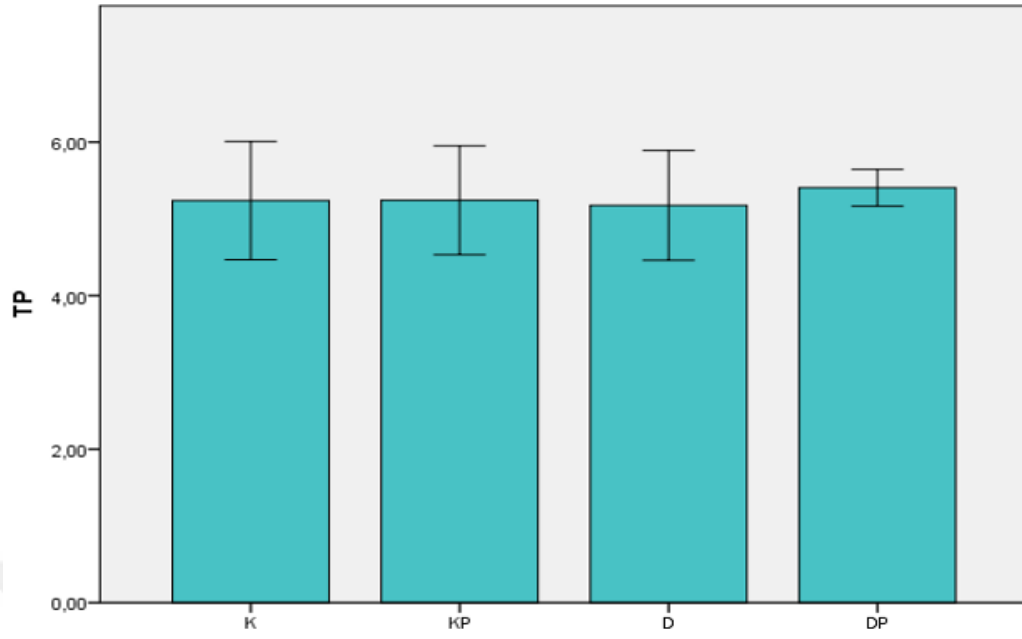
Serum kolesterol seviyeleri K grubunda $36,90\pm4,58$, KP grubunda $40,90\pm5,34$, D grubunda $39,30\pm5,50$ ve DP grubunda ise $32,30\pm3,16$ (mg/dL) olarak ölçüldü. Probiyotik takviyesi alan gruplar ($KP>DP$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p\leq0,001$). Grupların birbirleri ile olan karşılaştırmalarına bakıldığında D grubu DP grubundan daha yüksek seviyede ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 5.6). Probiyotik takviyesinin özellikle yüksek kalorili beslenme de etki olduğu görülmektedir.



Şekil 5-7. HDL

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

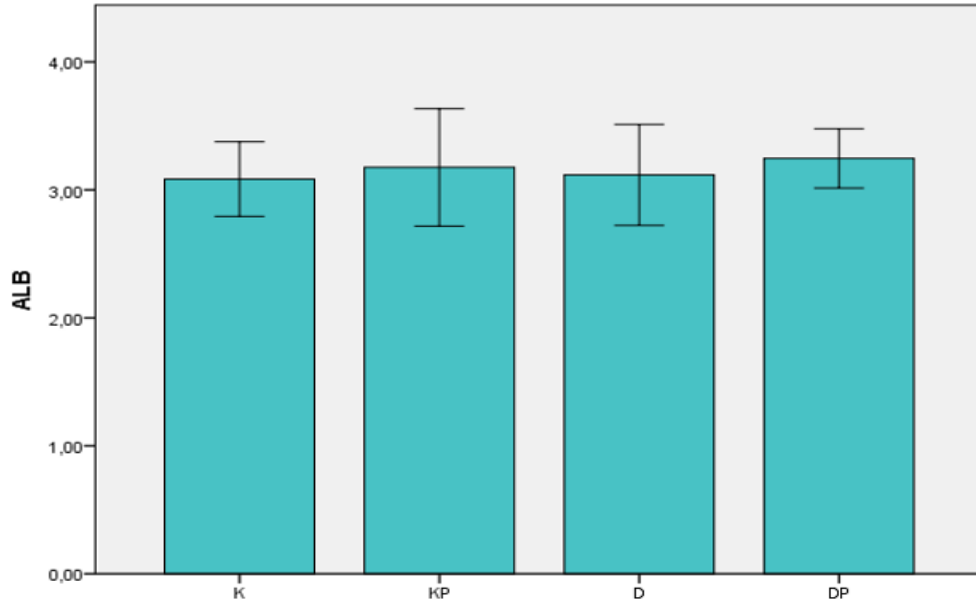
Serum HDL seviyeleri K grubunda $25,72\pm5,68$, KP grubunda $26,85\pm4,65$, D grubunda $20,88\pm2,80$ ve DP grubunda ise $17,18\pm4,26$ (mg/dL) olarak ölçüldü. Grupların birbirleri ile olan karşılaştırmalarına bakıldığında K grubu DP grubundan daha yüksek ($p\leq0,001$), KP grubu D grubundan daha yüksek ($p<0,05$) ve KP grubu DP grubundan daha yüksek ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulundu (Şekil 5.7).



Şekil 5-8. Total Protein

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

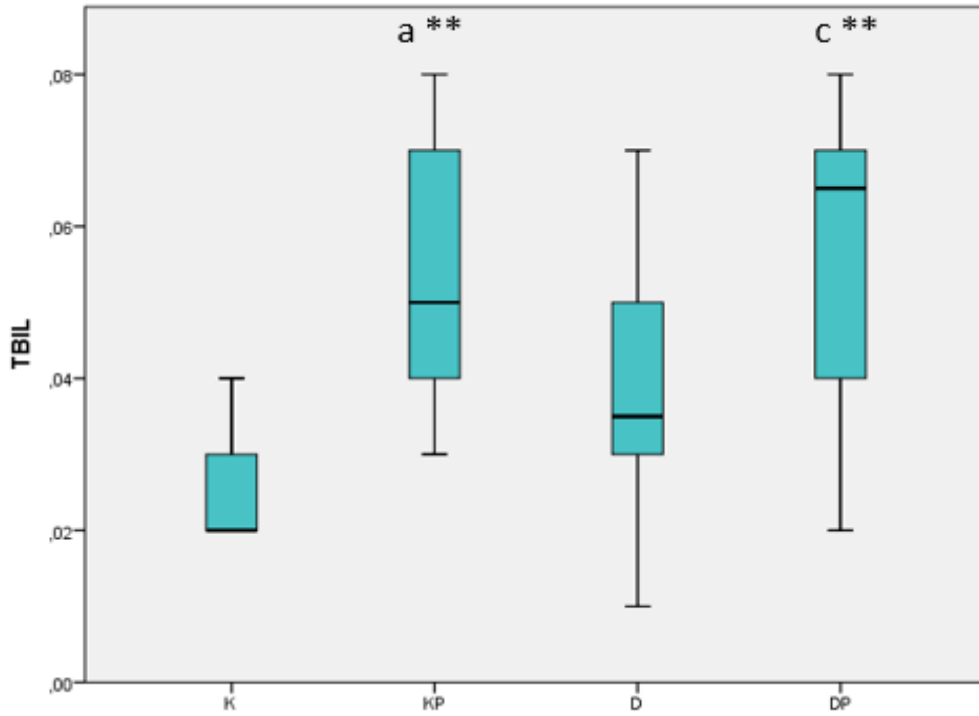
Serum total protein seviyelerinde gruplar arasında anlamlı fark yoktu.



Şekil 5-9. Albümin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik

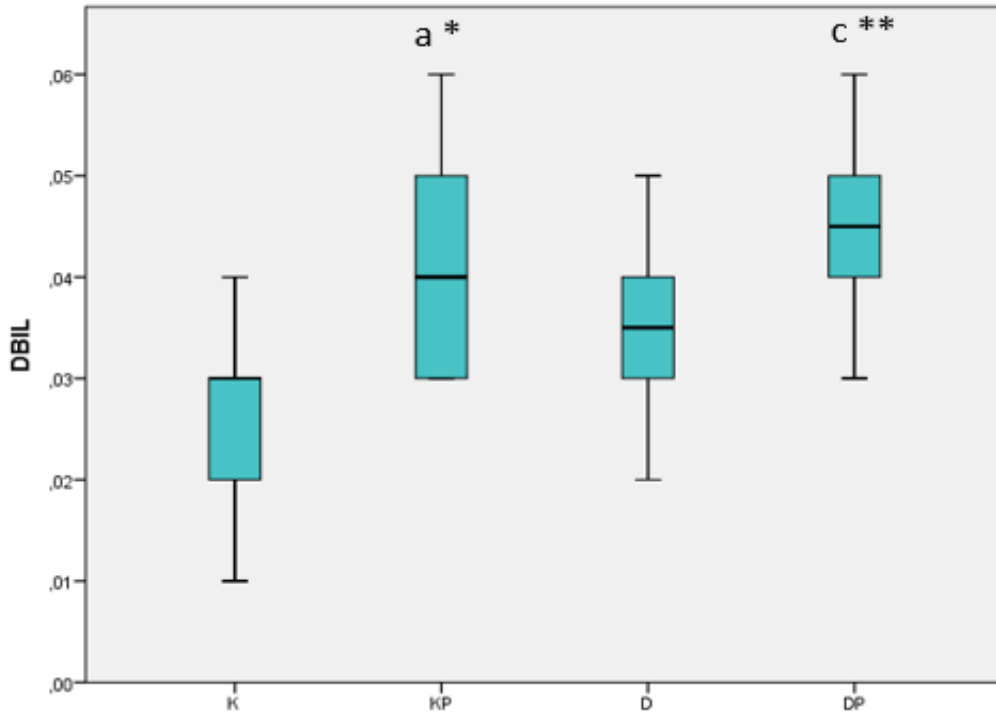
Serum albumin seviyelerinde gruplar arasında anlamlı fark yoktu.



Şekil 5-10 Total Bilirubin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

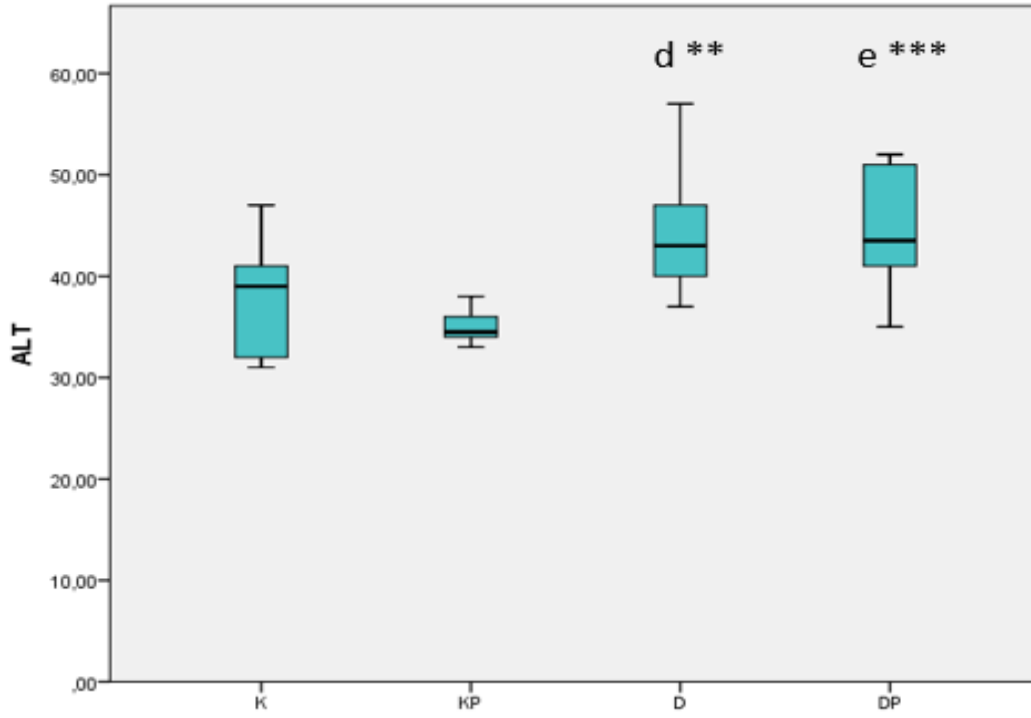
Serum total bilirubin seviyeleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $0,025\pm0,007$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $0,052\pm0,017$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $0,04\pm0,02$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $0,06\pm0,02$ (mg/day) olarak ölçüldü. Yapılan istatistik sonuçlarına göre anlamlı farklar bulundu ($p\leq0,001$). Grupların birbirleri ile olan karşılaştırmalarına bakıldığında K grubu KP grubundan ve DP grubundan daha düşük ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı (K-KP $p<0,01$, K-DP $p<0,01$) bulundu (Şekil 5.10). En yüksek seviyelerin KP ve DP gruplarında görülmesi probiyotiğin bu gruplarda anlamlı farklılıklara neden olduğunu göstermektedir.



Şekil 5-11. Direk Bilirubin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

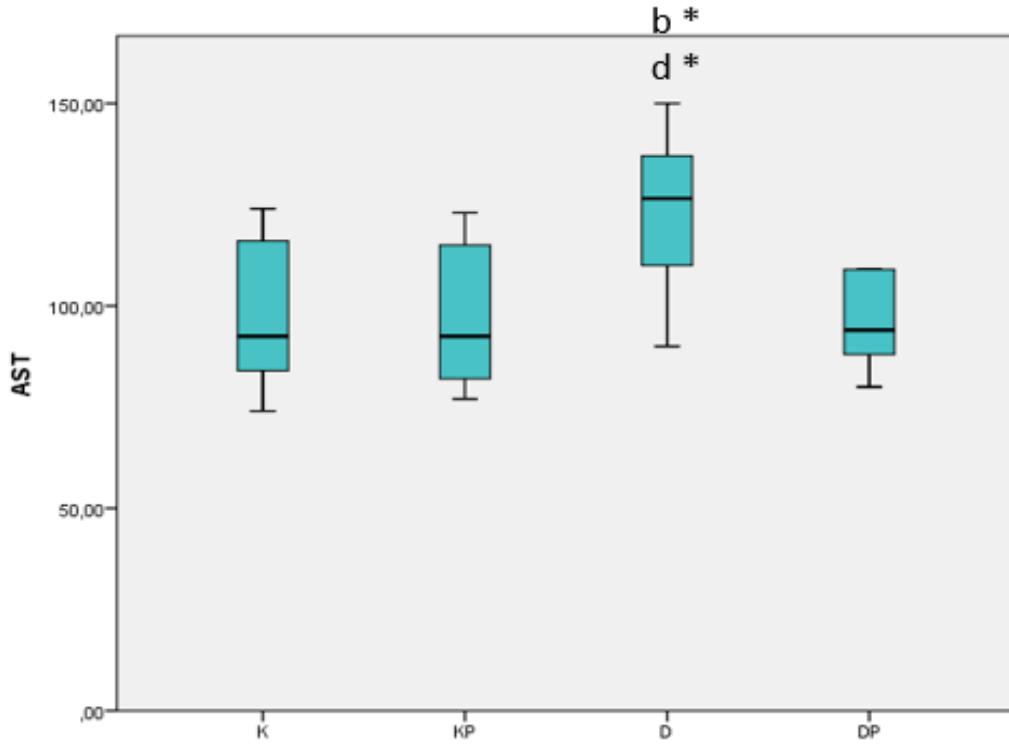
Total bilirubin seviyelerinde olduğu gibi serum direk bilirubin seviyelerinde de KP ve DP grupları diğerlerinden daha yüksek ölçüldü. Gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Serum seviyeleri K grubunda $0,03\pm0,01$, KP grubunda $0,04\pm0,01$, D grubunda $0,04\pm0,01$ ve DP grubunda ise $0,05\pm0,01$ (mg/dL) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki anlamlı farkların hangi gruplar arasında meydana geldiğine bakıldığında K ve KP grubu ($K<KP$ ve $p<0,05$), K ve DP grubu ($K<DP$ ve $p<0,01$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 5.11).



Şekil 5-12. ALT

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

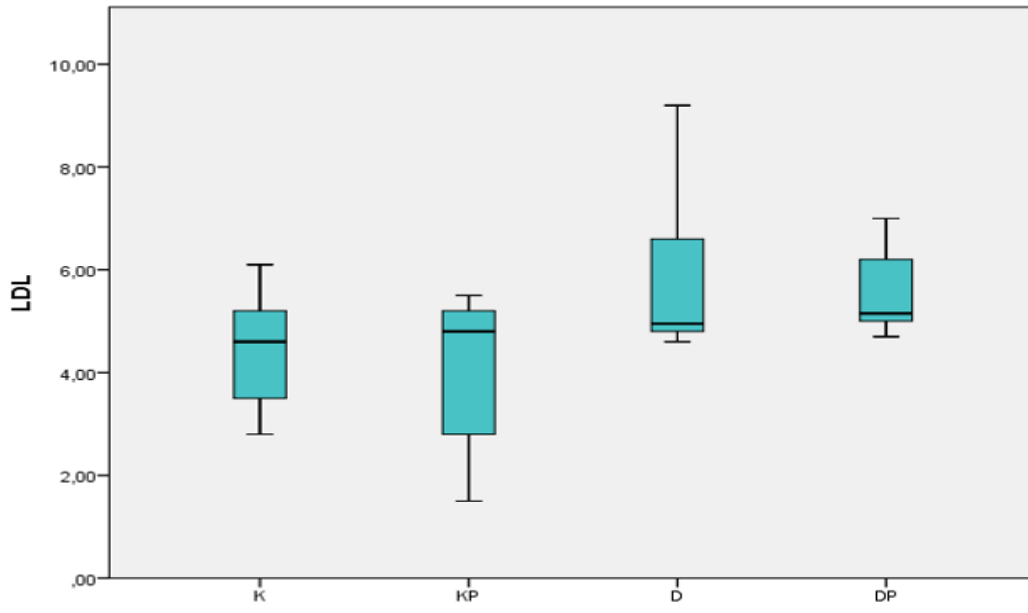
Karaciğer enzimlerinden biri olan ALT düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulundu. En yüksek olandan en düşüğe doğru sıralama DP $44,80 \pm 5,57$, D $44,10 \pm 5,67$, K $38,00 \pm 5,98$ ve KP grubu $34,80 \pm 1,55$ (U/L) şeklindedir. Bu sonuçlara göre gruplar arasında anlamlı farklar bulundu. Bu farklılıklar; KP grubu ile D grubu arasında ($p < 0,01$) ve KP grubu ile DP grubu arasında olup istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0,001$) bulundu (Şekil 5.12).



Şekil 5-13. AST

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

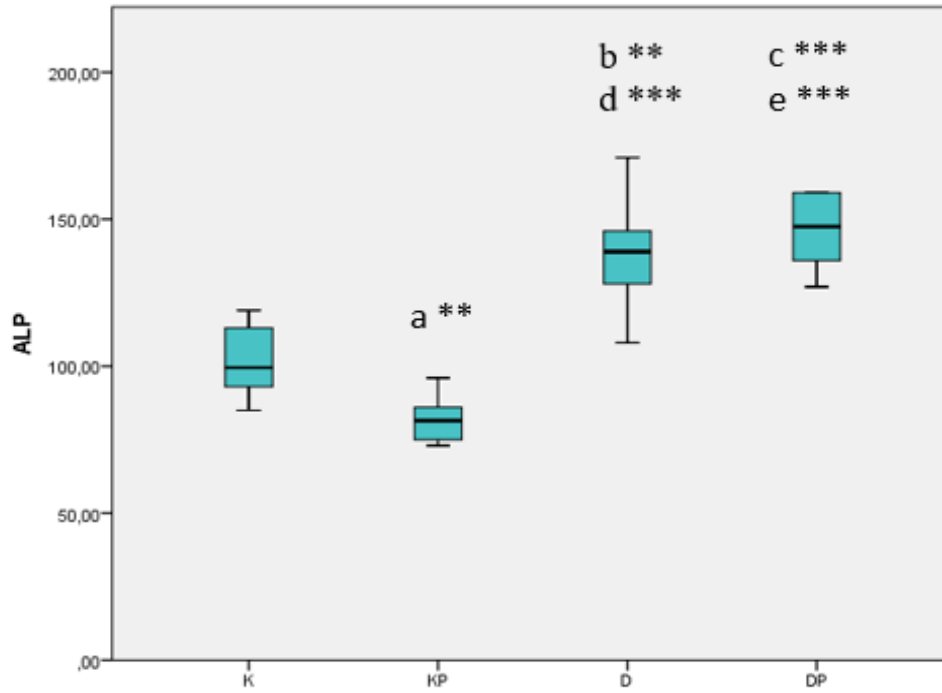
Karaciğer enzimlerinden bir diğeri olan AST düzeyleri Tablo 5.5 da verildiği gibi en yüksek seviye batı diyeti ile beslenen grupta ölçüldü ($123,60\pm19,44$). Diğer grupların değerleri ise K grubunda $97,80\pm17,69$, KP grubunda $96,00\pm17,08$ ve DP grubunda $99,80\pm19,69$ (U/L) olarak ölçüldü. İstatistik sonuçlarına göre gruplar arasında anlamlı farklar vardı ($p<0,01$). Gruplar arası ikili karşılaştırmaya göre K grubu D grubundan daha düşük ve arasındaki fark ($p<0,05$) ve KP grubu D grubundan daha düşük ve arasındaki fark ($p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 5.13).



Şekil 5-14. LDL

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

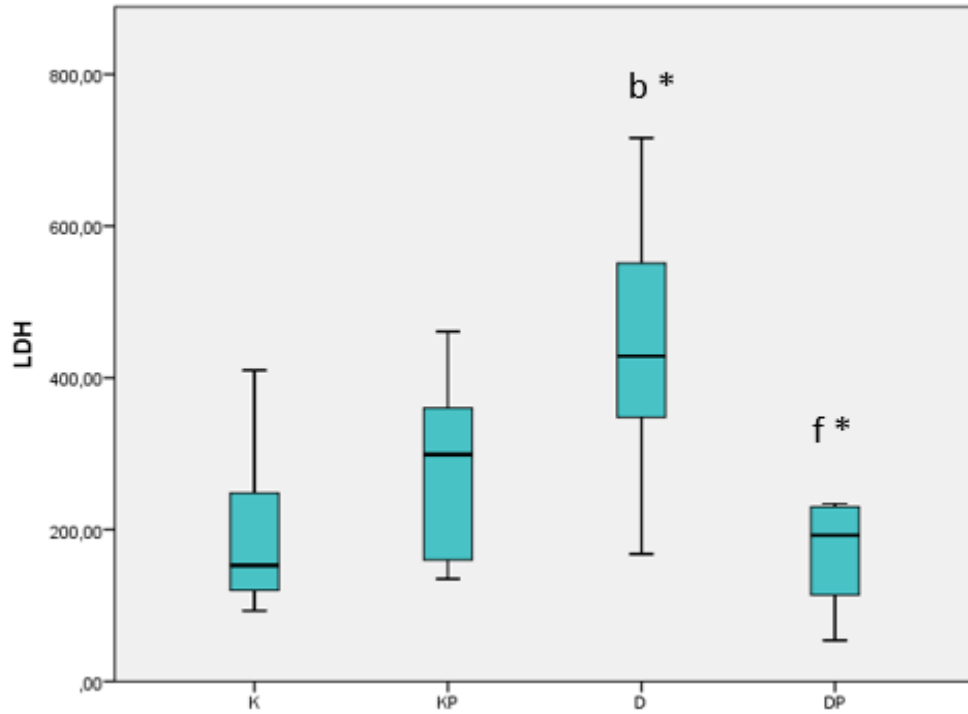
Serum LDL seviyelerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.



Şekil 5-15. ALP

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Serum ALP seviyeleri Tablo 5.5 da verilmiştir. Sıçanların serum ALP düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $101,00 \pm 11,91$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $81,90 \pm 7,13$ yüksek kalorili BD ile beslenen D grubunda $139,60 \pm 22,48$ ve yüksek kalorili BD ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $152,60 \pm 25,18$ (U/L) olarak ölçüldü. Gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,000$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu sıçanlarda KP grubu sıçanlara oranla istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,01$). K grubu ile D grubu ve K grubu ile DP grubu arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$ ve $p<0,001$). Buna ek olarak probiyotik takviyesi alan KP grubu ile D ve DP grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,001$) (Şekil 5.15).

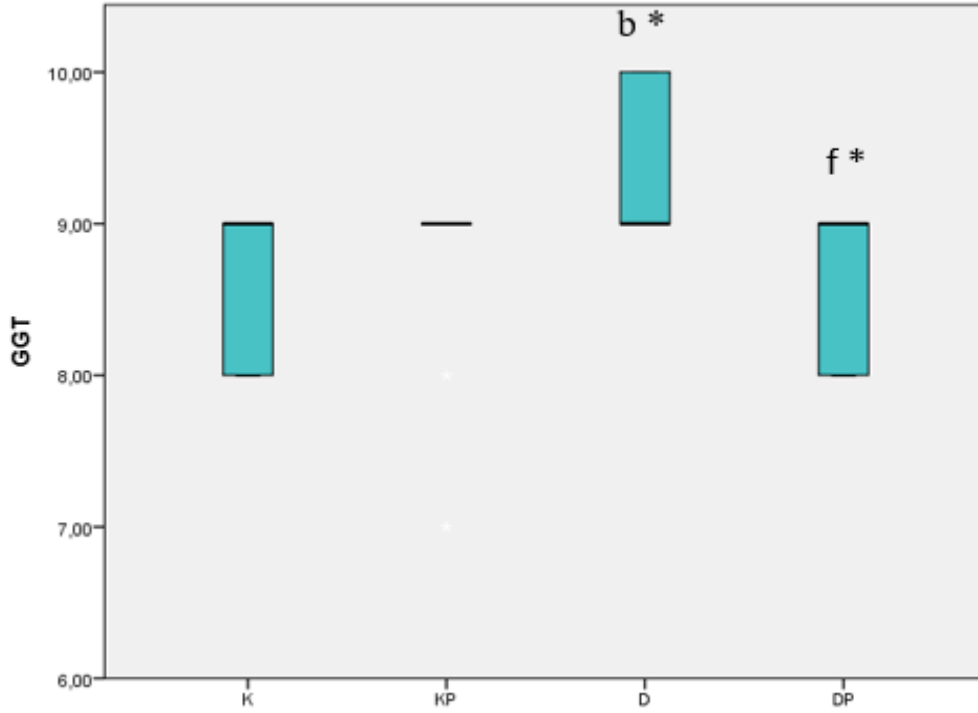


Şekil 5-16. LDH

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Serum LDH seviyeleri K grubunda $194,90 \pm 98,32$, KP grubunda $278,80 \pm 115,05$, D grubunda $444,20 \pm 181,39$ ve DP grubunda ise $204,60 \pm 141,24$ (mg/dL) olarak ölçüldü. Bu sonuçlara göre gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p \leq 0,001$). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında standart yem ile beslenen K grubu ile batı diyetiyle beslenen D grubu arasında $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel

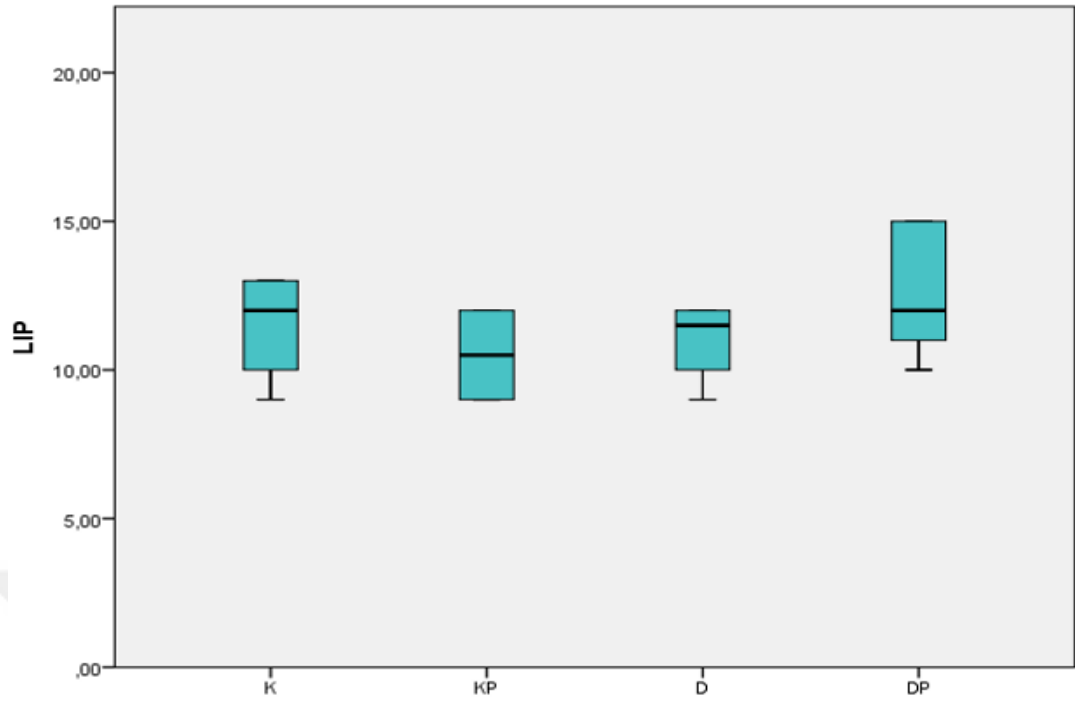
olarak anlamlılık bulundu. Bunun yanında D grubu ile DP grubu arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 5.16).



Şekil 5-17. GGT

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

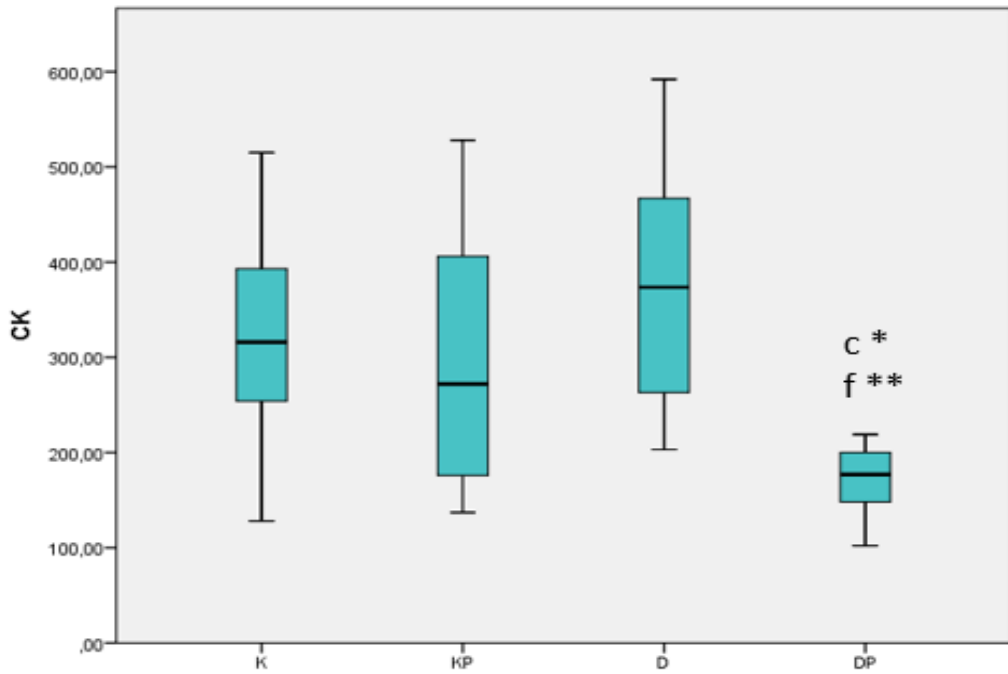
Serum GGT seviyeleri Tablo 5.5 gösterildiği gibi ölçülmüştür. Kontrol grubunda $8,60\pm0,52$, KP grubunda $8,70\pm0,67$, D grubunda $9,40\pm0,52$ ve DP grubunda ise $8,70\pm0,48$ (U/L) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile D grubu ve D grubu ile DP grubu arasında fark ($p<0,05$ ve $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 5.17).



Şekil 5-18. LIP

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

Serum LIP seviyelerinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,075$) (Tablo 5.6).



Şekil 5-19. CK

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Serum kreatin kinaz (CK) seviyeleri Tablo 5.5’ de gösterildiği gibidir. Serum CK seviyeleri K grubunda $316,50 \pm 116,26$, KP grubunda $304,40 \pm 134,99$, D grubunda $381,50 \pm 133,26$ ve DP grubunda ise $170,10 \pm 37,30$ (U/L) olarak ölçüldü. En düşük seviyede ölçülen DP grubu ile K grubu ve D grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p < 0,05$ ve $p < 0,01$).

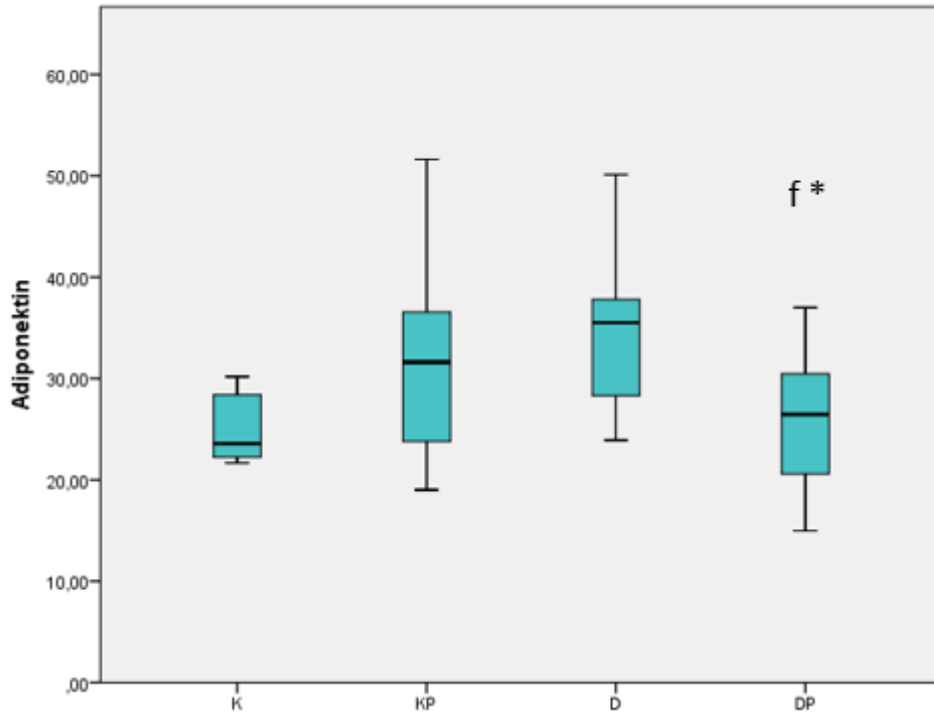
5.2.3. Serum örneklerinde ELISA analizleri

Serum örneklerinden yapılan ELISA analiz sonuçları Tablo 5.6-7-8’ de verilmiştir. Serum Fabp4 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Visfatin, SFRP5 seviyeleri K grubunda en yüksekti ve diğer gruplarla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Yine K grubunda Fabp4 seviyeleri en yüksek ölçülmesine rağmen anlamlı fark yoktu. CT1, IL-10, TNF, IL-4 seviyeleri KP grubunda en yüksek ölçüldü ve diğer gruplarla fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Adiponektin seviyeleri D grubunda en yüksek ölçüldü ve diğer gruplarla fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Omentin, vaspin, asprosin, IL-6, IL-11 ve IL-1 β seviyeleri DP grubunda en yüksek ölçüldü ve diğer gruplarla fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Tablo 5.6. Anti-İnflamatuar adipokin seviyeleri

Anti-İnflamatuar Adipokinler					
	Kontrol	Kontrol+Pro	Diyet	Diyet+Pro	P
Adiponektin (ng/ml)	26,45 $\pm$ 6,77	33,47 $\pm$ 12,18	35,07 $\pm$ 7,50	25,64 $\pm$ 6,33	0,036
Omentin (ng/ml)	4,08 $\pm$ 0,65	2,75 $\pm$ 1,41	4,04 $\pm$ 0,71	4,26 $\pm$ 0,43	0,002
SFRP5 (pg/ml)	9,16 $\pm$ 1,65	5,93 $\pm$ 1,80	5,55 $\pm$ 0,43	5,86 $\pm$ 2,05	0,000
CT1 (pg/ml)	24,05 $\pm$ 3,37	24,76 $\pm$ 4,82	15,27 $\pm$ 3,50	21,78 $\pm$ 3,70	0,000

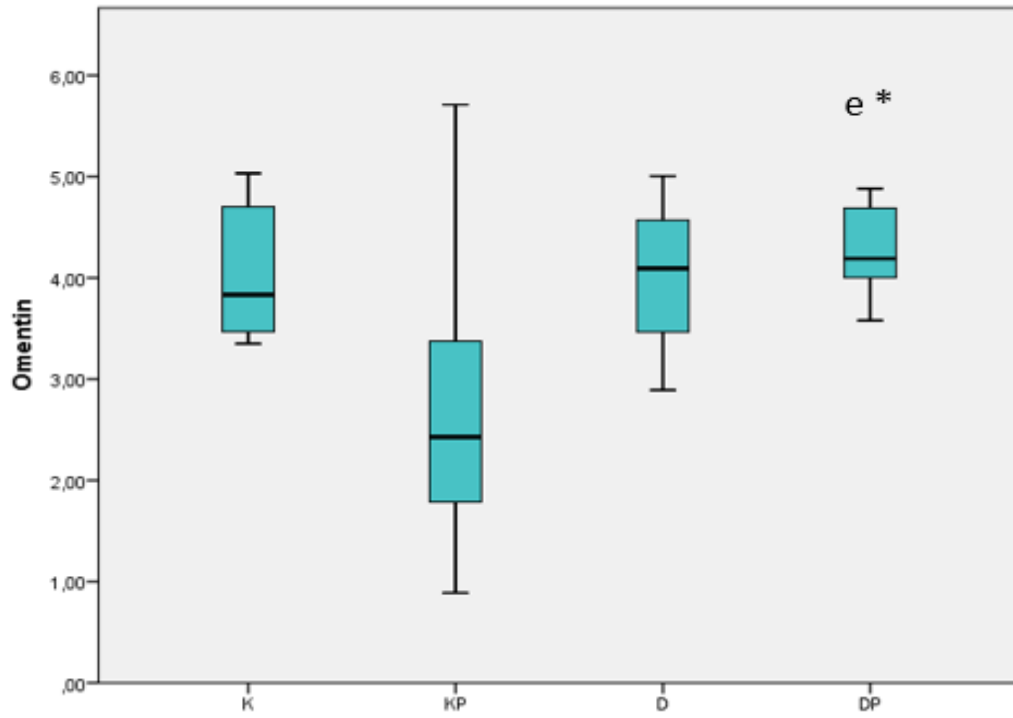
Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-20. Adiponektin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

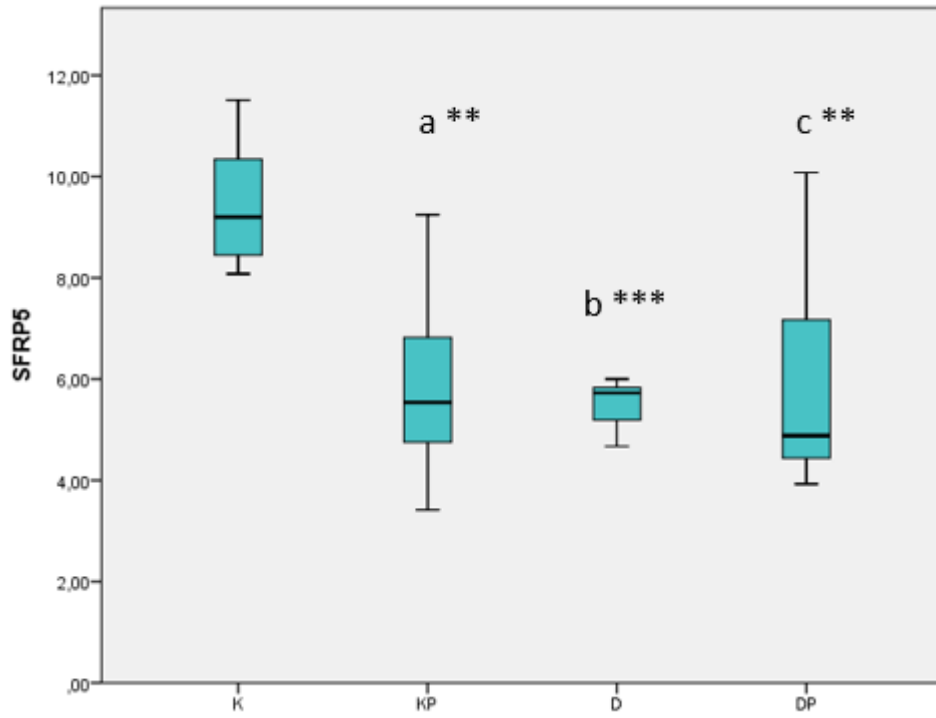
Serum adiponektin seviyeleri Tablo 5.6’de verilmiştir. Sıçanların serum adiponektin düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $26,45\pm6,77$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $33,47\pm12,18$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $35,07\pm7,50$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $25,64\pm6,33$ (ng/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında D grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 5.20).



Şekil 5-21. Omentin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

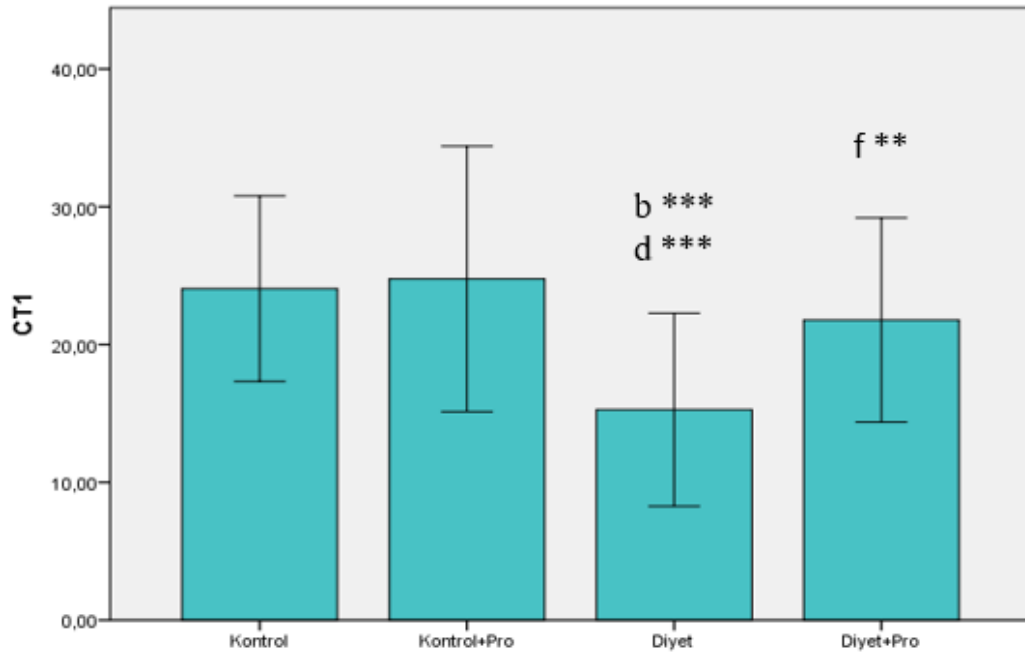
Serum omentin seviyeleri Tablo 5.6’de verilmiştir. Sıçanların serum omentin düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $4,08 \pm 0,65$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $2,75 \pm 1,41$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $4,04 \pm 0,71$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $4,26 \pm 0,43$ (ng/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında KP grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 5.21).



Şekil 5-22. SFRP5

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Serum SFRP5 seviyeleri Tablo 5.6’de verilmiştir. Sıçanların serum omentin düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $9,16 \pm 1,65$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $5,93 \pm 1,80$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $5,55 \pm 0,43$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $5,86 \pm 2,05$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0,000$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu. K grubu ile KP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$), K grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) ve K grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$) (Şekil 5.22).



Şekil 5-23. CT1

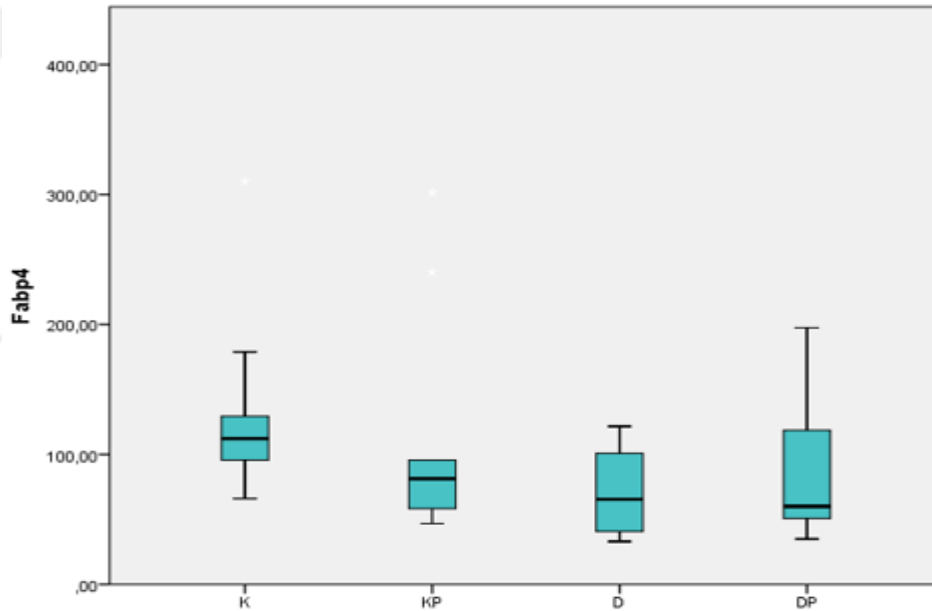
K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Serum CT1 seviyeleri Tablo 5.6’de verilmiştir. Sıçanların serum CT1 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $24,05 \pm 3,37$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $24,76 \pm 4,82$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $15,27 \pm 3,50$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $21,78 \pm 3,70$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$), KP grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) ve D grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 5.23).

Tablo 5.7. İnflamatuvar adipokin seviyeleri

İnflamatuvar Adipokinler					
	Kontrol	Kontrol+Pro	Diyet	Diyet+Pro	P
Fabp4 (pg/ml)	127,48±73,90	112,06±86,62	69,67±32,17	89,33±60,45	0,139
Visfatin (pg/ml)	11,04±1,42	7,63±1,28	7,37±0,82	7,58±1,26	0,000
Vaspin (pg/ml)	155,77±11,48	191,12±26,92	281,93±100,32	536,64±99,25	0,000
Asprosin (pg/ml)	93,09±15,58	102,11±14,57	168,34±38,63	222,17±39,67	0,000

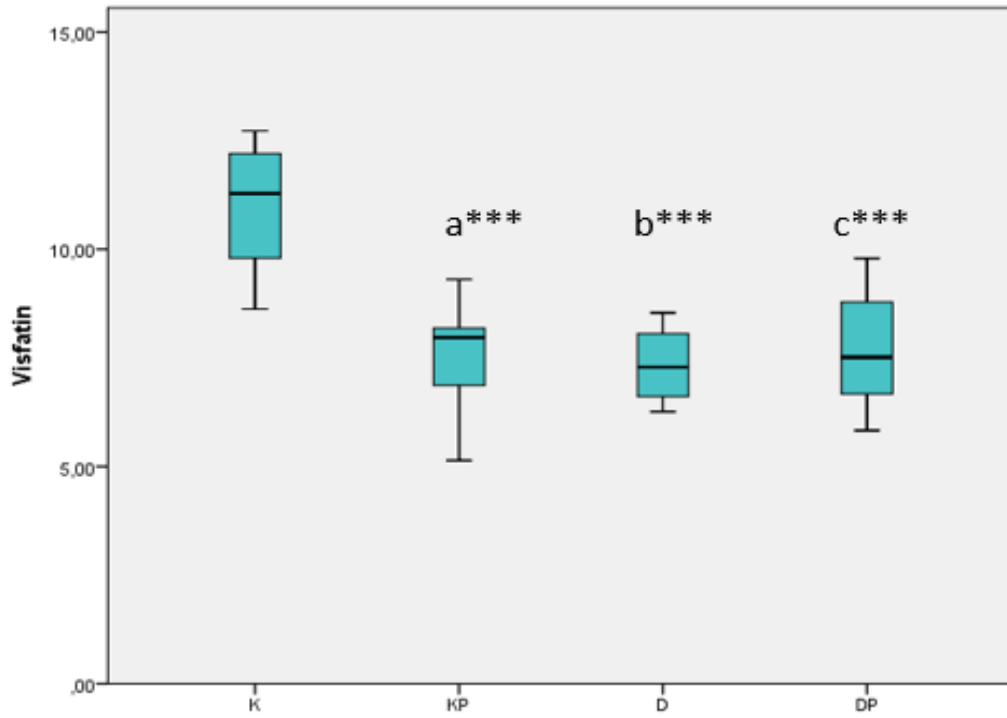
Değerler, ortalama±standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.



Şekil 5-24. Fabp4

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

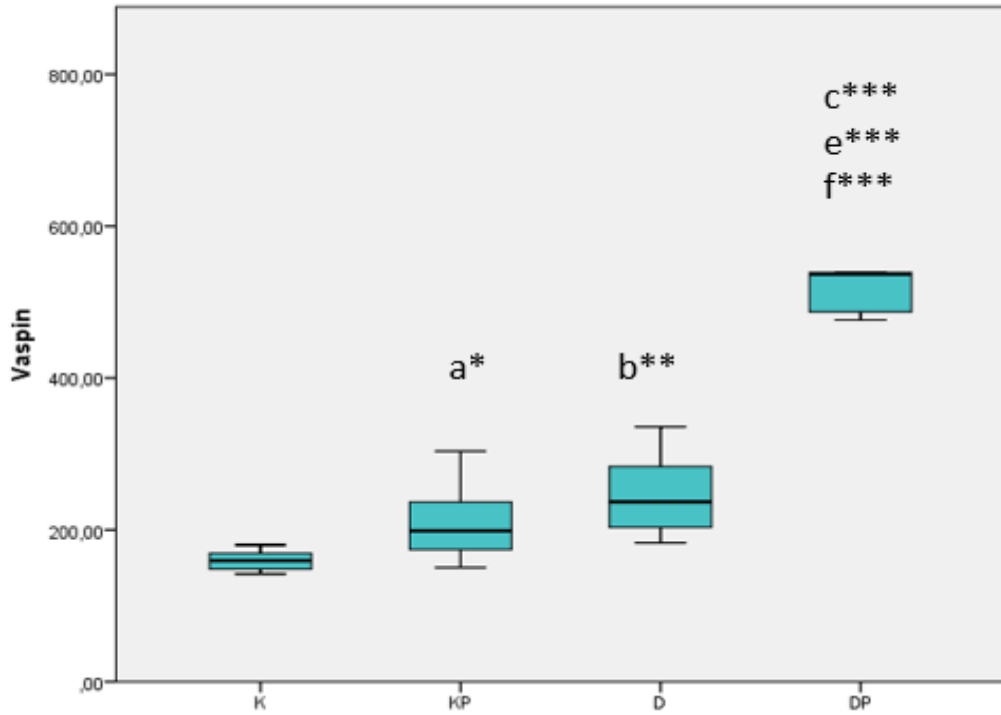
Serum Fabp4 seviyeleri Tablo 5.7’de verilmiştir. Sıçanların serum Fabp4 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda 127,48±73,90, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda 112,06±86,62, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda 69,67±32,17 ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise 89,33±60,45 (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arası farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu (p=0,139) (Şekil 5.24).



Şekil 5-25. Visfatin

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

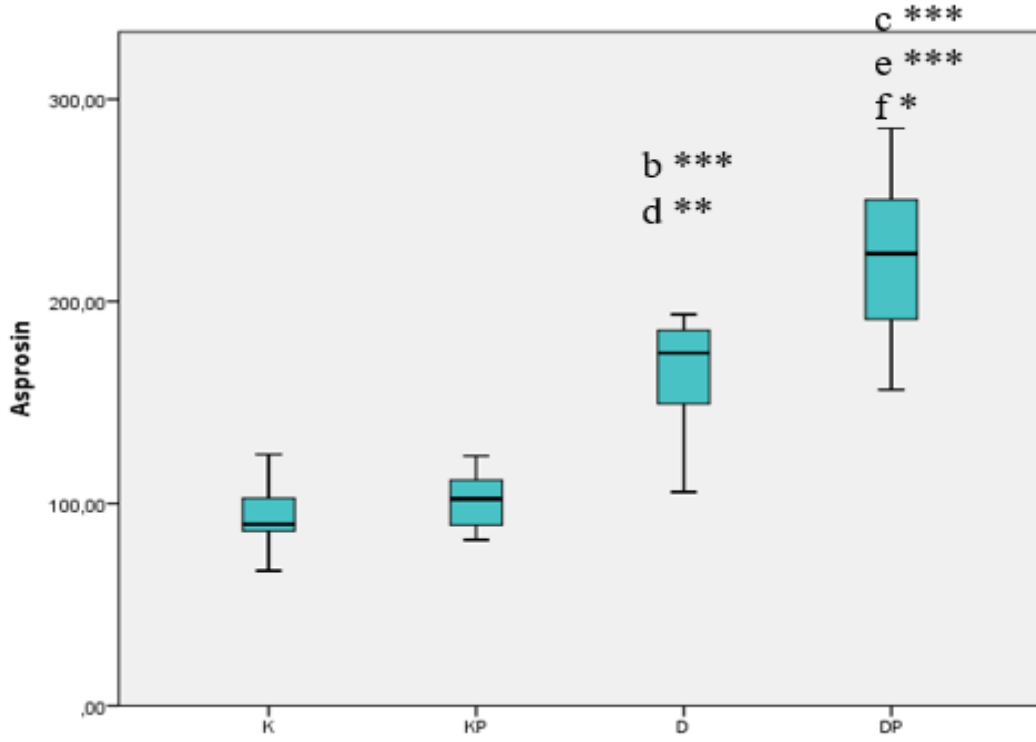
Serum visfatin seviyeleri Tablo 5.7’de verilmiştir. Sıçanların serum visfatin düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $11,04\pm1,42$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $7,63\pm1,28$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $7,37\pm0,82$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $7,58\pm1,26$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. K grubu ile diğer gruplar (KP, D, DP) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$), ($p<0,001$), ($p<0,001$) (Şekil 5.25).



Şekil 5-26. Vasp

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Serum vasp seviyeleri Tablo 5.7’de verilmiştir. Sıçanların serum vasp düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $155,77 \pm 11,48$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $191,12 \pm 26,92$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $281,93 \pm 100,32$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $536,64 \pm 99,25$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile diğer gruplar (KP, D, DP) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,001$), KP grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$) ve son olarak D grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$) (Şekil 5.26).



Şekil 5-27. Asprosin

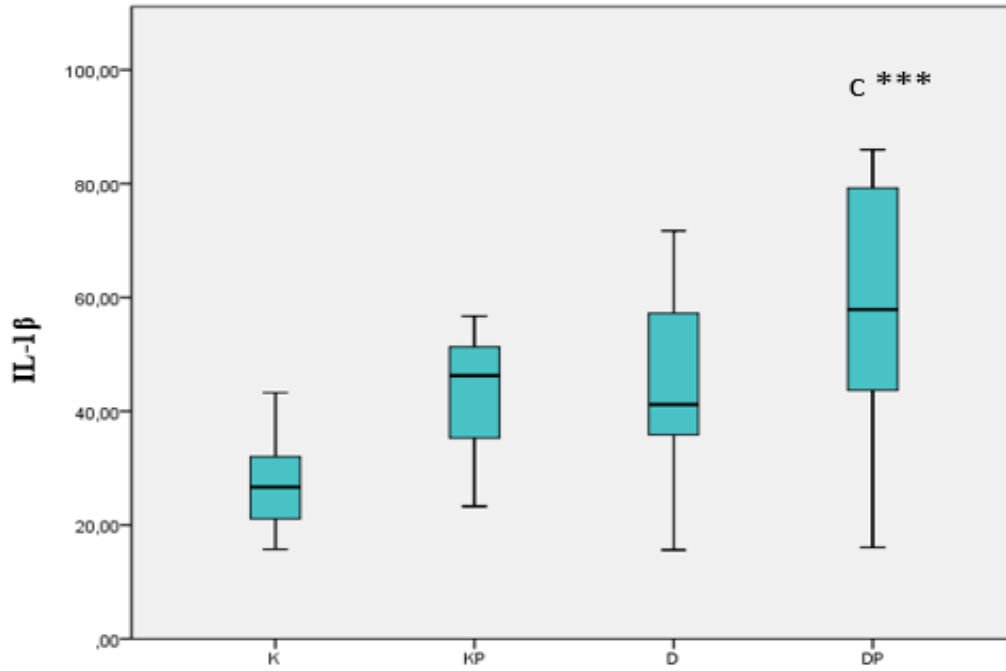
K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Serum asprosin seviyeleri Tablo 5.7’de verilmiştir. Sıçanların serum asprosin düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $93,09 \pm 15,58$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $102,11 \pm 14,57$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $168,34 \pm 38,63$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $222,17 \pm 39,67$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile D ve DP grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0,001$, $p < 0,001$), KP grubu ile D ve DP grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$, $p < 0,001$) ve son olarak D grubu ile DP grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 5.27).

Tablo 5.8. Sitokin seviyeleri

Sitokinler					
	Kontrol	Kontrol+Pro	Diyet	Diyet+Pro	P
IL-1 β (pg/ml)	28,21 $\pm$ 9,38	43,61 $\pm$ 10,23	44,70 $\pm$ 16,11	58,01 $\pm$ 21,09	0,001
IL-4 (pg/ml)	27,64 $\pm$ 6,26	56,42 $\pm$ 23,34	45,18 $\pm$ 21,04	38,82 $\pm$ 10,69	0,005
IL-6 (pg/ml)	54,64 $\pm$ 6,38	59,43 $\pm$ 5,57	69,88 $\pm$ 12,89	71,35 $\pm$ 12,28	0,001
IL-10 (pg/ml)	14,08 $\pm$ 8,57	24,52 $\pm$ 7,98	9,05 $\pm$ 2,96	18,93 $\pm$ 5,48	0,000
IL-11 (pg/ml)	7,05 $\pm$ 2,71	17,61 $\pm$ 4,32	9,69 $\pm$ 3,80	16,50 $\pm$ 6,17	0,000
TNF α (pg/ml)	20,11 $\pm$ 3,96	36,38 $\pm$ 14,62	33,54 $\pm$ 9,47	20,55 $\pm$ 3,31	0,000
TNF α /IL-10	1,42	1,48	3,70	1,08	

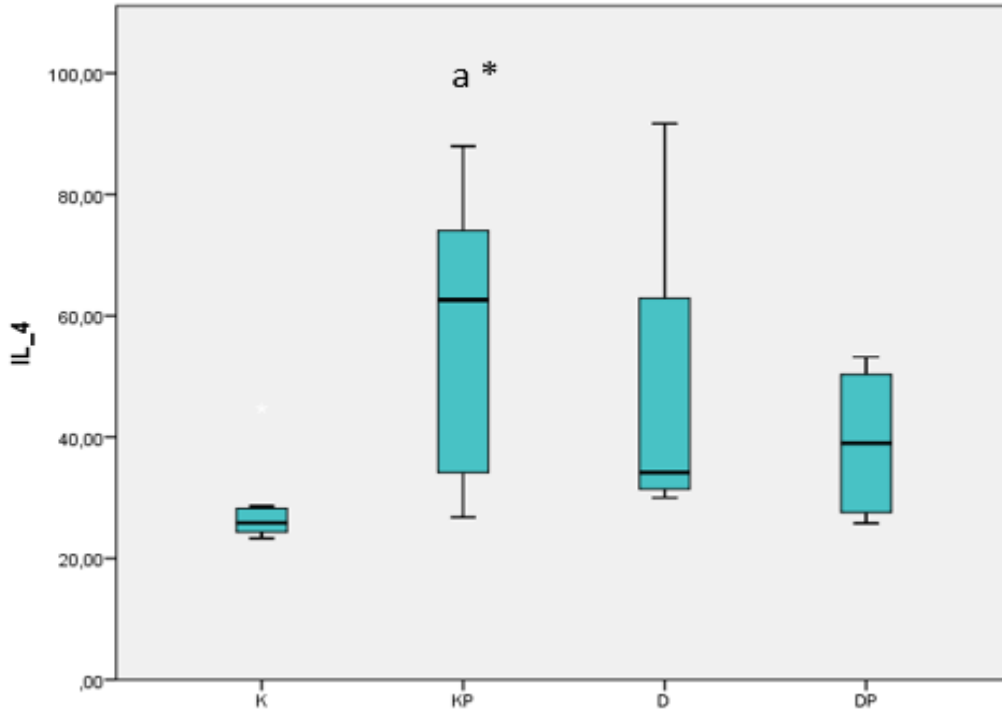
Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma. n:10. K:Kontrol, KP:Kontrol+Probiyotik, D:Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik.

Şekil 5-28. IL-1 β

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Serum IL-1 β seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum IL-1 β düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda 28,21 $\pm$ 9,38, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda 43,61 $\pm$ 10,23, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda 44,70 $\pm$ 16,11 ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise 58,01 $\pm$ 21,09 (pg/ml) olarak

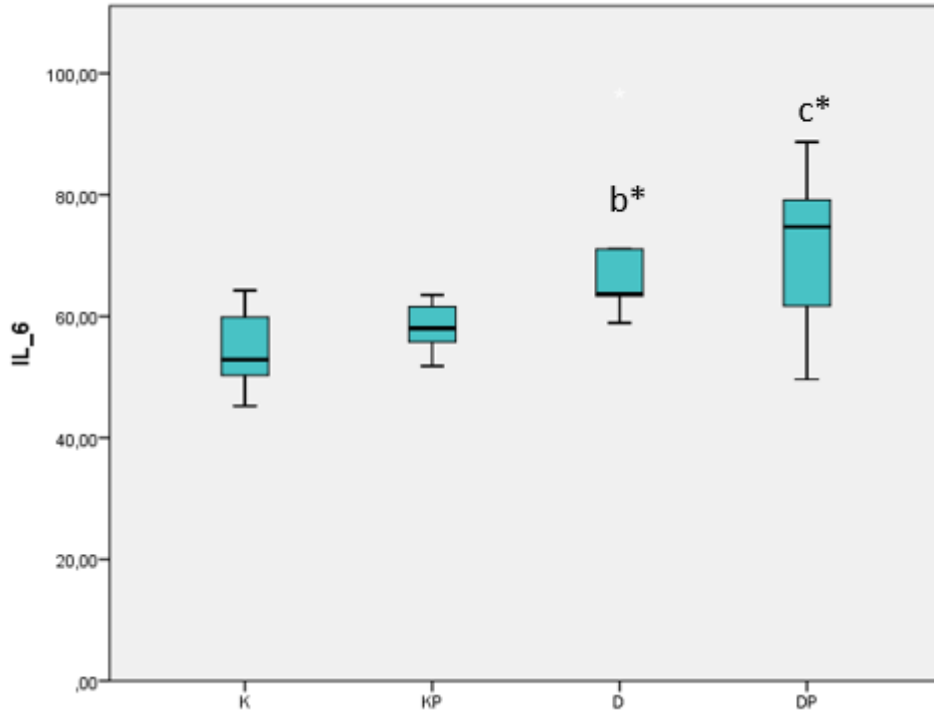
ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 5.28).



Şekil 5-29. IL-4

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

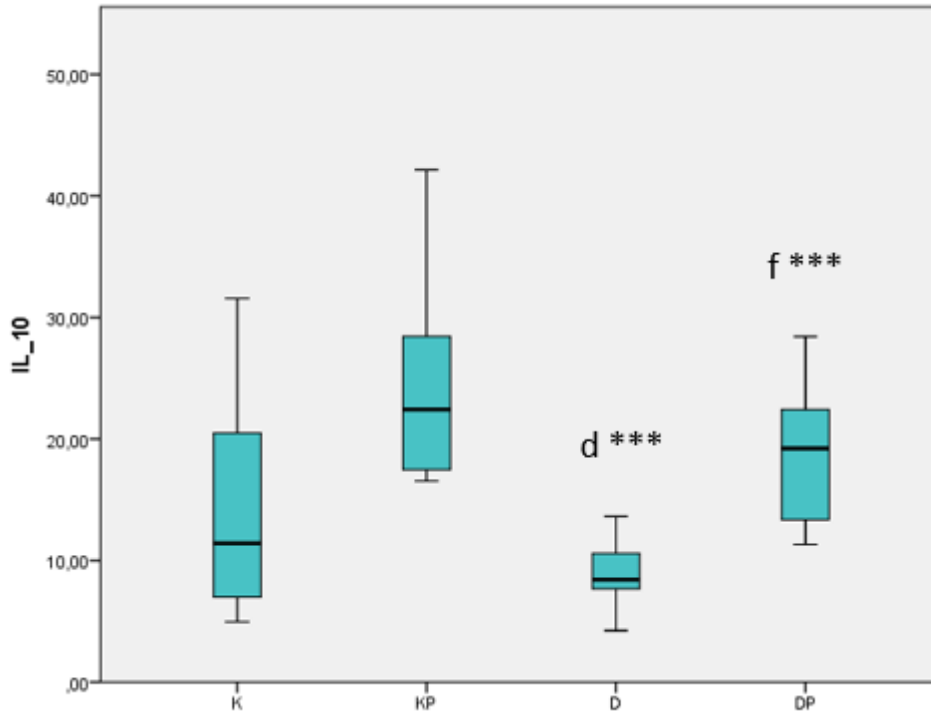
Serum IL-4 seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum IL-4 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $27,64 \pm 6,26$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $56,42 \pm 23,34$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $45,18 \pm 21,04$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $38,82 \pm 10,69$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile KP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 5.29).



Şekil 5-30. IL-6

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

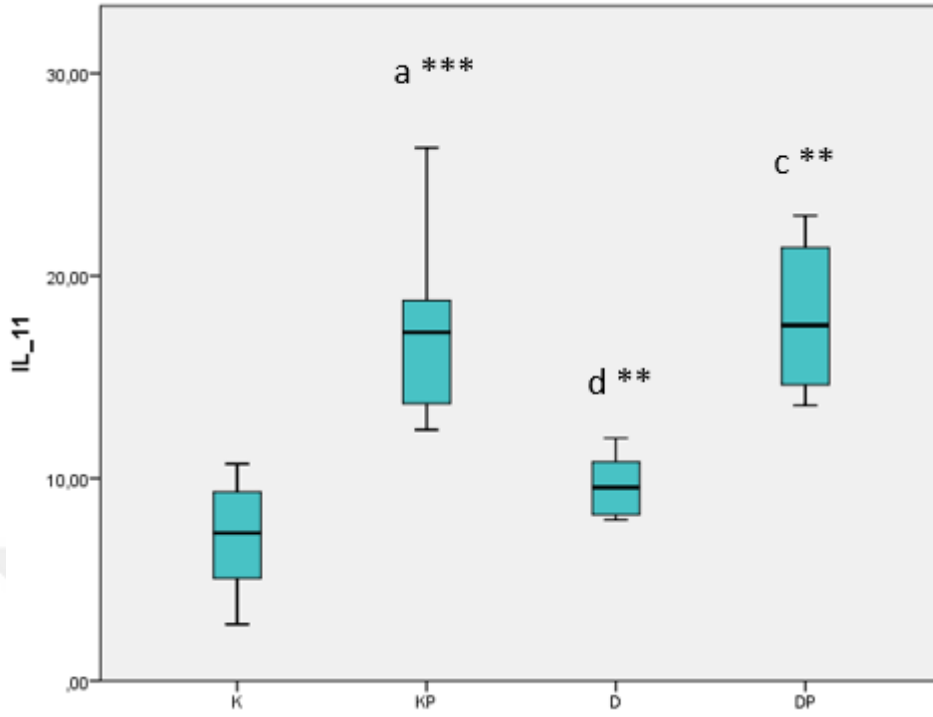
Serum IL-6 seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum IL-6 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $54,64\pm6,38$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $59,43\pm5,57$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $69,88\pm12,89$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $71,35\pm12,28$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p\leq0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) ve K grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 5.30).



Şekil 5-31. IL-10

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. d KP-D grubu arasında fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

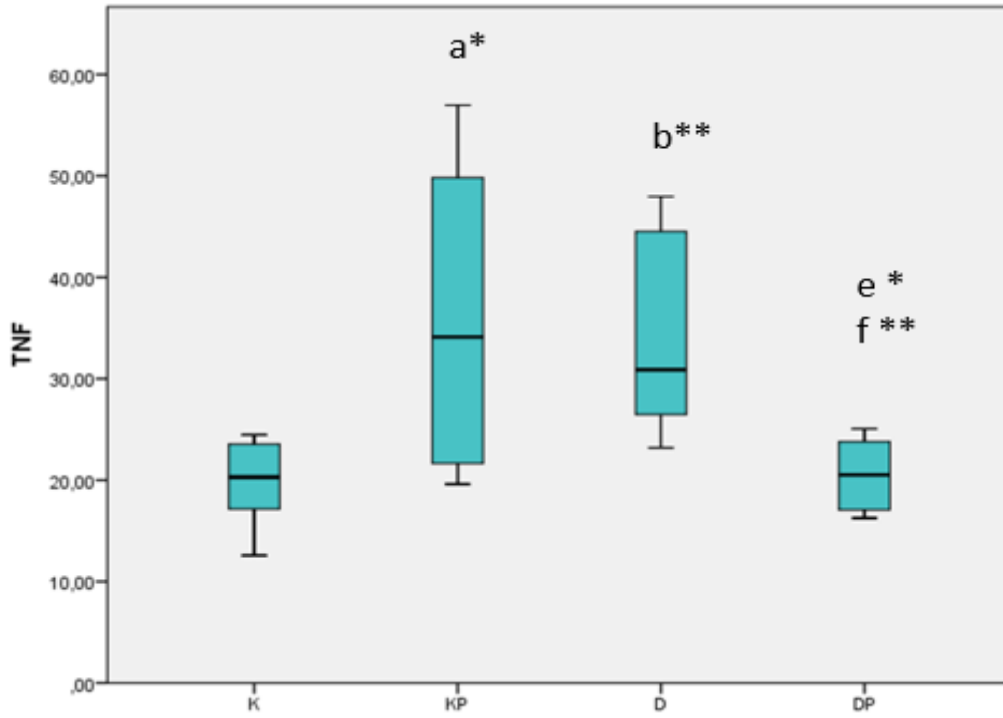
Serum IL-10 seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum IL-10 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $14,08 \pm 8,57$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $24,52 \pm 7,98$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $9,05 \pm 2,96$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $18,93 \pm 5,48$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. En yüksek seviyenin KP grubunda olduğu bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında KP grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0,001$) ve D grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0,001$) (Şekil 5.31).



Şekil 5-32. IL-11

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, c K-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, d KP-D grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Serum IL-11 seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum IL-11 düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $7,05\pm2,71$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $17,61\pm4,32$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $9,69\pm3,80$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $16,50\pm6,17$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile KP ve DP grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$), ($p<0,01$). KP grubu ile D grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$) (Şekil 5.32).



Şekil 5-33. TNF α

K: Kontrol, KP: Kontrol+Probiyotik, D: Batı diyeti, DP: Batı diyeti+probiyotik. a K-KP grubu arasındaki fark anlamlıdır, b K-D grubu arasındaki fark anlamlıdır, e KP-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır, f D-DP grubu arasındaki fark anlamlıdır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Serum TNF α seviyeleri Tablo 5.8’de verilmiştir. Sıçanların serum TNF α düzeyleri standart yem ile beslenen kontrol grubunda $20,11 \pm 3,960$, standart yem ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan KP grubunda $36,38 \pm 14,62$, yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen D grubunda $33,54 \pm 9,47$ ve yüksek kalorili batı diyeti ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise $20,55 \pm 3,31$ (pg/ml) olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu ile KP ve D grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$), ($p < 0,01$). KP grubu ile DP grubu arasındaki fark ($p < 0,05$) ve D grubu ile DP grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0,01$) (Şekil 5.33).

6. TARTIŞMA

Günümüzde teknolojinin ve modern yaşamın bizlere sunduğu imkanlar hayatımızı kolaylaştırırken bir yandan da gizli bir tehlike ile bizleri yüzleşmek zorunda bırakmaktadır. Bunlardan biri olan hareketsiz yaşam tarzı (sedanter) sağlığımız üzerine tahminlerimizden öte bir zarara neden oluyor olabilir. Modern yaşamda daha az hareket ediyor, daha hızlı hazırlanan, daha fazla kalori içeren lezzetli olması için farklı katkı maddeleri kullanılan gıdalar tüketiyoruz. Bunun sonucunda obezite ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere çeşitli sorunlar ile karşı karşıya kalıyoruz.

Dünyada obezite insidansının artan seyrinden dolayı obezite sürekli araştırma konusu olmuş ve hayvanlar üzerinde kilo alımını indüklemek için çeşitli modeller kurgulanmıştır. İlk olarak Samuels (163) ve arkadaşları 1942 yılında enerjinin %70 oranında yağdan elde edildiği bir diyet ile sıçanlarda obezite geliştiği ve açlık/tokluk glikoz düzeylerinin yükseldiğini bulmuştur. Günümüzde ise yüksek yağlı diyetler (YYD) ve kafeterya diyetleri (KD) diyete bağlı obezite (DBO) modeli oluşturmak için sıklıkla kullanılan modellerdir (164,165). YYD için farklı oranlarda çeşitli yağ kaynakları kullanılır (hayvansal, bitkisel yağlar) ancak ne tam yağ içeriği ne de tam yağ bileşimi net değildir. Enerjinin %20 ila %60 yağ olarak sağlandığı çok sayıda farklı YYD diyet modeli vardır (166). Obezitenin oluşturulmasında KD' nin geleneksel YYD modellerine göre daha etkili olduğu ifade edilmesine rağmen daha az standartlaştırıldıkları için eleştirilmiştir (164). Diğer taraftan yapılan çalışmalar insan diyetine en çok benzeyen (yüksek kalori içeren) katkı maddesi içermeyen, tekrarlanabilir özelliği olan ve günümüz şartlarını yansıtan DBO modeli geliştirilmiş ve bu model Batı Diyeti (BD) olarak tanımlanmıştır (164). Bu bilgiler ışığında çalışmamız klasik DBO modelleri arasından BD modeli seçilerek tasarlanmıştır.

Batı diyeti, standart sıçan yemi içerisine farklı oranlarda çeşitli yağ ve şeker kaynakları eklenerek oluşturulmaktadır. Uzun dönem çalışmalar yüksek oranlarda yağ veya şeker kullanılarak hazırlanan BD'nin kilo alımını eşit oranda tetiklediğini belirlenmiştir (167). Bizim çalışmamızda hazırlanan Batı diyeti %45 yağ, %35 karbonhidrat ve %20 protein içermektedir.

Obezite modellerinde en belirgin bulgu kilo artışıdır. Diyet uygulanan her iki gruptaki (D ve DP) hayvanların ağırlıkları 9. haftadan son haftaya kadar diğer kontrol grubundaki hayvanlardan daha yüksekti. Bu fark 14. haftadan sonra istatistiksel olarak anlamlıydı. Gıda tüketimi azalmış olduğu halde diyet grubu sıçanlardaki kilo artışı batı diyetinin yüksek kaloriye sahip olması ile açıklanabilir. Bunun yanında diyetine *L.rhamnosus* GG ilave edilen DP grubundaki sıçanlar D grubundaki sıçanlardan daha düşük, KP grubundaki sıçanlarla benzer son ağırlığa ulaştı. Birçok çalışma, probiyotik takviyesinin kilo alımını azalttığı göstermiştir (168,169). Bizim çalışmamızda yapılan çalışmalara benzer şekilde yüksek kalorili diyet ile beslenmede *L.rhamnosus* GG takviyesinin kilo alımını azaltma eğiliminde olduğu ortaya konulmuştur.

Onubi ve arkadaşlarının (170) yaptıkları sistematik meta analiz sonuçlarına göre probiyotiklerin büyüme geriliği belirlenen çocuklarda kilo ve boy artışında gelişimi desteklediği ortaya konulmuştur. Ayrıca Elizabeth ve ark.(171) büyüme hormonu ile barsak mikrobiyomu arasındaki çift yönlü ilişkinin barsak ve metabolik sağlık üzerindeki potansiyel etkilerini göstermişlerdir. KP ve DP grubundaki sıçanların boyları ele alındığında literatürle uyumlu olarak bu gruptaki sıçanların boyları daha uzun ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu durumun kullandığımız probiyotik suşunun barsak mikrobiyomunu geliştirerek çift yönlü ilişki ile büyüme hormonu üzerinden kemik gelişimi desteklediğini ve sıçanların boylarının daha uzun olmasına katkı sağladığı söylenebilir. Sonuç olarak sıçanlarda sütten kesim sonrası *L.rhamnosus* GG takviyesinin gelişimi boy yönünden destekleyebileceği ortaya konulmuştur.

Invitro çalışmalara dayalı olarak çok suşlu probiyotikler, tek suşlu probiyotiklere göre patojenik mikroorganizmaların adezyonunu ve büyümesini daha iyi engelliyor gibi görünmektedir. Çok suşlu probiyotiklerin avantajı konakçı organizmada probiyotiklerin olumlu etkilerini artıran bakteriyel sinerjistik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Ancak probiyotik karışımında bakteri suşları arasında ne tür bir etkileşim olduğu net olarak ortaya konulmamıştır (172). Bizde çalışmamızda olumlu/olumsuz bütün etkileri elimine etmek için tek bakteri suşundan oluşan bir

probiyotik tercih ettik. Bu sayede kullandığımız suşun etkinliğini daha iyi analiz edebilecek veriler elde etmeyi amaçladık.

Hem yağ hemde karbonhidrat içeren batı diyeti ile beslenmeye bağlı şekillenen kilo artışının yanı sıra kan yağlarında ve karaciğer gibi metabolik organlarda da pek çok değişiklik meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da karaciğer yağlanması ve kardiyovasküler hastalıklar için risk artmaktadır. Ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riski ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilen kolesterol, tüm memeli hücreleri tarafından sentezlenen ve hücre zarının sertliğini, akışkanlığını ve geçirgenliğini düzenlemek için zar yapısında bulunan bir bileşiktir (173). Kolesterol çoğunlukla lipofilik bir molekül olduğu için kanda iyi çözünmez. Bu nedenle, bir lipid çekirdekten (kolesterol esterleri ve trigliseritler içerebilen) ve fosfolipidler, apolipoprotein ve serbest kolesterol içeren hidrofilik bir dış zardan oluşan lipoproteinler halinde paketlenir. Plazma lipoproteinleri beş ana sınıfa ayrılır: şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) (174). Total kolesterol, LDL, HDL ve TG standart “lipid profilinin” biyolojik belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Standart lipid profili, yalnızca kardiyovasküler hastalık için değil, aynı zamanda lipidle ilgili diğer anormallikler ve bozukluklar için de geleneksel bir biyobelirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (175). Probiyotik ve kolesterol ilişkisini çalışan Lahti ve arkadaşlarına (176) göre *L.rhamnosus*’un herhangi bir serum lidipi ile korelasyon göstermediğini bulmuşlardır. Aynı şekilde 3 hafta boyunca günlük *L.rhamnosus* verilmesi ile serum lipid profilinde önemli bir farklılık oluşturmadığı, IL-6 ile serum lidip profili arasında orta derece bir ilişki olduğu bulunmuştur (177). Yaptığımız çalışmada trigliserit, kolesterol ve HDL sonuçlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık varken LDL seviyelerinde fark bulunamadı. Kontrol grubuna göre probiyotik takviyesi alan KP grubunda TG, kolesterol ve HDL artmış LDL ise azalmıştır. Kontrol grubu ile KP grubu arasındaki fark anlamlı olmamakla birlikte probiyotik takviyesinin LDL seviyelerini düşürme ve HDL kolesterolü yükseltme eğilimde olduğu görülmüştür. İkili karşılaştırmada kontrol grubu ile diğer gruplar arasında fark yoktu. Ancak TG seviyelerinde KP ile DP, kolesterol seviyelerinde KP ile DP ve D ile DP, HDL seviyelerinde ise KP grubu ile hem D hemde DP grupları

arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Yüksek kalori ile beslenen diyet grubunda lipid profilinin olumsuz etkilendiği gözlemlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu farklılıkların kullanılan diyetin içeriği ve kullanım süresi ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Ancak probiyotik takviyesi ile beslenen KP grubunda HDL seviyelerinin artması ve LDL seviyelerinin azalması, DP grubunda ise TG ve kolesterol seviyelerinin azalması *L.rhamnosus GG* 'un lipid profil üzerinde olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir.

Kilo artışı ile direk ilişkili olan karaciğer hastalıklarının ilk tespiti ve yönetimi için genellikle bir dizi test kullanır ve bu testler, tek başına karaciğer fonksiyonunu değerlendirmede zayıf olmalarına rağmen, sıklıkla “Karaciğer fonksiyon testleri” olarak adlandırılmaktadır. Karaciğer fonksiyon testleri karaciğerin organik anyonları taşıma ve ilaçları metabolize etme kapasitesinin testleri (serum bilirubin, üre bilirubin..vb), hepatosit hasarını tespit eden testler (serum enzim testleri ALT, AST, ALP), karaciğerin biyosentez kapasitesinin testleri (serum protein, albümin..vb) şeklinde sınıflandırılmaktadır (178). Çalışmamızda albümin ve total protein seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Tüm gruplar kontrol grubuna göre artış gösteren total ve direk bilirubin seviyelerine sahipti. Ancak kontrol grubu ile KP ve kontrol grubu ile DP grupları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Bilirubinin antioksidan özellik gösterdiği, lipid metabolizmasını aktive etme yeteneği ile obeziteye karşı koruyucu olabileceği ve orta seviyelerdeki artışların faydalı etkileri olduğu belirtilmiştir (179). Bilirubinin barsaklardan geri emiliminde barsak mikrobiyotasının önemli olduğundan; çalışmamızda probiyotik takviyesi ile barsak mikrobiyotasının düzenlenerek bilirubin seviyelerini arttırdığı sonucuna varılabilir. Bunun yanında hafif yüksek bilirubinin düzeylerinin düşük kolesterol, LDL ve trigliserit konsantrasyonları ile ilişkili olduğu ve proinflamatuvar durumun azalmasına katkı sağladığını belirten (180) çalışma ile uyumlu olarak DP grubunda bilirubin seviyeleri artarken kolesterol, trigliserit ve LDL seviyelerinin azaldığı görülmektedir. Bunun *L.rhamnosus GG* ile gerçekleşebileceği görülmektedir.

Alkalen fosfataz seviyeleri kontrol grubuna göre KP grubunda düşük D ve DP grubunda yüksek ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Esas olarak safra kesesi ve

kanallarına spesifik olan ALP seviyelerindeki yükselmenin nedeni yüksek yağlı diyet ile beslenme sonucunda artan safra akışı ile ilişkili olabilir. Sıçanlarda safra kesesi olmamasına rağmen safra akışının devamlılığını sağlayan kanalların varlığı bu artışı desteklemektedir. Probiyotik takviyesinin ALP seviyesini düşürdüğü, yüksek kalorili diyetin ise serum ALP seviyelerini yükselttiği söylenebilir.

Yüksek kalorili diyetler pozitif enerji balansına neden olarak karaciğerde yağlanma ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilir. Karaciğer fonksiyon testlerindeki orta düzeyli artışlar buna işaret edebilir. Çalışmamızda serum AST seviyelerinde K ve KP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme görülen D grubunda bu artışın sebebi yüksek kalorili diyet ile beslenme olabilir. Serum ALT seviyelerinde ise KP ile D ve KP ile DP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu. Sonuçların kontrol grubundan daha yüksek ve diğer gruplardan daha düşük olması probiyotik takviyesi ile ilişkilendirilebilir.

Yine kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülen D grubundaki GGT seviyelerinin yüksek kalorili beslenme ile meydana geldiği söylenebilir. Bunun yanında DP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmesi (D grubuna göre) yüksek kalorili beslenmede çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesinin serum GGT seviyesinin düşmesine katkı sağladığı ve karaciğer fonksiyonları üzerine olumlu etkileri olduğu söylenebilir.

Karaciğer kan dolaşımının büyük kısmı portal venden sağlandığından, bağırsak kaynaklı toksinler ve mikrobiyal ürünler sürekli olarak karaciğere uğramaktadır. Buna bağlı olarak karaciğer yüksek miktarlarda mikroorganizmalardan türetilen metabolitleri de almaktadır. Bu sebeple karaciğer bağırsak mikrobiyaya bileşimi ve işlevinden büyük ölçüde etkilenebilir (181). Tüm bu sebeplerden dolayı D grubunda yüksek kalorili beslenmeye bağlı olarak barsak mikrobiyomunda dengesizlik oluştuğu ve buna bağlı olarak serum ALT, AST, ALP ve GGT seviyelerinde artma olduğu, probiyotik takviyesinin ise barsak mikrobiyaya dengesine katkıda bulunarak karaciğer fonksiyonlarına olumlu katkı sağladığı söylenebilir.

Karaciğer fonksiyon testlerin dışında kalan ve pek çok hastalıkta artış gösterebilen bir enzim olan LDH seviyesi de diyet grubunda istatistiksel olarak artış

görüldü. Diyet+probiyotik grubunda ise D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Yüksek kalorili beslenmeye bağlı serum LDH seviyesinin D grubunda arttığı ve probiyotik takviyesinin yüksek kalorili beslenmeye bağlı bu artışı azaltmaya katkı sağladığı söylenebilir. Son olarak diyet grubunda CK seviyesi diğer gruplardan daha yüksekti. Kontrol grubuna ve DP grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek CK seviyelerine sahip olan D grubundaki bu artışın diyetin içeriğine bağlı olarak meydana geldiği ve çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesinin ise bu durumu tersine çevirmeye katkı sağladığı söylenebilir. Tüm rutin biyokimyasal testler ele alındığında diyetle ilave olarak *L.rhamnosus GG* takviyesinin sadece bağırsak sağlığı için değil aynı zamanda karaciğer sağlığı üzerine de olumlu etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Yüksek kalorili diyet ile beslenme sonucunda meydana gelen kilo artışının en önemli etkilerinden biri de vücudun en büyük endokrin organı olan adipoz doku üzerinedir. Adipoz doku pek çok hormonun salınımının yanı sıra insülin direnci ve metabolik hastalıkların patogeneğinde rol oynayan inflamatuvar ve antiinflamatuvar özellikte biyolojik aktif maddelerin de salınımından sorumludur. Adiponektinin, birincil insan monositlerinde, monosit türevli makrofajlarda ve dendritik hücrelerde anti-inflamatuvar aracılar IL-10 ve IL-1 reseptör antagonistinin (IL-1RA) üretimini indüklediği için güçlü immünosupresif özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (182). Adiponektin, metabolizma, bağışıklık sistemi ve yangısal süreçler üzerinde geniş bir fizyolojik etkiye sahiptir (183). Adipositler tarafından adiponektin ekspresyonu obezite, TNF- α ile IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yüksek seviyeleri, hipoksi ve oksidatif stres gibi durumlarda inhibe edilir. Obezite ile beraber tip 2 diyabet ve insülin direnci olan kişilerde de plazma adiponektin düzeyleri düşmüş ve bu düşüş vücut kitle indeksi ile ters orantılı bulunmuştur. Özetle artan seviyeler kilo kaybı ile ilişkilendirilirken, azalan seviyeler kilo alımı ile bağlantılıdır (4). Çalışma gruplarımızdan elde ettiğimiz verilere göre KP ve D grubu adiponektin seviyeleri benzer olup, K ve DP grubundan yüksek ve istatistiksel olarak anlamlıdır. KP grubundaki bu artışın nedeni normal diyetle ilave olarak probiyotik takviyesinin adiponektin üzerinden anti-inflamatuvar etkinliği indüklemesi olabilir. Bu bulguyu aynı grupta artan IL-10 düzeyleri ile doğrulayabiliriz. Kilo artışı görülen sıçanlarda beyaz yağ dokusu kütlesindeki artış hem hipertrofi hem de hiperplazi ile

olmaktadır. Hiperplazi ile adipositlerin sayısının artması potansiyel olarak adiponektin üretebilen hücre sayısının artması anlamına gelir bu da muhtemelen serum adiponektin seviyelerinin artmasıyla sonuçlanabileceği belirtilmiştir (184). Çalışmamızda D grubundaki artışın beyaz yağ doku hiperplazisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan D grubunda artan adiponektin seviyeleri Giles ve ark. (185) ın adiponektinin inflamatuvar hastalıklarda yararlı etkisinden çok zararlı olduğunu ortaya koyduğu çalışma ile uyumlu olarak artmış olabilir. Sonuç olarak kilo artışı ve vücut kitle indeksi diğer gruplardan daha yüksek olan D grubunda yüksek kalorili diyet ile beslenmenin adiponektin seviyelerini arttırdığı görülmüştür. Diğer taraftan KP grubunun aksine antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 seviyeleri de düşmüştür.

İki haftalık yüksek yağlı diyet ile beslenmeden sonra, yağ kütlesinin ağırlığının üç kat arttığı ancak hücre boyutunun ise bu sürede bir plato evresine geçtiği bulunmuştur. Ağırlıktaki bu artış histolojik olarak hiperplazi olarak tanımlanmıştır (186). Karmiris ve ark. (187) inflamatuvar barsak hastalığında serum adiponektin düzeylerinin arttığını bulmuşlardır. Aynı şekilde Yamamoto ve ark. (188) inflamatuvar barsak hastalıklarından olan Crohn hastalığında da mezenterik yağ dokusundan adiponektin üretiminin arttığını göstermişlerdir. Bu bilgiler ışığında D grubunda artan adiponektin seviyelerinin beyaz yağ doku hiperplazisi ile ilişki olabilir.

L. rhamnosus tedavisinin yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kilo alımını azaltarak insülin duyarlılığını arttırdığını ve karaciğer ve mezenterik yağ dokusunda lipid birikimini azalttığı bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak, *L. rhamnosus*' un adiponektin üretiminin artırılması yoluyla metabolik sendromun iyileştirilmesi üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür (189). Ancak Rouhani ve ark. (190) yaptığı metanaliz raporuna göre kontrollerle karşılaştırıldığında probiyotik takviyesi alan gruplardaki adiponektin seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığı ifade edilmektedir. Bizim çalışmamızda da KP grubunda adiponektin seviyeleri K grubuna göre artış göstermiştir. Yüksek kalori ile beslenen ve probiyotik takviyesi alan DP grubunda ise K grubuna benzer sonuçlar elde edilmiştir. Diyet grubunda yüksek kalori ile beslenme adiponektin seviyelerini

yükseltmiş, probiyotik ilavesinin DP grubunda adiponektin seviyelerini (D grubu ile karşılaştırıldığında) azalttığı görülmüştür. Buradan yola çıkarak sağlıklı bir diyet ile beslenmeye ilave olarak alınan *L.rhamnosus* GG adiponektin ve IL-10 artışı ile antiinflamatuvar, yüksek kalorili diyet ile beslenmeye artan adiponektin ve azalan IL-10 seviyeleri ise inflamatuvar sonuçlarla ilişkilendirilebilir. Batı diyetine ilave edilen probiyotik takviyesi ise daha ziyade antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10'u arttırırken adiponektin düzeylerinin kontrol grubu ile aynı seviyede tutmuş ve yine antiinflamatuvar bir etkinlik göstermiş olabilir.

Bir diğer anti-inflamatuvar adipokin olan omentin, insanlarda dolaşımda bulunan bir adipositokindir. Omentin visceral yağ dokusunda yüksek oranda eksprese edilirken, obez kişilerde dolaşımdaki omentin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Omentin ayrıca insülin direnci, glukoz intoleransı ve tip 2 diyabet gibi obeziteye bağlı metabolik bozukluklarla bağlantılı olarak azalmaktadır (83). Chorda ve ark. (191) insülin direnci olan obez çocuklarda probiyotik takviyesinin omentin seviyelerini yükselttiğini bulmuşlardır. Zarrati ve ark. (192) ise klinik olarak aşırı kilolu yada obez kişilerde düşük kalorili beslenmeye ilave olarak verilen probiyotik yoğurdun normal yoğurt ile beslenmeye göre omentin seviyelerinin düşmesini engellediğini ortaya koymuştur. Serum omentin seviyeleri ile özellikle çocukluk çağı obezitesi arasındaki ilişkiyle ilgili çelişkili sonuçlar vardır (75). Catli ve arkadaşları (193) obez çocuklarda normal kilolu çocuklara göre serum omentin düzeylerinin azaldığını ve serum omentin-1 düzeyleri ile VKİ ve insülin direnci arasında negatif korelasyonlar olduğunu göstermiştir. Prats-Puig ve arkadaşları (194) ise insülin direnci, yüksek açlık serum trigliserit ve kan basıncı seviyeleri, ailede diyabet öyküsü ve düşük adiponektin seviyeleri olan obez hastalarda serum omentin seviyelerinin arttığını bulmuşlardır. Özetle dokulardaki ve dolaşımdaki omentin düzeylerindeki değişikliklerin diyabet, obezite, ateroskleroz, iltihaplanma ve metabolik sendrom gibi hastalıklarla bağlantılıdır (75). Omentinin başlangıçtan sonraki akut faza karşı koymak için artma eğiliminde olmasının muhtemel olduğu ifade edilmiştir ve bulguların omentinin bu hastalıklar için negatif bir risk faktörü olabileceğini ve ayrıca pleiotropik etkileri nedeniyle akut faz reaktanı olarak hareket edebileceği sonucuna varmışlardır (75). Batı diyeti ile probiyotiklerin omentin değişimine etkisini ilk kez deneysel olarak araştırdığımız çalışmamızda, omentin seviyelerinin

en yüksek DP grubunda olduğu görülmüştür. Diğer taraftan DP grubunda TNF- α düzeyleri en düşüktür. Hong-Yan Pan ve arkadaşlarının (77) çalışması ile uyumlu olarak omentin seviyelerinin TNF- α seviyelerinin düşmesine aracılık ederek anti-inflamatuvar özellik gösterdiği söylenebilir. Ayrıca yine bu grupta ölçülen yüksek omentin seviyelerinin kolesterolün düşmesine de katkı sağladığı söylenebilir. Aynı şekilde omentin ile VKİ, trigliserit ve kolesterol seviyelerinin negatif korelasyon gösterdiğini belirtilen çalışmalar (82-87) ile uyumlu olarak DP grubunda bu parametrelerin en düşük seviyelerde olduğu görülmüştür. KP grubunda ise diğer gruplardan daha düşüktür. Bunun yanı sıra KP grubu ile diğer gruplar arasında (DP hariç) istatistiksel olarak bir fark yoktur. Probiyotik takviyesinin vücut yağ yüzdesi üzerine olumlu etkileri olabileceği ve KP grubundaki düşüşün çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesi ile vücut yağ yüzdesinin azalması sonucunda olabileceği düşünülmüştür. Yüksek kalori ile beslenmeye bağlı olarak yağ dokuda meydana gelen hipertrofi ve hiperplazi neticesinde omentin seviyelerinin yükselmesine neden olabilir. Yüksek kalori ile beslenmeye ilave olarak probiyotik takviyesi alan DP grubundaki değerlerin D grubundan yüksek olması ise oluşan yağ doku hiperplazi/hipertrofisine cevap olarak omentin seviyelerinin arttığını düşündürmektedir. Ayrıca probiyotik takviyesi *L.rhamnosus* GG suşunun DP grubunda olası inflamasyonu azaltması sonucunda da omentin-1 seviyeleri artmış olabilir. Nosrati ve arkadaşlarının (195) meta analizi diyet içeriğinin (yüksek/düşük yağlı) serum omentin seviyeleri üzerine çelişkili etkileri olduğunu göstermektedir. Aslında tüm sonuçlar birlikte ele alındığında probiyotik takviyesi yaptığımız her iki grupta (KP-DP) istatistiksel olarak sonuçların farklı olmasını diyetle bağlayabiliriz. Her iki durumda da omentinin pleiotropik etkilerini yansıttığı sonucuna varılabilir.

SFRP5'in adipositlerde yüksek oranda eksprese edilen obezite ve tip 2 diyabette önemli ölçüde azalan anti-inflamatuvar adipokinlerden bir diğeridir. SFRP5 deki bu düşüş insülin direncini indükler ve adipoz doku makrofajlarının inflamatuvar yanıtını değiştirir (196). SFRP5'in kronik inflamasyonu engellediği ve sonuç olarak insülin duyarlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir. SFRP5'in genetik ve/veya diyetle bağlı obezite sırasında beyaz yağ doku ekspresyonunun indüklendiğini söyleyen çalışmaların yanı sıra kilo alımı ile baskılandığını belirten çalışmalar da mevcuttur (89,197). Bizim çalışmamızda da elde edilen veriler her iki sonucu destekler nitelikte

olmakla birlikte en yüksek seviyede SFRP5 kontrol grubunda ölçülmüştür. Yine kontrol grubundaki yüksek SFRP5 seviyelerinin bu gruptaki serum IL-1 β , IL-4, IL-6 ve TNF- α gibi proinflatuar sitokinlerin düşmesine katkı sağlamış olabilir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda anlamlı bir azalma görülmüştür. Yüksek kalorili diyet ile beslenme sonucunda oluşan inflamatuvar durumda artan TNF- α Wnt sinyal yolunu uyararak SFRP5 gen ekspresyonunu ve protein salgılanmasını azaltabileceğini belirten (197) çalışma ile uyumlu olarak diyet grubumuzda artan TNF- α nın SFRP5 seviyelerinde düşmeye neden olduğunu söyleyebiliriz. Benzer durum KP grubu içinde geçerli olup diyete bağlı olmaksızın TNF- α nın bu grupta SFRP5 seviyelerinin azalmasında etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca yüksek kalorili diyetin adiposit hipertrofisine neden olması ve yeni adipositlerin olgunlaşıp farklılaşmasına engel olması SFRP5 seviyelerinin düşmesine neden olmuş olabilir. Hiroyuki ve arkadaşlarının (88) yaptıkları çalışmaya göre SFRP5 eksikliğinin Wnt sinyalini yükselttiğini ve bu sayede obezogenik koşullar altında adiposit hipertrofisine dirençli farelerin oluşmasına neden olduğu sonucuna varmışlardır. Adiposit hipertrofisinin olumsuz metabolik profil ve diyabet ile ilişkili olduğu (198,199) düşünüldüğünde obezogenik koşullarda SFRP5 seviyelerinin düşmesi metabolik bozukluklara karşı koruyucu nitelikte olabilir. Son olarak Dominik ve arkadaşlarının (200) insan denekler kullanarak yaptığı çalışmada obez ve normal kilolu insanların serum SFRP5 seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Tüm bu bilgiler ışığında *L.rhamnosus* GG ve SFRP5 arasındaki ilişkiyi ilk kez gösteren çalışmamızın sonuçlarına göre yüksek kalorili diyetin SFRP5 düzeylerinin düşmesine neden olduğu, *L.rhamnosus* GG takviyesinin ise yüksek kalorili beslenme ile meydana gelen bu düşüşü engelleme eğiliminde olduğu söylenebilir.

Son olarak anti-inflatuar bir adipokin olarak ele aldığımız CT-1, ileri kardiyovasküler hastalıklara özgü yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin bir belirtisi olarak görülmektedir. Ancak bu kardiyovasküler etkiler bazen birbiri ile çelişkili olabilmektedir. CT-1'in farklı aktiviteleri, farklı sinyal yolları tarafından meydana getirilmektedir (201). Aynı şekilde CT-1 serum seviyeleri ve obezite arasındaki ilişki ile ilgili olarak, çelişkili sonuçların nedeni farklı çalışma popülasyonları nedeniyle farklı sonuçların elde edilmesi olabilir (202). Kardiyotropin-1'in yağ yıkımını ve oksidasyonu içeren metabolik yolları desteklediği ve lipit depolama yollarını azalttığı

öne sürülmektedir. Obez farelerin karaciğerinde kronik CT-1 uygulamasının de novo lipogenezi engellediğini, yağ asidi oksidasyonunu uyardığını ve lipootofajiyi desteklediği bulunmuştur. Bu da karaciğerde CT-1'in anti-steatotik etkilere neden olabileceğini doğrulamaktadır (203).

Moreno ve ark (99) 2 aylıkken benzer vücut ağırlığı gösteren gruplardaki hayvanlarda obezitenin 6 ayda belirginleştiğini ve zamanla ilerleme gösterdiğini belirtmişlerdir. Söz konusu çalışmanın sonuçlarına bakarak deney gruplarımızdaki hayvanlarda belirgin bir obezite şekillenmediğini ve henüz metabolik bozukluk oluşmadığını söyleyebiliriz. Diyet grubu ile DP grubunun aynı yüksek kalorili diyet ile beslendiği için bu iki grup arasındaki farkların probiyotik kullanıma bağlı olduğu olduğu söylenebilir. CT-1 ağırlıklı olarak kardiyak hastalıklar ve hipertansiyon ile ilişkisi araştırılmış olmasına rağmen obezite ile ilişkisini de açıklayan çeşitli çalışmalar olmasına rağmen probiyotikler ile batı tipi beslenme ve CT-1 arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamız artan ağırlık artışı ile CT-1 seviyelerinin düştüğünü belirten çalışmalar ile uyumludur. Diyet grubu dışındaki diğer üç grupta (K, KP, DP) vücut ağırlıkları benzer, D grubundan düşük bulunmuştur ve CT-1 seviyeleri de buna uyumlu olarak D grubunda en düşüktür. Diyet grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diyet grubu dışındaki diğer gruplarda (K, KP ve DP) vücut ağırlıkları ve CT-1 seviyelerinin benzer olması CT-1 seviyelerinin kilo artışı ile düştüğünü doğrular niteliktedir. Diyet grubunda görülen CT-1 seviyelerindeki düşme kilo alımı ile ilişkilendirilirken DP grubunda kullanılan probiyotik takviyesinin CT-1 seviyelerinin düşmesine engel olduğu görülmüştür. Kontrol ve KP grupları arasında istatistiksel olarak benzer olan sonuçlar normal diyetlerde *L.rhamnosus* GG'nin CT-1 seviyesi üzerine etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Sonuç olarak vücut ağırlığı değişimlerinin CT-1 seviyelerini tahmin etmede faydalı olabileceği ve CT-1 ile vücut ağırlığı arasında ters yönlü bir ilişki olduğu söylenebilir.

Yapılan bu çalışmada yukarıda açıklanmaya çalışılan antiinflamatuvar adipokinlere ek olarak bazı inflamatuvar adipokin seviyeleri de değerlendirilmiştir. Bunlardan ilki adiposit proteini 2 (aP2) olarak da bilinen FABP4 olup vücut homeostazisi için önemli olmasına rağmen besin fazlalığı veya kronik stres gibi

dengeinin bozulduğu durumlara adaptasyonu zayıftır. FABP4, adipositlerde en bol bulunan proteinlerden biridir (204). Hormona duyarlı lipaz ve peroksizom PPAR-y (Peroxisome proliferator-activated receptor) ile etkileşimler yoluyla adiposit homeostazının korunmasında, lipoliz ve adipogenezin düzenlenmesinde rol oynar (205). Açlık durumunda FABP4 sitoplazma içindeki serbest yağ asitlerini bağladığı ve serbest kalan lipidlerin lipolitik enzimler tarafından parçalanmalarına ve hücreden serbest bırakılmalarına katkıda bulunduğunu ifade edilmektedir (204). Bu tepki, uzak dokular için gerekli olan enerjiyi sağlar. Buda uzun süreli metabolik açlık durumu için hayatta kalma süresini uzatabilir. Ancak yağ dokusunda bol miktarda bulunan FABP4 insülin direncine sahip ve kontrolsüz lipolizin meydana geldiği obezitede sürekli devreye girer. Bu karaciğer, kardiyovasküler sistem ve pankreatik β hücreleri de dahil olmak üzere birçok doku tipinde zararlı etkilere yol açar (206). Genetik olarak FABP4 geni bulunmayan farelerin, diyetle bağlı obezite, genetik obezite veya hiperkolesterolemi gibi farklı immünmetabolik stres koşulları altında bazı metabolik hastalıkların gelişimine karşı korunduğu iddia edilmiştir. Bununla birlikte bu stres koşullarında FABP4'ün devreye girmesi bazı immünmetabolik hastalıkların (diyabet, astım, kanser) şiddetini de arttırabilir (204).

Obez FABP4 geni olmayan fareler, marjinal olarak daha yüksek plazma serbest yağ asitlerine ve daha düşük trigliserit seviyelerine sahiptir. Bunun nedeni FABP4 eksikliğinin yağ dokusu tarafından yağ asiti alımını olumsuz etkilemediğini, ancak potansiyel olarak trigliserit sentezine veya salgılanmasına müdahale ettiğini göstermektedir (115). Yaptığımız çalışmada vücut ağırlığı en yüksek olan D grubunda en düşük FABP4 seviyeleri belirlenmiştir. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kontrol grubuna göre tüm gruplarda FABP4 seviyeleri düşme eğiliminde olmasına rağmen probiyotik takviyesinin FABP4 seviyelerinin düşme eğrisini yavaşlatmış gibi görünmektedir. Yüksek kalorili diyet grubunda ise düşüşün en fazla olduğu göze çarpmaktadır.

Obez FABP4 geni olmayan hayvanlardaki insülin konsantrasyonları, normal ve heterozigot farelerdekinden daha düşük olmasına rağmen normal fareler FABP4 geni olmayan farelerden daha yüksek kan glikoz konsantrasyonlarına sahiptir. Diğer taraftan obez FABP4 geni olmayan farelerinin yağ dokularındaki TNF- α

ekspresyonu, obez olan normal ve heterozigot hayvanlarınkinden daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle, obez FABP4 geni olmayan farelerde yağ dokusunda obezitenin neden olduğu TNF- α ekspresyonunun eksikliğinden dolayı insülin direnci şekillenmektedir (115).

Bizim çalışmamızda FABP4 seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak yukarıda verilen bilgilere paralel şekilde ağırlık olarak en yüksek olan D grubunda FABP4 seviyesi düşme eğilimindeydi. Yine D grubunda TNF- α seviyesi KP grubundan daha düşük açlık glikoz seviyesi ise en yüksek olan D grubudur. Probiyotik takviyesi alan KP grubu FABP4 seviyeleri K grubundan düşük DP grubu ise D grubundan daha yüksek seviyelerde ölçülmüştür. FABP4 seviyelerindeki farklılık bu adipokinin homeostazın sürdürülmesi için önemli ancak besin fazlalığı veya kronik stres koşullarına uyumsuz olduğu göstermektedir. Reszka ve ark. (207) domuzlarda yaptığı ve farklı diyet modelleri kullandığı çalışmada probiyotik takviyesinin FABP4 gen ekspresyonunu azaltırken probiyotik takviyesi almayan diğer grupta yükseldiğini bulmuşlardır. Bunun yanında başka bir çalışmada *L.plantarum* suşunun lipojenik genleri (PPAR γ , C/EBP α , FAS ve FABP4) aşağı regüle ederek farklılaşmalarını ve lipid birikimini inhibe ettiğini göstermektedir (208). Aşırı beslenme üzerine tasarlanmış bir çalışmada FABP4 seviyesinin başlangıca göre arttığı fakat probiyotik takviyesi ile FABP4 seviyelerinde azalma meydana geldiği görülmüştür (209). Sonuç olarak çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda daha düşük olduğu gözlenen FABP4 seviyeleri probiyotik ilavesi ile daha yavaş bir düşüş sergilemiştir.

En yüksek karaciğer ve kaslarda olmak üzere kemik iliği, kalp, plasenta, akciğer ve böbrek dokularında visfatinin ekspresyonu gerçekleşmektedir (210). Daha sonraları Visfatin'in yağ dokuda, karaciğerde, kasta ve bağışıklık hücrelerinde ekspresyonunun varlığı ortaya koyulmuştur (117,211). Başlangıçta B hücresi gelişiminde rol oynayan çözünür bir faktör olduğu varsayılmıştır. Bu sebeple ismi pre-B-hücresi koloni arttırıcı faktör (PBEF) olmuştur (210). Diğer taraftan T-hücreleri, monositler, nötrofiller ve makrofajlar dahil olmak üzere birçok bağışıklık hücresinin aktivasyonu üzerine etkilidir (212).

Serum visfatin düzeylerinin ölçümünde kullanılan farklı immünolojik yöntemler arasındaki tutarsızlıklar nedeni ile bu adipositokinin insanlarda kilo alımı, insülin direnci ile ilişkisi ve metabolik parametreler üzerindeki etkisi halen tartışılmakta ve visfatinin obezite veya metabolik parametrelerle ilişkisi olmadığı da ifade edilmektedir (213). Dolaşımdaki visfatin seviyeleri ile diyabet, çeşitli obezite türleri ve hatta dislipidemi gibi metabolik bozukluklar arasında da hiçbir ilişki ortaya konulmamıştır (212). Çalışmamızda KP, D, DP gruplarında serum visfatin düzeyleri benzer ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Kontrol grubu dışındaki üç grup arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Ancak yüksek kalorili diyet grubundaki azalma diğer 2 gruptan daha fazladır. Sonuçlarımız visfatinin kilo artışı ve yüksek kalorili beslenmede düşme eğiliminde olduğunu ve çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesinin visfatindeki düşme eğilimini azalttığını göstermektedir. Ayrıca kontrol grubunda ölçülen yüksek visfatin düzeylerinin aynı grupta düşen inflamatuvar sitokinler ile arasında bir ilişki olduğu ve inflamatuvar yanıtta etkili olabileceği düşünülmektedir.

Kim ve ark. (214) domuzlarda çoklu *Lactobacillus* takviyesi kullanarak yaptıkları çalışmada *Lactobacillus* takviyesi alan grupta visfatin mRNA ekspresyonlarının bazal diyet grubuna kıyasla azaldığını bulmuşlardır. Sıcaklık stresine maruz bırakılan kekliklerde üzerinde yapılan bir çalışmada *Lactobacillus reuteri E81* probiyotik takviyesi ile visfatinin azalan seviyeleri arasında korelasyon bulunmuştur (215). Suşu aynı olmasada KP grubunda kullandığımız *Lactobacillus* takviyesi ile visfatin seviyesi düşmüştür. Söz konusu iki araştırmanın da çiftlik hayvanları ile yapıldığı gerçeğine dayanarak mevcut çalışmamız, deney hayvanı kullanılan ilk çalışma olma özelliğine sahiptir.

Vaspinin, serin proteaz inhibitör ailesinin bir üyesi olup visceral yağ dokusu kaynaklı bir adipositokindir (124). Serpin olarak da adlandırılan vaspin OLETF sıçanlarının visceral beyaz adipoz dokularından izole edilmiştir. Vaspinin, 6 haftalık OLETF sıçanlarda çok zor saptandığı ancak obezite, vücut ağırlığı ve insülin seviyelerinin zirve yaptığı düşünülen 30. haftada visceral yağ doku adipositlerinden yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir. Vaspinin doku ekspresyonu ve serum

seviyeleri, diyabetin ilerleyen dönemlerinde (özellikle 50. haftadan sonra) görülen vücut ağırlığı kaybı ile azaldığı belirtilmiştir (125).

Düşük serum vaspin konsantrasyonu, normal glukoz toleransı olan zayıf bireylerde yaşla, yüksek vaspin serum konsantrasyonlarının ise obezite ve bozulmuş insülin duyarlılığı ile ilişkilidir. Ancak tip 2 diyabet varlığında artan vaspin seviyeleri ile obezite ve bozulmuş insülin duyarlılığı ilişkili olmayabilir. Vaspin serum konsantrasyonu, BMI ve vücut yağ kütlesi dahil olmak üzere obezite ve yağ dağılımı ölçümleri ile de ilişkilendirilmiştir (130).

Vaspin'in obez ICR (toksikite, farmakoloji, ilaç etkinliği ve immünoloji dahil olmak üzere çok çeşitli alanlardaki çalışmalar için kullanılan, hızlı büyüyen, saldırgan olmayan ve nispeten büyük bir model olup üretilen enstitünün ilk harfları ile isimlendirilmiş; Institute of Cancer Research) farelerinde glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını ve insülin direnciyle ilgili genlerin bozulan ekspresyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (125). Bu nedenle, insanlarda yağ dokuda vaspin ekspresyonunun indüklenmesinin, azalan insülin duyarlılığına veya glukoz metabolizmasının bozulmasına yanıt olarak yağ dokusunun bir telafi mekanizması olabileceği varsayılmaktadır. Diğer taraftan yağ dokusunda insan vaspin mRNA ekspresyonu zayıf ve sağlıklı olan bireylerde tespit edilememiştir. Ancak artan yağ kütlesi, azalmış insülin duyarlılığı ve bozulmuş glukoz toleransı ile indüklenebileceği gösterilmektedir (216). Bizim çalışmamızda da serum vaspin konsantrasyonlarının K, KP, D ve DP gruplarında sırası ile arttığı ortaya konulmuştur. Plazma vaspin seviyeleri ile TNF- α arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir (217). Çalışmamızda serum vaspin seviyeleri ile TNF- α arasındaki ilişki K ve D gruplarında aynı yönde iken DP grubunda ters yönlüdür. Adipoz doku TNF- α kaynağıdır ve kilo alımı ile TNF- α salınımı uyarılır. Diyet+probiyotik grubunda kilo artışına rağmen TNF- α seviyeleri probiyotik takviyesinin olumlu etkilerini yansıtır nitelikte düşük ölçülmüştür.

İnsan serum vaspin konsantrasyonlarının yemekten önce arttığı ve yemekten sonra azaldığı gösterilmiştir. Deneklerin yemek zamanlarını önceden bildikleri bir çalışmada, serum vaspin seviyelerinde öğün öncesi bir artış gözlenmesi yemeklere yönelik beklenen bir yanıt olabileceğini düşündürmüştür. Aynı çalışmada serum

vaspin seviyelerinin sabah kahvaltısından önce de en yüksek olduğu belirlenmiştir. Serum vaspin konsantrasyonlarındaki gıda alımı ile ilgili bu değişiklikler, besin ve vücut ağırlığı homeostazının düzenlenmesinde vaspinin bir rolü olduğunu düşündürmektedir (218). Bizim çalışmamızda da 8-12 saatlik açlık sonrası kan örnekleri alınan sıçanlarda vaspin konsantrasyonunun artışı literatür verileri ile uyumludur. Ayrıca açlık kan glikoz düzeylerinin yüksek olduğu D ve DP grubunda artmış vaspin düzeyleri bu bulguyu destekler niteliktedir. Ancak kontrol grubu ile aynı açlık kan glikoz seviyelerine sahip KP grubunda da vaspin seviyelerinin artışı probiyotik ilavesinin açlık/tokluk üzerine etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında D grubunda bozulmuş olan glukoz homeostazı ve insülin sinyallemesinin düzenlenmesine cevap olarak vaspin serum konsantrasyonlarının arttığı düşünülebilir.

Merkezi vaspin uygulamasının gıda alımının azalmasına yol açtığını belirten (127) literatürlere dayanarak DP grubunda vaspin düzeylerindeki artışın besin alımını azaltmak için telafi edici bir rol oynadığını düşündürmektedir. Gonzalez ve ark.(219) büyüme hormonu eksikliği olan sıçanların insülin seviyelerinin daha düşük, beyaz yağ doku vaspin mRNA ekspresyonunun ise aynı yaştaki kontrol sıçanlarıyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde düşük olduğunu bulmuş ve sonuç olarak büyüme hormonu eksikliğinin vaspin seviyelerini düşürdüğünü öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda DP grubundaki sıçanların diğer gruplardaki sıçanlara göre nazo-anal uzunluk bakımından daha üstün olduğunu da göz önünde bulundurursak ölçülen yüksek vaspin seviyelerinin büyüme hormonu ile yükseldiğini düşünebiliriz. Ayrıca yükselen serum vaspin seviyelerinin artan yağ dokuya bağlı komplikasyonların telafi edilmesi için de yükselmiş olabileceği de göz ardı edilmemelidir. Bunun yanı sıra vaspinin istirahat metabolizma hızını arttırdığına dair bir rolü olabileceğini belirten Moradi ve ark. (220) çalışmasına uyumlu olarak vaspin seviyeleri yükselmiş olabilir. Ayrıca yine bu grupta iştahın uyarılmasında etkili olan asprosin seviyeleri ile yarışmalı olarak iştahın azaltılması için serum vaspin seviyeleri artmış olabilir. Son olarak yapılan taramalarda serum vaspin düzeylerinin incelendiği ve probiyotik takviyesinin kullanıldığı başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamız *L.rhamnosus* GG takviyesinin serum vaspin seviyelerinin artmasına katkı sağladığını göstermektedir.

Romero ve arkadaşları tarafından keşfedilen asprosin, insan ve farelerde insülin direnci ile birlikte patolojik olarak yükseldiği ve asprosinin azaltılması, metabolik sendromla ilişkili hiperinsülinemiye karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir (135). Metabolik sendromdaki serum asprosin artışının, adipozite, hiperglisemi veya hiperlipidemi tarafından oluşturulan metabolik strese karşı koymak için telafi edici olabileceği belirtilmiştir (221).

Karaciğerin asprosinin etki bölgesi olduğu hiperinsülinemik-öglisemik klemp uygulaması ile yüksek plazma asprosin seviyeleri ve hepatik glukoz üretimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Ancak aynı çalışmaya göre periferik organların insüline yanıt olarak glikoz alma yeteneği üzerinde hiçbir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Bunun yanında izole edilmiş birincil fare hepatositleri 2 saat boyunca artan konsantrasyonlarda rekombinant asprosine maruz bırakmış ve doza bağlı glikoz konsantrasyonunda bir artış göstermiştir. Bu da asprosinin hepatositler üzerinde doğrudan bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur (135). Açlık ve kilo alımının plazma asprosini indüklediği ve glikoz üretimini arttığı gösterilmiştir (136). Sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde asprosinin en yüksek seviyeleri DP grubundadır. Çalışmamızda D ve DP gruplarında açlık kan glikoz düzeylerinin diğer gruplardan (K, KP) daha yüksek olması ile asprosin arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Yine artan vücut ağırlığı ile aynı yönlü olarak D ve DP gruplarında asprosin seviyeleri yüksektir. Diğer taraftan belirgin bir obezite ve metabolik sendrom gelişimi hakkında herhangi bir laboratuvar bulguya rastlamadığımız DP ve D grubundaki serum asprosin yükselmesinin hiperglisemi veya hiperlipidemi tarafından oluşturulan metabolik strese karşı telafi edici olabileceği düşünülebilir. Bunun yanında DP grubundaki yüksek asprosin seviyeleri ile aynı grupta ölçülen düşük adiponektin ve yüksek vaspin arasında bir ilişki olabilir. Asprosinin iştahın uyarılması ve vaspinin yem tüketimini azaltıcı etkileri nedeniyle özellikle DP grubunda bu iki adipokin seviyelerinin yarışmaları olarak arttığı düşünülebilir. Asprosin ile IL-6 arasında pozitif korelasyon olduğunun belirtildiği bir çalışma (221) ile benzer şekilde DP grubunda asprosin ile IL-6 seviyelerinin birlikte arttığı görünmektedir. Bu sonuç asprosinin düşük dereceli inflamasyonda bir göstergesi olan pleiotropik etkili IL-6 ile birlikte bağışıklığın modülasyonuna aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak asprosin seviyeleri kilo alımına bağlı artış göstermiştir. Çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesinin KP ve DP gruplarında asprosinin artışına katkı sağlıyor olabilir. Yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlara göre asprosin seviyesinin düzenlenmesinde açlık ve glikoz homeostazın düzenlenmesinin yanı sıra hormonal ve nöranal yolların da etkili olabileceği düşünülmektedir.

Probiyotik bakteriler, kullanılan suşa özgü bir şekilde bağırsak epitel hücrelerinden sitokinlerin salgılanmasını indüklemektedir (222). Probiyotikler TLR ekspresyonunu artırır ve TNF- α , IL-4 ve interferon- γ (IFN- γ) gibi sitokinlerin salınmasına neden olur (223). Bizim çalışmamızda da probiyotik takviyesi alan KP grubu diğer gruplardan daha yüksek IL-4 seviyesine sahipti ve K grubu ile aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen kontrol grubuna göre yükselme eğilimde olduğu görülmüştür. Aynı şekilde TNF- α seviyeleri de KP grubunda diğer gruplardan daha yüksek ve anlamlı bulundu.

TNF- α ve IL-6 inflamatuvar durumun gelişiminde kritik olan ve adipositler tarafından salgılanan sitokinlerdir. Her iki sitokin seviyelerinin vücuttaki yağ dokusunun miktarı ve dağılımı ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. IL-6'daki artış spesifik olarak yüksek glikoz ve insülin konsantrasyonuna paraleldir. Bu da IL-6'nın adipositlerdeki glikoz metabolizmasına dahil olduğunu göstermektedir (224). IL-6, obezite ve tip 2 diyabet ile ilişkili düşük dereceli inflamasyon ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Matthews ve ark. (225) glikoz homeostazındaki zararlı rolüne rağmen IL-6'yı glikoz metabolizmasının homeostatik düzenleyicisi olarak tanımlamaktadır. Bununla birlikte Xing ve ark. (226) yaptıkları çalışmada endojen IL-6'nın proinflamatuvar seviyesini kontrol ederek hem lokal hem de sistemik akut inflamatuvar yanıtlarda önemli bir anti-inflamatuvar rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bunlara ek olarak Sadagurski ve ark. (227) hIL-6 (human IL-6) nın farelerde merkezi leptin etkisini artırarak besin homeostazını teşvik ettiğini ve diyetle bağlı obeziteyi önlediğini belirlemişlerdir. Probiyotiklerin yararlı etkiler gösterebileceği mekanizmlardan biri de inflamatuvar uyarıya maruz kalan enterositler tarafından IL-6 üretimidir. Bu IL-6'nın bağırsak mukozasında esas olarak anti-inflamatuvar ve

koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermektedir (228). Bunların yanı sıra IL-6'nın sağlıklı bireylerde glikoz metabolizmasının yardımcı bir düzenleyicisi olduğu, inflamasyonda ise muhtemelen insülin direncine özgü mevcut inflamasyonu arttırdığı kabul edilmektedir (229). Son olarak akut stres faktörlerinin hem insan hem hayvanlarda pro-inflamatuar sitokinlerin seviyelerini arttırarak lokal bağışıklık tepkilerini artırabileceği belirtilmiştir (230). Yaptığımız çalışmada açlık glikoz düzeyleri ile IL-6 seviyelerine bakıldığında paralel bir seyir gösterdiği görülmektedir. Kontrol ve KP gruplarına göre daha yüksek açlık glikoz seviyelerine sahip olan D ve DP gruplarında IL-6 seviyelerinin diğer gruplardan daha yüksek olması IL-6'nın tam da bu karmaşık rolü ile uyumludur. Ancak Xing ve ark. (226) çalışmasına benzer şekilde özellikle antiinflamatuar aktiviteye sahip IL-10 seviyesinin D grubuna kıyasla istatistiksel olarak DP grubunda daha yüksek olması IL-6'nın homeostatik etkili olduğu, IL-10 seviyesini kontrol ettiği ve bunun probiyotik takviyesi ile sağlandığı görülmektedir.

Obez kişilerde, yükselen TNF- α seviyesi, periferik dokularda insülin direncinin bir göstergesi olan hiperinsülinemi ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır. TNF- α seviyeleri, diğer proinflamatuar sitokinler ile birlikte sistemik dolaşım, karaciğer ve adipositlerde artar. Artan TNF- α seviyeleri obezite kaynaklı insülin direncinin patogeneğinde ve gelişiminde merkezi bir rol oynar (231). TNF- α 'nın intravenöz uygulamasının sıçanlarda sistemik insülin direncine neden olduğu bildirilmiş olmasına rağmen bu etki için 500-1500 pg/ml serum konsantrasyonlarının gerekli olduğu ve bu nedenle, serum TNF- α 'nın ne genetik ne de diyetle indüklenen sıçan insülin direnci modellerinde fizyolojik olarak önemli düzeyde yükselmeyeceği bildirilmiştir. Glikoz uygulamasını takiben iskelet kasının, glikoz taşınmasının birincil yeri olduğu gerçeği de dikkate alındığında, insülin direncine neden olan dolaşımdaki TNF- α 'nın yükselmesi değil, kas içindeki aşırı TNF- α üretiminin neden olabileceği düşünülmektedir (232). Çalışmamızda TNF- α seviyeleri KP ve D grubu diğer iki gruba göre daha yüksek ölçülmüştür. Kontrol+probiyotik grubunda TNF- α seviyesi en yüksek ölçülmüştür. Ancak metabolik durumu normal olan bireylerde proinflamatuar ve antiinflamatuar adipositokinler arasında bir denge olduğundan (233) özellikle KP ve DP gruplarında ölçülen sitokinler arasındaki denge bu gruptaki sıçanların D grubuna göre metabolik olarak daha sağlıklı olduğunu göstermektedir.

Bunun yanında TNF- α seviyesinde görülen yükselmenin lokal bağışıklık tepkilerini arttırmak için yükseldiği de düşünülebilir. Özellikle TNF α /IL-10 oranına bakıldığında DP grubunda probiyotik takviyesinin dengeyi anti-inflamatuvar sitokinlerin lehine değiştirdiği görülmektedir.

Probiyotikler tarafından TNF- α ekspresyonunun inhibisyonu veya indüklenmesi, immün baskılayıcı veya immün uyarıcı etkiler sağlayabilir (234). Takviye olarak en sık kullanılan probiyotik suşlarından *Lactobacillus* cinsine ait *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* KLDS, *L. helveticus* ve *L. casei* türlerinin TNF- α ve IL-8 seviyelerini 24 saat boyunca yüksek seviyelerde tuttukları gösterilmiştir. Bu durum adı geçen probiyotik suşların insan makrofajlarında en az 24 saat boyunca IL-6, IL-12 ve IL-1 β dahil olmak üzere yüksek sitokin seviyeleri ile immün sistemi uyarıcı etkilere sahip olduğunu da ortaya koymuştur (235). Bir diğer çalışmada da *L. rhamnosus* ve birkaç türün daha proinflamatuvar sitokinlerin en yüksek indükleyicisi olduğu bulunmuştur (236). Çalışmamızda TNF- α ve IL-4 gibi proinflamatuvar sitokinler sadece KP grubunda artarken, IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin DP grubunda daha belirgin artış gösterdiği ortaya konulmuştur. Sonuçlarımız adı geçen proinflamatuvar sitokinlerin *L. rhamnosus* ile indüklendiğini belirten literatür sonucu ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu sitokinlerin uyarımı, immün yanıt oluşturarak bu şekilde immün mediatör etki sağlıyor olabilir.

Ashraf ve ark. (236) yaptığı çalışmada *L. rhamnosus* suşunun önemli ölçüde yüksek seviyelerde IL-10 ürettiği göstermiştir. Aynı çalışmanın sonuçlarına göre *L. rhamnosus*'un TNF- α , IFN- γ , IL-12 üretimini uyaran güçlü bir pro-inflamatuvar sitokin indükleyicisi olduğu da bulunmuştur. Literatüre benzer şekilde bizim çalışmamızda da KP ve DP gruplarında IL-10 düzeylerinin probiyotik takviyesi ile artmış olması bu artışın diyet içeriğinden bağımsız olduğunu ve *L.rhamnousus* GG etkisi ile olabileceğini göstermektedir.

IL-11 trombopoezin uyarılmasında özel aktiviteye sahip bir hematopoietik büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır. Ayrıca önemli immün düzenleyici aktivitelere de sahip olduğu ifade edilmektedir (140). Rekombinant insan interleukin-11 (rHuIL-11) uygulanmasının IL-4 ve IL-10 üretimini arttırdığı gösterilmiştir (237). Bağışıklık sistemi için önemli olan bu sitokinin serum düzeyleri KP grubunda en yüksek DP

grubunda ise ikinci yüksek değer olarak belirlendi ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlıydı. Bunun diyetten bağımsız olarak kullandığımız probiyotik takviyesinin etkisi ile olduğu düşünölmüştür. Bu da *L.rhamnosus GG* takviyesinin immun sistemin düzenlenmesinde olumlu yönleri olabileceğini göstermektedir.



7. SONUÇ

Probiyotiklerin cinsiyete, suşa ve doza bağlı olarak değişen faydalarının olduğu bilinmektedir. Deneysel çalışmalarda özellikle çok suşlu probiyotiklerin kullanımı yerine bizim çalışmamızda olduğu gibi tek tip cinsiyet ve tek suş ile yapılan çalışmalar kullanılan suşun etkinliğinin net olarak belirlenmesini sağlayabilir.

Probiyotik takviyesi alan grubumuzda (KP) IL-10, IL-11 gibi anti-inflamatuar sitokinlerin yüksek seviyeleri kullandığımız probiyotik takviyesinin anti-inflamatuar etkili olduğunu gösterebilir. Yine KP grubunda serum HDL seviyelerinin artması ve LDL seviyelerinin azalması *L.rhamnosus* GG takviyesinin lipid profil üzerinede olumlu katkıları olduğunu; bunun yanında CT-1 seviyelerinin en yüksek ölçülmesi ile kalp-damar sağlığını koruyabileceği söylenebilir. Ayrıca yine bu grupta ALT, AST, ALP gibi karaciğer enzimlerinin düşmesi *L.rhamnosus* GG takviyesinin karaciğer üzerine de faydalı etkileri olabileceğini göstermiştir. Ayrıca yine bu grupta açlık glikoz düzeylerinin ve ağırlıklarının diğer gruplardan daha düşük olması kullandığımız *L.rhamnosus* GG suşunun kilo alımını ve açlık kan glikoz seviyelerini azaltmada yararlı etkileri olabileceğini göstermektedir.

Diğer taraftan çalışmamız probiyotiklerin adipokinler üzerine de etkileri olabileceğini göstermiştir. *L.rhamnasus* GG suşu pro-inflamatuar sitokin artışlarının yanı sıra anti-inflamatuar sitokin ve adipokinlerin salınımını da uyarır. Pro-inflamatuar sitokinlerin bu suş tarafından düşük düzeyde ve sürekli uyarımı, immun yanıt oluşturarak bu şekilde immun mediatör etki sağlayabilir. Bunun kanıtı DP grubunda ılımlı düzeylerde artan IL-1 β ve IL-6 seviyeleridir. Diyet+probiyotik grubunda artan omentin, vaspin ve aspirosin probiyotik ilavesinin metabolik stresi engelleyebileceğini ve iştah üzerine de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda kullanılan *L.rhamnasus* GG suşunun anti-inflamatuar etkili olabileceği yine bu grupta artan IL-10 ve azalan TNF- α seviyeleri ile doğrulanabilir. Bunun sonucuna elde edilen en düşük TNF- α /IL-10 oranının bu grupta hesaplanması çalışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesinin bağışıklık üzerinde faydalı etkileri olabileceğini göstermektedir. Yapılan bu çalışma *L.rhamnosus* GG takviyesi ile yüksek kalorili batı diyeti ile beslenmeye rağmen vücut ağırlığı ve VKİ'nin korunmasında olumlu etkilerinin yanı sıra nazo-anal uzunlukta artış ile büyüme ve

gelişme üzerine de olumlu etkilerinin olabileceği görülmektedir. Yine açlık kan glikoz düzeylerini (DP grubunda) yüksek kalorili batı diyetine rağmen kontrol grubuna yaklaştırması, TG ve Chol gibi kan yağlarının diğer gruplardan daha düşük olması probiyotik takviyemizin metabolizma üzerine olumlu etkilerinin bir göstergesi olabilir.

Sonuç olarak yüksek kalorili batı tarzı diyetle beslenmede diyetle ilave edilen probiyotik takviyesi hem klinik hem de fizyopatolojik olarak metabolizmaya faydalı katkılar sağladığı söylenebilir. Adipokinlerdeki değişimlerin kullanılan diyet bileşenleri, hayvanın yaşı, kullanılan probiyotik suşu ve kullanım süresine bağlı olarak değişebileceği göz önüne alındığında bundan sonraki çalışmaların hedef tür üzerinde yapılmasının daha uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Ayrıca çalışmamız bazı adipokin seviyeleri (omentin, SFRP5, CT1, vaspin, asprosin) ile yüksek kalorili beslenme ve *L.rhamnosus* GG ilişkisini ilk kez ortaya koyması açısından literatür bilgisine orijinal katkı sağlayabilecek nitelikte olduğunu belirtebiliriz.

8. KAYNAKLAR

1. Lee M-W, Lee M, Oh K-J. Adipose Tissue-Derived Signatures for Obesity and Type 2 Diabetes: Adipokines, Batokines and MicroRNAs. *J Clin Med*. 2019;8(6):854.
2. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci*. 2010;1212:E1–19.
3. Balsan GA, Vieira JL da C, Oliveira AM de, Portal VL. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras*. 2015;61(1):72–80.
4. Oh KJ, Lee DS, Kim WK, Han BS, Lee SC, Bae KH. Metabolic adaptation in obesity and type ii diabetes: Myokines, adipokines and hepatokines. *Int J Mol Sci*. 2016;18(1):1–31.
5. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2020;7:22.
6. Cerdó T, García-Santos JA, Bermúdez MG, Campoy C. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity. *Nutrients*. 2019, 11(3).635
7. Wiciński M, Gębalski J, Gołębiewski J, Malinowski B. Probiotics for the Treatment of Overweight and Obesity in Humans- A Review of Clinical Trials. *Microorganisms*. 2020;8(8):1–27.
8. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(7):461-470
9. Pham DV, Park PH. Recent insights on modulation of inflammasomes by adipokines: a critical event for the pathogenesis of obesity and metabolism-associated diseases. *Arc Phar Res*. 2020;43(10):997–1016.
10. Torres S, Fabersani E, Marquez A, Gauffin-Cano P. Adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. The proactive role of probiotics. *Eur J Nutr*. 2019;58(1):27–43.
11. Myles EM, Elizabeth O’Leary M, Smith R, Macpherson CW, Oprea A, Melanson EH, et al. Supplementation with combined lactobacillus helveticus R0052 and bifidobacterium longum R0175 across development reveals sex

- differences in physiological and behavioural effects of western diet in long-evans rats. *Microorganisms*. 2020;8(10):1–25.
12. Zhang. ve ark. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425–432.
 13. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259(5091):87–91.
 14. Eriksson P, Reynisdottir S, Lönnqvist F, Stemme V, Hamsten A, Arner P. Adipose tissue secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in non-obese and obese individuals. *Diabetologia*. 1998;41(1):65–71.
 15. Ahima RS, Lazar MA. Adipokines and the Peripheral and Neural Control of Energy Balance. *Mol Endocrinol*. 2008;22(5):1023–1031.
 16. Ladoux A, Peraldi P, Chignon-Sicard B, Dani C. Distinct Shades of Adipocytes Control the Metabolic Roles of Adipose Tissues: From Their Origins to Their Relevance for Medical Applications. *Biomedicines*. 2021;9(1):40.
 17. Schoetl T, Fischer IP, Ussar S. Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function. *J Exp Biol*. 2018;221
 18. Tchernof A, Brochu D, Maltais-Payette I, Mansour MF, Marchand GB, Carreau A-M, et al. Androgens and the Regulation of Adiposity and Body Fat Distribution in Humans. *Compr Physiol*. 2018;8(4):1253-1290.
 19. Mancuso P, Bouchard B. The impact of aging on adipose function and adipokine synthesis. *Front Endocrinol*. 2019;10:137.
 20. Frasca D, Blomberg BB. Adipose tissue, immune aging, and cellular senescence. *Sem Immunopathology*. 2020;42(5):573–587.
 21. Grant RW, Dixit VD. Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity*. 2015;23(3):512–518.
 22. Corona-Meraz F-I, Robles-De Anda J-A, Madrigal-Ruiz P-M, Díaz-Rubio G-I, Castro-Albarrán J, Navarro-Hernández R-E. Adipose Tissue in Health and Disease. *Obesity*. IntechOpen; 2020.
 23. Anthony SR, Guarnieri AR, Gozdoff A, Helsley RN, Owens AP, Tranter M. Mechanisms linking adipose tissue inflammation to cardiac hypertrophy and

- fibrosis. *Clin Sci (Lond)*. 2019;133(22):2329-2344.
24. Scheja L, Heeren J. The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15(9):507-524
 25. Scheja L, Heeren J. Metabolic interplay between white, beige, brown adipocytes and the liver. *J Hepatol*. 2016;64(5):1176-1186.
 26. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012;205(2):194-208.
 27. Liu W, Li D, Cao H, Li H, Wang Y. Expansion and inflammation of white adipose tissue-Focusing on adipocyte progenitors. *Biol Chem*. 2020;402(2):123-132.
 28. Caputo T, Tran VDT, Bararpour N, Winkler C, Aguilera G, Trang KB, et al. Anti-adipogenic signals at the onset of obesity-related inflammation in white adipose tissue. *Cell Mol Life Sci*. 2021;78(1):227-247.
 29. Aksu AE, Çalış M. Yağ Dokusundan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler ve Stromal Vasküler Fraksiyon Konsepti. *Türkiye Klinikleri J Plast Surg*. 2015;4(3):19-26
 30. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50(2):216-229.
 31. Yang A, Mottillo EP. Adipocyte Lipolysis: from molecular mechanisms of regulation to disease and therapeutics. *The Biochemical J*. 2020;477(5):985-1008.
 32. Kershaw EE, Flier JS. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2548-2556.
 33. Bjørndal B, Burri L, Staalesen V, Skorve J, Berge RK. Different Adipose Depots: Their Role in the Development of Metabolic Syndrome and Mitochondrial Response to Hypolipidemic *J Obes*. 2011;2011:490650.
 34. Nürnberger S, Lindner C, Maier J, Strohmeier K, Wurzer C, Slezak P, et al. Adipose-tissue-derived therapeutic cells in their natural environment as an autologous cell therapy strategy: the microtissue-stromal vascular fraction. *Eur Cell Mater*. 2019;37:113-133.
 35. Villarroya F, Cereijo R, Villarroya J, Giralt M. Brown adipose tissue as a

- secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(1):26-35.
36. Ricquier D. Uncoupling Protein 1 of Brown Adipocytes, the Only Uncoupler: A Historical Perspective. *Front Endocrinol*. 2011;2(85):1–7.
 37. Lowell BB, S-Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, Boyer BB, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature*. 1993;366(6457):740-742.
 38. White JD, Dewal RS, Stanford KI. The beneficial effects of brown adipose tissue transplantation. *Mol Aspects Med*. 2019;68:74-81.
 39. Zhou X, Li Z, Qi M, Zhao P, Duan Y, Yang G, et al. Brown adipose tissue-derived exosomes mitigate the metabolic syndrome in high fat diet mice. *Theranostics*. 2020;10(18):8197-8210.
 40. Cannon B, Nedergaard J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol Rev*. 2004;84(1):277-359.
 41. Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*. 2012;150(2):366–376.
 42. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Okamatsu-Ogura Y, Kameya T, Kawai Y, et al. Age-Related Decrease in Cold-Activated Brown Adipose Tissue and Accumulation of Body Fat in Healthy Humans. *Obesity*. 2011;19(9):1755–1760.
 43. Kulterer OC, Niederstaetter L, Herz CT, Haug AR, Bileck A, Pils D, et al. The presence of active brown adipose tissue determines cold-induced energy expenditure and oxylipin profiles in humans. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2020;105(7):2203–2216.
 44. Scheele C, Wolfrum C. Brown Adipose Crosstalk in Tissue Plasticity and Human Metabolism. *Endocr Rev*. 2020;41(1):53-65.
 45. Suriano F, Van Hul M, Cani PD. Gut microbiota and regulation of myokine-adipokine function. *Curr Opin Pharmacol*. 2020;52:9–17.
 46. Muoio DM, Newgard CB. Metabolism: A is for adipokine. *Nature*. 2005;436(7049):337–338.
 47. Ambroszkiewicz J, Chełchowska M, Rowicka G, Klemarczyk W, Strucińska M, Gajewska J. Anti-Inflammatory and Pro-Inflammatory Adipokine Profiles

- in Children on Vegetarian and Omnivorous Diets. *Nutrients* 2018;10(9):1241.
48. Pessin JE, Kwon H. Adipokines Mediate Inflammation and Insulin Resistance. *Front Endocrinol.* 2013;4(71):1–13.
 49. Ohashi K, Shibata R, Murohara T, Ouchi N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25(7):348–355.
 50. Żelechowska P, Brzezińska-Błaszczyk E, Kusowska A, Kozłowska E. The role of adipokines in the modulation of lymphoid lineage cell development and activity: An overview. *Obes Rev.* 2020;21(10):e13055.
 51. Le Barz M, Daniel N, Varin T V., Naimi S, Demers-Mathieu V, Pilon G, et al. In vivo screening of multiple bacterial strains identifies *Lactobacillus rhamnosus* Lb102 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* Bf141 as probiotics that improve metabolic disorders in a mouse model of obesity. *FASEB Journal.* 2019;33(4):4921–35.
 52. Zorena K, Jachimowicz-Duda O, Ślęzak D, Robakowska M, Mrugacz M. Adipokines and obesity. Potential link to metabolic disorders and chronic complications. *Int J Mol Sci.* 2020;21(10):3570.
 53. Neumann E, Hasseli R, Ohl S, Lange U, Frommer KW, Müller-Ladner U. Adipokines and Autoimmunity in Inflammatory Arthritis. *Cells.* 2021;10(2):216.
 54. Xu L, Lu Y, Li N, Zhao Q, Li K, Zhang Y, et al. Cross-sectional associations of adipokines and abdominal fat distribution with aging in men. *Aging Male.* 2020;23(5):1576-1582.
 55. Olson OC, Quail DF, Joyce JA. Obesity and the tumor microenvironment. *Science.* 2017;358(6367):1130–1.
 56. Seo B, Bhardwaj P, Choi S, Gonzalez J, Andresen Eguiluz R, Wang K, et al. Obesity-dependent changes in interstitial ECM mechanics promote breast tumorigenesis. *Sci Med.* 2015;19(7)301.
 57. Incio J, Liu H, Suboj P, Chin S, Chen I, All E. Obesity-Induced Inflammation and Desmoplasia Promote Pancreatic Cancer Progression and Resistance to Chemotherapy. *Cancer Discovery.* 2016;6(8):852–869.
 58. Bordonaro M, Lazarova D. Hypothesis: Obesity Is Associated with a Lower

- Mutation Threshold in Colon Cancer. *J Cancer*. 2015;6(9):825–831.
59. Wang Y-X, Zhu N, Zhang C-J, Wang Y-K, Wu H-T, Li Q, et al. Friend or foe: Multiple roles of adipose tissue in cancer formation and progression. *J Cell Physiol*. 2019;234(12):21436–21449.
 60. Lee CH, Woo YC, Wang Y, Yeung CY, Xu A, Lam KSL. Obesity, adipokines and cancer: an update. *Clin Endocrinol*. 2015;83(2):147–156.
 61. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*. 1995;270(45):26746–26749.
 62. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem*. 1996;271(18):10697–10703.
 63. Chiarugi P, Fiaschi T. Adiponectin in health and diseases: From metabolic syndrome to tissue regeneration. *Expert Opin Ther Targets*. 2010;14(2):193–206.
 64. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Med*. 2001;7(8):941–946.
 65. Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *Biomed Res Int*. 2014;2014:658913.
 66. Harvey I, Boudreau A, Stephens JM. Adipose tissue in health and disease. *Open Biology*. 2020;10(12):200291.
 67. Di Zazzo E, Polito R, Bartollino S, Nigro E, Porcile C, Bianco A, et al. Adiponectin as link factor between adipose tissue and cancer. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4):839
 68. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The Role of Adiponectin in Cancer: A Review of Current Evidence. *Endocr Rev*. 2012;33(4):547–94.
 69. Miyazaki T, Bub J, Uzuki M, Iwamoto Y. Adiponectin activates c-Jun NH2-terminal kinase and inhibits signal transducer and activator of transcription 3. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;333(1):79–87.
 70. Yanai H, Yoshida H. Beneficial effects of adiponectin on glucose and lipid metabolism and atherosclerotic progression: Mechanisms and perspectives. *Int*

- J Mol Sci.* 2019;20(5):1190.
71. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev.* 2013;14(12):939–49.
 72. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu H Bin, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: Possible role in modulating insulin action. *American J Physiol - Endocrinol Metab.* 2006;290(6):1253–1261.
 73. De Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes.* 2007;56(6):1655–1661.
 74. Chai B, Zheng Z-H, Liao X, Li K-Y, Liang J-S, Huang Y-X, et al. The protective role of omentin-1 in IL-1 β -induced chondrocyte senescence. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2020;48(1):8-14.
 75. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, Kojima M, Watanabe R. Adipose Tissue-Derived Omentin-1 Function and Regulation. *Compr Physiol.* 2017;7(3):765-781
 76. Jialal I., Devaraj S., Kaur H., Huer BA. BA. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):E514-E517.
 77. Pan HY., Guo L. LQ. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;88(1):29-33
 78. Zhang Q., Zhu L., Zheng M., Fan C., Li Y., He Y. YH. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects, type 2 diabetes and type 2 diabetes with overweight and obesity in Chinese adults. *Annales d'endocrinologie.* 2014;75(3):171–175.
 79. Askin L, Duman H, Ozyıldız A, Tanriverdi O, Turkmen S. Association between Omentin-1 and Coronary Artery Disease: Pathogenesis and Clinical Research. *Curr Cardiol Rev.* 2020;16(3):198-201
 80. Herder C, Ouwens DM, Carstensen M, Kowall B, Huth C, Meisinger C, et al. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: Results from the KORA F4 study. *Eur J Endocrinol.*

2015;172(4):423–32.

81. Liu R, Wang X, Bu P. Omentin-1 is associated with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;93(1):21-25.
82. Panagiotou G, Mu L, Na B, Mukamal KJ, Mantzoros CS. Circulating irisin, omentin-1, and lipoprotein subparticles in adults at higher cardiovascular risk. *Metabolism: Clin and Exper.* 2014;63(10):1265–71.
83. Shibata R, Ouchi N, Takahashi R, Terakura Y, Ohashi K, Ikeda N, et al. Omentin as a novel biomarker of metabolic risk factors. *Diabetology Metabol Syndr.* 2012;4(1):37.
84. Sperling M, Grzelak T, Pelczyńska M, Jasinska P, Bogdanski P, Pupek-Musialik D, et al. Concentrations of omentin and vaspin versus insulin resistance in obese individuals. *Biomed Pharma.* 2016;83:542–7.
85. Zabetian-Targhi F, Mirzaei K, Keshavarz SA, Hossein-Nezhad A. Modulatory Role of Omentin-1 in Inflammation: Cytokines and Dietary Intake. *J Ame Col Nutrition.* 2016;35(8):670–8.
86. Nakamura K, Sano S, Fuster JJ, Kikuchi R, Shimizu I, Ohshima K, et al. Secreted frizzled-related protein 5 diminishes cardiac inflammation and protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *J Bioll Chem.* 2016;291(6):2566–75.
87. García-Tobilla P, Solórzano SR, Salido-Guadarrama I, González-Covarrubias V, Morales-Montor G, Díaz-Otañez CE, et al. SFRP1 repression in prostate cancer is triggered by two different epigenetic mechanisms. *Gene.* 2016;593(2):292–301.
88. Mori H, Prestwich TC, Reid MA, Longo KA, Gerin I, Cawthorn WP, et al. Secreted frizzled-related protein 5 suppresses adipocyte mitochondrial metabolism through WNT inhibition. *J Clin Inves.* 2012;122(7):2405–16.
89. Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, Oshima Y, Gokce N, Shibata R, et al. Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity. *Science.* 2010;329(5990):454–7.
90. Liu L Bin, Chen XD, Zhou XY, Zhu Q. The Wnt antagonist and secreted frizzled-related protein 5: Implications on lipid metabolism, inflammation, and type 2 diabetes mellitus. *Biosci Rep.* 2018;38(4):BSR20180011.

91. Tong S, Du Y, Ji Q, Dong R, Cao J, Wang Z, et al. Expression of Sfrp5/Wnt5a in human epicardial adipose tissue and their relationship with coronary artery disease. *Life Sci.* 2020;245:117338.
92. Gay A, Towler DA. Wnt signaling in cardiovascular disease: Opportunities and challenges. *Curr Opin Lipidol.* 2017;28(5):387-396.
93. Jaikanth C, Gurumurthy P, Indhumathi T, Cherian KM. Emergence of SFRP5 as a pleiotropic adipocytokine and its association with Wnt signaling pathways. *Minerva Endocrinol.* 2017;42(3):280-289.
94. Astudillo P. Wnt5a Signaling in Gastric Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:110
95. Li C, Smith SM, Peinado N, Gao F, Li W, Lee MK, et al. WNT5a-ROR Signaling Is Essential for Alveologenesis. *Cells.* 2020;9(2):384.
96. Pennica D, King KL, Shaw KJ, Luis E, Rullamas J, Luoh SM, et al. Expression cloning of cardiotrophin 1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci.* 1995;92(4):1142-1146.
97. Pennica D, Swanson TA, Shaw KJ, Kuang WJ, Gray CL, Beatty BG, et al. Human Cardiotrophin-1: Protein and Gene Structure, Biological and Binding Activities, and Chromosomal Localization. *Cytokine.* 1996;8(3):183–189.
98. Wang D, Liu X, Liu Y, Shen G, Zhu X, Li S. Treatment effects of Cardiotrophin-1 (CT-1) on streptozotocin-induced memory deficits in mice. *Exper Gerontol.* 2017;92:42–45.
99. Moreno-Aliaga MJ, Pérez-Echarri N, Marcos-Gómez B, Larequi E, Gil-Bea FJ, Viollet B, et al. Cardiotrophin-1 is a key regulator of glucose and lipid metabolism. *Cell Metabol.* 2011;14(2):242–253.
100. López-Yoldi M, Castilla-Madrigal R, Lostao MP, Barber A, Prieto J, Martínez JA, et al. Cardiotrophin-1 decreases intestinal sugar uptake in mice and in Caco-2 cells. *Acta Physiol.* 2016;217(3):217–26.
101. López-Yoldi M, Stanhope KL, Garaulet M, Chen XG, Marcos-Gómez B, Carrasco-Benso MP, et al. Role of cardiotrophin-1 in the regulation of metabolic circadian rhythms and adipose core clock genes in mice and characterization of 24-h circulating CT-1 profiles in normal-weight and overweight/obese subjects. *The FASEB J.* 2017;31(4):1639–1649.

102. Sanchez-Infantes D, White UA, Elks CM, Morrison RF, Gimble JM, Considine R V., et al. Oncostatin M Is Produced in Adipose Tissue and Is Regulated in Conditions of Obesity and Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(2):E217–E255.
103. Hung H-C, Lu F-H, Wu H-T, Ou H-Y, Yang Y-C, Wu J-S, et al. Cardiotrophin-1 is inversely associated with obesity in non-diabetic individuals. *Sci Rep.* 2015;5:17438.
104. Natal C, Fortuño MA, Restituto P, Bazán A, Colina I, Díez J, et al. Cardiotrophin-1 is expressed in adipose tissue and upregulated in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(1):E52-E60.
105. Stephens J, Ravussin E, White U. The Expression of Adipose Tissue-Derived Cardiotrophin-1 in Humans with Obes *Biol.* 2019;8(2):24.
106. López-Yoldi M, Marcos-Gomez B, Romero-Lozano MA, Sáinz N, Prieto J, Martínez JA, et al. Cardiotrophin-1 Regulates Adipokine Production in 3T3-L1 Adipocytes and Adipose Tissue From Obese Mice. *J Cel Physiol.* 2017;232(9):2469–2477.
107. Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WKL. A Binding Protein for Fatty Acids in Cytosol of Intestinal Mucosa , Liver , Myocardium , and Other Tissues. *Science.* 1972;177(4043):56–58.
108. Ishimura S, Furuhashi M, Watanabe Y, Hoshina K, Fuseya T, Mita T, et al. Circulating levels of fatty acid-binding protein family and metabolic phenotype in the general population. *PloS One.* 2013;8(11):E81318.
109. Ota H, Furuhashi M, Ishimura S, Koyama M, Okazaki Y, Mita T, et al. Elevation of fatty acid-binding protein 4 is predisposed by family history of hypertension and contributes to blood pressure elevation. *Am J Hypertens.* 2012;25(10):1124-1130.
110. Cabre A, Babio N, Lázaro I, Bulló M, Garcia-Arellano A, Masana L, et al. FABP4 predicts atherogenic dyslipidemia development.. *Atherosclerosis.* 2012;222(1):229–234.
111. Yeung D, Xu A, Cheung B, Wat N, Yau M, Fong C, et al. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels were independently associated with carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(8):1796-1802

112. Terra X, Quintero Y, Auguet T, Porras JA, Hernández M, Sabench F, et al. FABP 4 is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome in morbidly obese women. *Eur J Endocrinol.* 2011;164(4):539-547.
113. Falcão-Pires I, Castro-Chaves P, Miranda-Silva D, Lourenço AP, Leite-Moreira AF. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of adipokines. *Drug Discov Today.* 2012;17(15-16):880-889.
114. Wu L, Samocha-Bonet D, Whitworth P, Fazakerley D, Turner N, Biden T, et al. Identification of fatty acid binding protein 4 as an adipokine that regulates insulin secretion during obesity. *Mol Metab.* 2014;3(4):465-473.
115. Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science.* 1996;274(5291):1377–1379.
116. Samal, B., Sun, Y., Stearns, G., Xie, C., Suggs, S., McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol.* 1994;14(2):1431–1437.
117. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: A protein secreted by visceral fat that Mimics the effects of insulin. *Science.* 2005;307(5708):426–30.
118. Tan BK, Chen J, Brown J, Adya R, Ramanjaneya M, Menon V, et al. In Vivo and ex Vivo Regulation of Visfatin Production by Leptin in Human and Murine Adipose Tissue: Role of Mitogen-Activated Protein Kinase and Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Pathways. *Endocrinology.* 2009;150(8):3530–3539.
119. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, et al. Macrophages in human visceral adipose tissue: Increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia.* 2006;49(4):744–747.
120. Shaker O, El-Shehaby A, Zakaria A, Mostafa N, Talaat S, Katsiki N, et al. Plasma visfatin and retinol binding protein-4 levels in patients with type 2 diabetes mellitus and their relationship to adiposity and fatty liver. *Clin Biochem.* 2011;44(17–18):1457–1463.

121. Valentini L, Wirth EK, Schweizer U, Hengstermann S, Schaper L, Koernicke T, et al. Circulating adipokines and the protective effects of hyperinsulinemia in inflammatory bowel disease. *Nutrition*. 2009;25(2):172–181.
122. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, et al. Visfatin, an Adipocytokine with Proinflammatory and Immunomodulating Properties. *J Immunol*. 2007;178(3):1748-1758.
123. Yoshino J, Mills KF, Yoon MJ, Imai SI. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD + intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice. *Cell Metab*. 2011;14(4):528-536.
124. Hida K, Wada J, Zhang H, Hiragushi K, Tsuchiyama Y, Shikata K, et al. Identification of genes specifically expressed in the accumulated visceral adipose tissue of OLETF rats. *J Lipid Res*. 2000;41(10):1615-1622.
125. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: A unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(30):10610-10615
126. Blüher M. Vaspin in obesity and diabetes: pathophysiological and clinical significance. *Endocrine*. 2012;41(2):176–182.
127. Klöting N, Kovacs P, Kern M, Heiker JT, Fasshauer M, Schön MR, et al. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia*. 2011;54(7):1819–1823.
128. Klöting N, J. B, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;339(1):430-436.
129. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*. 1992;41(11):1422-1428
130. Youn BS, Klöting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57(2):372–377.
131. Dai R, Dong Z, Qian Y, Han Y. Obese type 2 diabetes mellitus patients have higher serum vaspin concentrations. *J Diabetes*. 2016;8(3):445–7.

132. Brunetti L, Di Nisio C, Recinella L, Chiavaroli A, Leone S, Ferrante C, et al. Effects of vaspin, chemerin and omentin-1 on feeding behavior and hypothalamic peptide gene expression in the rat. *Peptides*. 2011;32(9):1866–1871.
133. Luo X, Li K, Zhang C, Yang G, Yang M, Jia Y, et al. Central administration of vaspin inhibits glucose production and augments hepatic insulin signaling in high-fat-diet-fed rat. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(6):947-954.
134. Heiker JT, Klöting N, Kovacs P, Kuettner EB, Sträter N, Schultz S, et al. Vaspin inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(14):2569-2583.
135. Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, Constable P, Jain M, Xia F, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell*. 2016;165(3):566–579.
136. Duerrschmid C, He Y, Wang C, Li C, Bournat JC, Romere C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature Med*. 2017;23(12):1444–1453.
137. Oppenheim JJ. Cytokines: Past, Present, and Future. *Int J Hematol*. 2001;74(1):3-8.
138. Dinarello CA. Proinflammatory Cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503–508.
139. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol*. 2007;37:S34-S45
140. Opal SM, DePalo VA. Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest*. 2000;117(4):1162–1172.
141. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory Cytokines in General and Central Obesity and Modulating Effects of Physical Activity. *Plos One*. 2015;10(3):e0121971.
142. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(1):55-71.
143. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8787–8803.
144. Quigley EMM. Prebiotics and probiotics: their role in the management of

- gastrointestinal disorders in adults. *Nutr Clin Pract*. 2012;27(2):195-200.
145. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(8):506-514.
 146. Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian AM, da Cruz AG. Probiotic: conceptualization from a new approach. *Curr Opin in Food Sci*. 2020;32:103–123.
 147. Wan MLY, Forsythe SJ, El-Nezami H. Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(20):3320-3333.
 148. de Melo Pereira GV, de Oliveira Coelho B, Magalhães Júnior AI, Thomaz-Soccol V, Soccol CR. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnol Adv*. 2018;36(8):2060-2076.
 149. Sniffen JC, McFarland L V., Evans CT, Goldstein EJC. Choosing an appropriate probiotic product for your patient: An evidence-based practical guide. *Plos One*. 2018;13(12):e0209205.
 150. Kothari D, Patel S, Kim SK. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. *Biomed Pharmacother*. 2019;111:537-547.
 151. Sonnenburg J, Xu J, Leip D, Chen C, Westover B, Weatherford J, et al. Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science*. 2005;307(5717):1955–1959.
 152. Edwards PT, Kashyap PC, Preidis GA. Microbiota on biotics: Probiotics, prebiotics, and synbiotics to optimize growth and metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;319(3):G382-G390.
 153. Tyagi AM, Yu M, Darby TM, Vaccaro C, Li JY, Owens JA, et al. The Microbial Metabolite Butyrate Stimulates Bone Formation via T Regulatory Cell-Mediated Regulation of WNT10B Expression. *Immunity*. 2018;49(6):1116-1131.e7.
 154. Zhang L, Li N, Caicedo R, Neu J. Alive and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. *J Nutrition*. 2005;135(7):1752–1756.

155. Tien M-T, Girardin SE, Regnault B, Le Bourhis L, Dillies M-A, Coppée J-Y, et al. Anti-inflammatory effect of *Lactobacillus casei* on *Shigella*-infected human intestinal epithelial cells. *J Immunol*. 2006;176(2):1228–1237.
156. Siew C N, Plamondon S, Kamm MA, Hart AL, Al-Hassi HO, Guenther T, et al. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(8):1286-1298
157. Kekkonen RA, Lummela N, Karjalainen H, Latvala S, Tynkkynen S, Järvenpää S, et al. Probiotic intervention has strain-specific anti-inflammatory effects in healthy adults. *World J Gastroenterol*. 2008;14(13):2029-2036.
158. Hua M-C, Lin T-Y, Lai M-W, Kong M-S, Chang H-J, Chen C-C. Probiotic Bio-Three induces Th1 and anti-inflammatory effects in PBMC and dendritic cells. *World J Gastroenterol*. 2010;16(28):3529–3540.
159. Fabersani E, Abeijon-Mukdsi MC, Ross R, Medina R, González S, Gauffin-Cano P. Specific strains of lactic acid bacteria differentially modulate the profile of adipokines in vitro. *In Vitro Front Immunol*. 2017;8:266.
160. Sagkan Ozturk A, Aydin M, Bozkurt YA, Kuçukgul A, Ozturk A. Short term effects of experimental gastric outlet obstruction and truncal vagotomy on gut hormones. *Biotech Histochem*. 2021;1-9
161. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*. 1968;40(4):527–528.
162. Lee M. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol*. 1929;89(1):24–33.
163. Samuels LT, Reinecke RM, Ball HA. Effect of diet on glucose tolerance and liver and muscle glycogen of hypophysectomized and normal rats. *Endocrinol*. 1942;31(1):42–45.
164. Bortolin RC, Vargas a. R, Gasparotto J, Chaves PR, Schnorr CE, Martinello KB, et al. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: Comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):525-534.
165. Nilsson C, Raun K, Yan FF, Larsen MO, Tang-Christensen M. Laboratory

- animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin.* 2012;33(2):173-181.
166. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. *Obesity.* 2007;15(4):798–808.
 167. Vileigas DF, de Souza SLB, Corrêa CR, Silva CCV de A, de Campos DHS, Padovani CR, et al. The effects of two types of Western diet on the induction of metabolic syndrome and cardiac remodeling in obese rats. *J Nutr Biochem.* 2021;92:108625.
 168. Alipour H, Gazerani P, Heidari M, Dardmeh F. Modulatory Effect of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* PB01 on Mechanical Sensitivity in a Female Diet-Induced Obesity Model. *Pain Res Manag.* 2021;2021:5563959.
 169. Khanna S, Walia S, Kondepudi KK, Shukla G. Administration of indigenous probiotics modulate high-fat diet-induced metabolic syndrome in Sprague Dawley rats. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2020;113(9):1345-1359.
 170. Onubi OJ, Poobalan AS, Dineen B, Marais D, McNeill G. Effects of probiotics on child growth: A systematic review. *J Health Popul Nutr.* 2015;34:8.1-15.
 171. Jensen EA, Young JA, Jackson Z, Busken J, List EO, Carroll RK, et al. Growth Hormone Deficiency and Excess Alter the Gut Microbiome in Adult Male Mice. *Endocrinol.* 2020;161(4):1–18.
 172. Trush EA, Poluektova EA, Beniashvilli AG, Shifrin OS, Poluektov YM, Ivashkin VT. The Evolution of Human Probiotics: Challenges and Prospects. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2020;12(4):1291-1299
 173. Luo J, Yang H, Song BL. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(4):225-245.
 174. Tsoupras A, Lordan R, Zabetakis I. Inflammation, not Cholesterol, Is a Cause of Chronic Disease. *Nutrients.* 2018;10(5):604.
 175. Upadhyay RK. Emerging Risk Biomarkers in Cardiovascular Diseases and Disorders. *J Lipids.* 2015;2015:971453.
 176. Lahti L, Salonen A, Kekkonen RA, Salojärvi J, Jalanka-Tuovinen J, Palva A, et al. Associations between the human intestinal microbiota, *Lactobacillus*

- rhamnosus GG and serum lipids indicated by integrated analysis of high-throughput profiling data. *PeerJ*. 2013;1:e32.
177. Kekkonen RA, Sysi-Aho M, Seppänen-Laakso T, Julkunen I, Vapaatalo H, Orešič M, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG intervention on global serum lipidomics profiles in healthy adults. *World J Gastroenterol*. 2008;14(20):3188–3194.
 178. Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their interpretation. *Indian J Pediatr*. 2007;74(7):663-671.
 179. Hamoud AR, Weaver L, Stec DE, Hinds TD. Bilirubin in the Liver–Gut Signaling Axis. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(3):140-150.
 180. Liu J, Dong H, Zhang Y, Cao M, Song L, Pan Q, et al. Bilirubin Increases Insulin Sensitivity by Regulating Cholesterol Metabolism, Adipokines and PPAR γ Levels. *Sci Rep*. 2015;5:(9886):1–12.
 181. Minemura M, Shimizu Y. Gut microbiota and liver diseases. *WJG*. 2015;21(6):1691–1702.
 182. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;323(2):630-635
 183. Ramos-Ramírez P, Malmhäll C, Tliba O, Rådinger M, Bossios A. Adiponectin/AdipoR1 Axis Promotes IL-10 Release by Human Regulatory T Cells. *Front Immunol*. 2021;12:677550.
 184. Ribot J, Rodríguez AM, Rodríguez E, Palou A. Adiponectin and Resistin Response in the Onset of Obesity in Male and Female Rats. *Obesity*. 2008;16(4):723–730.
 185. JT G, DM van der H, JM B. Association of circulating adiponectin levels with progression of radiographic joint destruction in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(9):1562-1568.
 186. Li J, Yu X, Pan W, Unger RH. Gene expression profile of rat adipose tissue at the onset of high-fat-diet obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;282(6):E1334-E1341.
 187. Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating Levels of Leptin, Adiponectin, Resistin, and

- Ghrelin in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(2):100-105.
188. Yamamoto K, Kiyohara T, Murayama Y, Kihara S, Okamoto Y, Funahashi T, et al. Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gut*. 2005;54(6):789–796.
 189. Kim SW, Park KY, Kim B, Kim E, Hyun CK. Lactobacillus rhamnosus GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;431(2):258-263
 190. Rouhani MH, Hadi A, Ghaedi E, Salehi M, Mahdavi A, Mohammadi H. Do probiotics, prebiotics and synbiotics affect adiponectin and leptin in adults? A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clin Nutr*. 2019;38(5):2031-2037.
 191. Sanchis-Chordà J, del Pulgar EMG, Carrasco-Luna J, Benítez-Páez A, Sanz Y, Codoñer-Franch P. Bifidobacterium pseudocatenulatum CECT 7765 supplementation improves inflammatory status in insulin-resistant obese children. *Eur J Nutr*. 2019;58(7):2789-2800.
 192. Zarrati M, Raji Lahiji M, Salehi E, Yazdani B, Razmpoosh E, Shokouhi Shoormasti R, et al. Effects of Probiotic Yogurt on Serum Omentin-1, Adropin, and Nesfatin-1 Concentrations in Overweight and Obese Participants Under Low-Calorie Diet. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019;11(4):1202-1209.
 193. Catli G, Anik A, Abaci A, Kume T, Bober E. Low omentin-1 levels are related with clinical and metabolic parameters in obese children. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121(10):595-600.
 194. Prats-Puig A, Bassols J, Bargalló E, Mas-Parareda M, Ribot R, Soriano-Rodríguez P, et al. Toward an Early Marker of Metabolic Dysfunction: Omentin-1 in Prepubertal Children. *Obesity*. 2011;19(9):1905–1907.
 195. Nosrati-Oskouie M, Asghari G, Yuzbashian E, Aghili-Moghaddam NS, Zarkesh M, Safarian M, et al. Does Dietary Intake Impact Omentin Gene Expression and Plasma Concentration? A Systematic Review. *Lifestyle Genom*. 2021;14(2):49-61

196. Zhu Z, Yin S, Wu K, Lee A, Liu Y, Li H, et al. Downregulation of Sfrp5 in insulin resistant rats promotes macrophage-mediated pulmonary inflammation through activation of Wnt5a/JNK1 signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;505(2):498-504.
197. Ci L, Jiang Y, Wang H, Chen B. Sfrp5 expression and secretion in adipocytes are up-regulated during differentiation and are negatively correlated with insulin resistance. *Cell Biol Int.* 2012;36(9):851-855.
198. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, Britton T, Rydén M, Frisén J, et al. Adipocyte Turnover: Relevance to Human Adipose Tissue Morphology. *Diabetes.* 2010;59(1):105-109.
199. Muir LA, Neeley CK, Meyer KA, Baker NA, Brosius AM, Washabaugh AR, et al. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: correlations with diabetes in human obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2016;24(3):597-605.
200. Schulte DM, Müller N, Neumann K, Oberhäuser F, Faust M, Güdelhöfer H, et al. Pro-Inflammatory wnt5a and Anti-Inflammatory sFRP5 Are Differentially Regulated by Nutritional Factors in Obese Human Subjects. *PLoS One.* 2012;7(2):e32437.
201. Calabrò P, Limongelli G, Riegler L, Maddaloni V, Palmieri R, Golia E, et al. Novel insights into the role of cardiotrophin-1 in cardiovascular diseases. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;46(2):142-148.
202. Carneros D, Medina-Gómez G, Giralto M, León-Camacho M, Campbell M, Moreno-Aliaga MJ, et al. Cardiotrophin-1 contributes to metabolic adaptations through the regulation of lipid metabolism and to the fasting-induced fatty acid mobilization. *FASEB J.* 2020;34(12):15875-15887
203. Castaño D, Larequi E, Belza I, Astudillo AM, Martínez-Ansó E, Balsinde J, et al. Cardiotrophin-1 eliminates hepatic steatosis in obese mice by mechanisms involving AMPK activation. *J Hepatol.* 2014;60(5):1017-1025.
204. Prentice KJ, Saksi J, Hotamisligil GS. Adipokine FABP4 integrates energy stores and counterregulatory metabolic responses. *J Lipid Res.* 2019;60(4):734-740.
205. Schroeder F, Petrescu AD, Huang H, Atshaves BP, McIntosh AL, Martin GG, et al. Role of Fatty Acid Binding Proteins and Long Chain Fatty Acids in

- Modulating Nuclear Receptors and Gene Transcription. *Lipids*. 2008;43(1):1-17
206. Cao H, Sekiya M, Erikci M, Burak MF, Mayers JR, White A, et al. Adipocyte lipid chaperone aP2 is a secreted adipokine regulating hepatic glucose production. *Cell Metab*. 2013;17(5):768-778.
 207. Reszka P, Dunislawska A, Slawinska A, Siwek M, Kapelański W, Bogucka J. Influence of the effective microorganisms (EM) on performance, intestinal morphology and gene expression in the jejunal mucosa of pigs fed different diets. *J Ani Physiol Ani Nutrit*. 2020;104(5):1444–1453.
 208. Choi WJ, Dong HJ, Jeong HU, Ryu DW, Song SM, Kim YR, et al. *Lactobacillus plantarum* LMT1-48 exerts anti-obesity effect in high-fat diet-induced obese mice by regulating expression of lipogenic genes. *Sci Rep*. 2020;10(1):869.
 209. Even M, Davail S, Rey M, Tavernier A, Houssier M, Bernadet MD, et al. Probiotics Strains Modulate Gut Microbiota and Lipid Metabolism in Mule Ducks. *Open Microbiol J*. 2018;12:71-93.
 210. Matsumoto S, Terui Y, Xi S, Taira H, Ejiri S. Cloning and characterization of the cDNA encoding rice elongation factor 1 beta. *FEBS Lett*. 1994;338(1):103-106.
 211. Revollo JR, Körner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, et al. Nampt/PBEF/Visfatin Regulates Insulin Secretion in β Cells as a Systemic NAD Biosynthetic Enzyme. *Cell Metab*. 2007;6(5):363-375.
 212. Dakroub A, Nasser SA, Younis N, Bhagani H, Al-Dhaheri Y, Pintus G, et al. Visfatin: A Possible Role in Cardiovasculo-Metabolic Disorders. *Cells*. 2020;9(11):2444.
 213. Körner A, Garten A, Blüher M, Tauscher R, Kratzsch J, Kiess W. Molecular Characteristics of Serum Visfatin and Differential Detection by Immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(12):4783-4791
 214. Kim D, Min Y, Yang J, Heo Y, Kim M, Hur C-G, et al. Multi-Probiotic *Lactobacillus* Supplementation Improves Liver Function and Reduces Cholesterol Levels in Jeju Native Pigs. *Animals (Basel)*. 2021;11(8):2309.

215. Bayraktar B, Tekce E, Kaya H, Gürbüz A, Dirican E, Korkmaz S, et al. Adipokine, gut and thyroid hormone responses to probiotic application in chukar partridges (*Alectoris chukar*) exposed to heat stress. *Acta Vet Hung.* 2021;69(3):282-290.
216. Klötting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: Association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(1):430-436.
217. Salek-Maghsoudi A, Hassani S, Momtaz S, Shadboorestan A, Ganjali MR, Ghahremani MH, et al. Biochemical and molecular evidence on the role of vaspin in early detection of the insulin resistance in a rat model of high-fat diet and use of diazinon. *Toxicology.* 2019;411:1-14.
218. Jeong E, Youn B-S, Kim DW, Kim EH, Park JW, Namkoong C, et al. Circadian Rhythm of Serum Vaspin in Healthy Male Volunteers: Relation to Meals. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(4):1869-1875.
219. González CR, Caminos JE, Vázquez MJ, Garcés MF, Cepeda LA, Ángel A, et al. Regulation of visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor by nutritional status, metformin, gender and pituitary factors in rat white adipose tissue. *J Physiol.* 2009;587(Pt 14):3741-3750.
220. Moradi S, Mirzaei K, Abdurahman AA, Keshavarz SA, Hossein-nezhad A. Mediatory effect of circulating vaspin on resting metabolic rate in obese individuals. *Eur J Nutr.* 2016;55(3):1297-1305.
221. Hong T, Li JY, Wang Y Di, Qi XY, Liao ZZ, Bhadel P, et al. High Serum Asprosin Levels Are Associated with Presence of Metabolic Syndrome. *Int J Endocrinol.* 2021;2021:6622129.
222. Ashraf R, Shah NP. Immune System Stimulation by Probiotic Microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(7):938-956.
223. Al-Shawi SG, Dang DS, Yousif AY, Al-Younis ZK, Najm TA, Matarneh SK. The Potential Use of Probiotics to Improve Animal Health, Efficiency, and Meat Quality: A Review. *Agriculture* 2020;10(10):452.
224. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Bouzas C, Capó X, Mateos D, Ugarriza L, et al. Peripheral Blood Mononuclear Cells Oxidative Stress and Plasma Inflammatory Biomarkers in Adults with Normal Weight, Overweight

- and Obesity. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(5):813
225. Matthews VB, Allen TL, Risis S, Chan MHS, Henstridge DC, Watson N, et al. Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. *Diabetologia*. 2010;53(11):2431–2441.
 226. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998;101(2):311-320.
 227. Sadagurski M, Norquay L, Farhang J, D'Aquino K, Copps K, White MF. Human IL6 enhances leptin action in mice. *Diabetologia*. 2009;53(3):525–535.
 228. Reilly N, Poylin V, Menconi M, Onderdonk A, Bengmark S, Hasselgren P-O. Probiotics potentiate IL-6 production in IL-1 β -treated Caco-2 cells through a heat shock-dependent mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;293(3):R1169-R1179.
 229. Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2016;86:100–109.
 230. Assaf AM, Al-Abbassi R, Al-Binni M. Academic stress-induced changes in Th1- and Th2-cytokine response. *Saudi Pharm J*. 2017;25(8):1237-1247.
 231. Akash MSH, Rehman K, Liaqat A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem*. 2018;119(1):105-110.
 232. Borst SE, Conover CF. High-fat diet induces increased tissue expression of TNF- α . *Life Sci*. 2005;77(17):2156-2165.
 233. Żelechowska P, Agier J, Kozłowska E, Brzezińska-Błaszczyk E. Mast cells participate in chronic low-grade inflammation within adipose tissue. *Obes Rev*. 2018;19(5):686-697.
 234. Vincenzi A, Goettert MI, Volken de Souza CF. An evaluation of the effects of probiotics on tumoral necrosis factor (TNF- α) signaling and gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2021;57:27-38.
 235. Rocha-Ramírez LM, Pérez-Solano RA, Castañón-Alonso SL, Moreno Guerrero SS, Ramírez Pacheco A, García Garibay M, et al. Probiotic

- Lactobacillus Strains Stimulate the Inflammatory Response and Activate Human Macrophages. *J Immunol Res*. 2017;2017:4607491.
236. Ashraf R, Vasiljevic T, Day SL, Smith SC, Donkor ON. Lactic acid bacteria and probiotic organisms induce different cytokine profile and regulatory T cells mechanisms. *J Funct Foods*. 2014;6(1):395–409.
237. Bozza M, Bliss JL, Dorner AJ, Trepicchio WL. Interleukin-11 Modulates Th1/Th2 Cytokine Production from Activated CD4⁺ T Cells. *Interferon Cytokine Res*. 2001;21(1):21-30.



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Atakan	Soyadı	ÖZTÜRK
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	TC	Telefon	
E-Posta			

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Dicle Üni. Fizyoloji (Tıp)	
Lisans		
Tezli Yüksek Lisans		
Tezli Yüksek Lisans		
Lisans		
Lise		

İş Deneyimi

Görevi	Kurumu	Süre (Yıl - Yıl)
VHKİ		
Araş. Gör.		
Sorumlu Vet. Hekim		
Vet.Hek. Atgm		
Veteriner Hekim		

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS/ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES			
Diğer			

10. EKLER

ÖZGÜN ARAŞTIRMA / ORIGINAL RESEARCH

DOI: 10.17944/mkutfd.894485
MKÜ Tıp Dergisi 2021;12(43):73-76



The Effect of Brotizolam on Serum Ghrelin Levels in Mice

@ Atakan Öztürk¹, @ Aliye Sağkan Öztürk²

¹ PhD Student, Dicle University, Faculty of Medical Science, Physiology Department, Diyarbakır, Turkey

² Assoc. Prof., Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Internal Medicine Department, Hatay, Turkey

Öz

Brotizolamla İndüklenen İştahın Farelerde Ghrelin Seviyeleri Üzerine Etkisi

Amaç: Evcil hayvanlarda iştah, metabolik profil, enfeksiyon ve beslenme şekinden etkilenmektedir. İştahın düzenlenmesi pek çok karmaşık fizyolojik süreci içerir. Ghrelin en iyi bilinen iştah arttırıcı hormondur. İştah da lateral hipotalamus tarafından yönetilir. Öte yandan, ventromedial çekirdek çoğunlukla tokluk ile ilişkilidir. 1,4-benzodiazepin türevinin bir üyesi olan brotizolam, ventromedial hipotalamusun aktivitesini bloke eder ve evcil hayvanlarda iştahı arttırmak için kullanılır. Bu çalışmanın amacı, brotizolamın iştah arttırıcı hormon olan serum ghrelin düzeylerine etkisini araştırmaktır.

Yöntem: Toplam 16 fare, kontrol (%0,9 NaCl, IP) ve brotizolam (2 µg/kg, IP) olarak 2 eşit gruba ayrıldı. Her iki grupta da uygulamadan 30 dakika sonra kan örnekleri toplandı. Serum ghrelin seviyeleri, Enzyme-Linked Immunoassay ile belirlendi.

Bulgular: Kontrol ve brotizolam grupları arasında anlamlı bir fark vardı (P<0.001). Çalışmanın sonuçları, brotizolam uygulamasının serum ghrelin düzeylerini artırdığını gösterdi.

Sonuç: Ventromedial hipotalamus ve tokluğu baskılayan brotizolam, lateral hipotalamusun aktivasyonu ve ghrelin düzeylerinin artması ile iştahı aktive edebilir. Ayrıca ghrelin iştahın endokrin belirteci olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Brotizolam, Ghrelin, İştah

Abstract

The Effect of Brotizolam Induced Appetite on Serum Ghrelin Levels in Mice

Objective: Appetite is affected by the metabolic profile, infections and nutritional shape in domestic animals. Regulation of appetite involves many complex physiological processes. Ghrelin is well known appetite-enhancing hormone. The appetite is also managed by the lateral hypothalamus. On the other hand, the ventromedial nucleus is most commonly associated with satiety. Brotizolam, member of the 1,4-benzodiazepines derivative, is blocking the activity of the ventromedial hypothalamus and used to increase appetite in domestic animals. The aim of this study was to investigate the impact of brotizolam on serum ghrelin levels, enhancer appetite hormone.

Methods: A total of 16 mice were equally assigned to two groups as control (0.9% NaCl, IP) and brotizolam (2 µg/kg, IP). Blood samples was collected 30 min after the administration in both groups. Serum ghrelin levels were determined by enzyme linked immunoassay.

Results: There was a significance differences between control and brotizolam groups (P<0.001). The results of the study showed that the administration of brotizolam increased serum ghrelin levels.

Conclusion: Brotizolam, which suppresses ventromedial hypothalamus and satiety, can activate appetite by activation of the lateral hypothalamus and increase in ghrelin levels. In addition, ghrelin may be used as an endocrine marker of appetite.

Keywords: Appetite, Brotizolam, Ghrelin

Nasıl Atıf Yapmalı / How to Cite: Öztürk A, Öztürk AS. The Effect of Brotizolam Induced Appetite on Serum Ghrelin Levels in Mice. MKÜ Tıp Dergisi. 2021;12(43):73-76. <https://doi.org/10.17944/mkutfd.894485>

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: PhD Student Atakan Öztürk

Email: atakan.mku@gmail.com

ORCID id: 0000-0003-4787-4883

Gelis/Received: 10 Mart 2021

Kabul/Accepted: 18 Haziran 2021

INTRODUCTION

Appetite is a complex mixture of physiological and psychological phenomena which ranges from feelings of hunger, total energy intake, ingestion of particular nutrients, preferences of meals and snacks intake. The course of appetite fluctuates according to these conditions. Satiety is controlled by biological systems such as nutrition, feelings and behavior. Biological systems include hormones signals generated and released by gastrointestinal tract. In addition, the generation of amino acids and glucose after digestion is affected this system (1).

The hypothalamus, involved in Central Nervous System (CNS), plays a role as key region involved in the regulation of appetite (2,3). The ventromedial hypothalamic nucleus controls satiety, while the lateral region of hypothalamus controls feeding (4). Gut hormone receptors are largely located in hypothalamic arcuate nucleus (ARC) regulating appetite and satiety signals (2,5). Ghrelin is known as unique orexigenic peptide (6). Conversely, cholecystokinin (CCK), pancreatic polypeptide (PP), peptide YY (PYY), glucagon-like peptide (GLP)-1, and oxyntomodulin (OXM) are anorexigenic gut hormones. The main function of these circulating hormones is to regulate appetite (7,31).

Brotizolam has antianxiety, anticolvulsant, muscle relaxant and sedative effect in humans. It is a member of 1,4-Benzodiazepines (1,4-BZDs) class of drugs. (8). Brotizolam, which is also used in animal health, successfully induces appetite for food intake in parasitized lambs. This effect is appeared by blocking the activity of the ventromedial hypothalamus (VMH) (1).

Therefore in the present study, we aimed to investigate effects of brotizolam on ghrelin, and its possible appetite induced effect.

MATERIALS AND METHODS

Animals and Chemicals

A total of 16 adult (>10 weeks) male Balb/c mice were purchased from the Hatay Mustafa Kemal University Application and Research Center for Experimental Research (Hatay, Turkey). The animals were housed in polycarbonate cages under standardized conditions (22 ± 2 °C temperature, 55 ± 10 % relative humidity, 12:12 h light/dark cycle). Tap water and mouse chow were provided *ad libitum*. Brotizolam (TORO®, SANOVEL, Turkey) was obtained as ready-to-use solution.

Experimental Design

The animals were randomly divided into groups as Control (n= 8) and Brotizolam (n= 8). All animals were fasted overnight (12 h). Control animals were intraperitoneally (i.p) injected with 0.9% sodium chloride solution (0.2 mL), while

brotizolam (2 µg/kg, i.p.) was administered to the animals in BTZ group. Blood was drawn 30 min after the administration from both groups. The animals were anaesthetized with 2% isoflurane in a ventilation chamber immediately before the cardiac puncture to acquire blood. Collected blood was decanted into serum tubes and left to clot for 30 minutes at room temperature. Blood samples were centrifuged to obtain serum at $2,000 \times g$ for 10 minutes in a refrigerated centrifuge. The supernatant was pipetted into microcentrifuge tubes. Serum ghrelin levels were measured by using an ELISA kit (Elabscience Biotechnology, China, E-EL-M0551) following the instructions of the manufacturer. The optical density was measured spectrophotometrically at a wavelength of 450 nm and ghrelin concentrations (ng/mL) were determined by comparing the optical density of the samples to the standard curve.

Statistical Analysis

The two-tailed unpaired Student's t-test was used for treatment and control groups. The normality of data distribution was determined by using Shapiro-Wilk normality test. The statistical significance was considered as $P < 0.05$. Data are represented as means $\pm$ standard errors of means.

RESULTS AND DISCUSSION

Serum ghrelin concentration was increased by the administration of brotizolam compared to controls as illustrated in Fig. 1. BTZ group displayed a higher level of ghrelin than those control animals ($P < 0.001$).

Brotizolam, member of the 1,4-Benzodiazepines (1,4-BZDs), use a sedative-hypnotic and the reduction of restraint stress in veterinary medicine (9). Van Reenen et al. (10) evaluated whether intravenous administration of brotizolam influence on the behavioral and physiological responsiveness of calves. Novel object test increased the time spent interacting with the stimulus. In addition, the study seems that the anxiolytic dose of brotizolam in cattle is higher than the orexigenic (i.e., appetite increasing) dose (0.2 mg/ 100 kg body weight). The studies about orexigenic effects of brotizolam revealed that a single dose injection of brotizolam (Mederantil®, Boehringer Ingelheim Ltd., UK) returned to a normal intake of milk in calf within 30 minutes (11,12). Brotizolam has potential as a treatment for loss of appetite according to the Moloney et al. (13). It provides a temporary stimulation of especially intake concentrate diet by healthy cattle and sheep. In addition, brotizolam stimulate food intake in lambs with intestinal parasitism (14). Brotizolam is successfully stimulates appetite through blocking satiety signals on the ventromedial hypothalamus (15).

Ghrelin is a 28-amino acid peptide hormone and ligand for the growth hormone secretagogue receptor (GSH-R1a). It produced from the oxyntic cells of the stomach. Its function

is the regulation of appetite, feed intake, meal initiator and stimulate gastric motility (16-20). The highly of ghrelin-responsive cells is identified in the hypothalamus (21). Plasma ghrelin levels increase in cases of energy deficiency and activate Arcuate nucleus (ARC) neurons via acting on the growth hormone secretagogue receptor (GHSR). Hypothalamic pathways control food intake depending on energy balance conditions. GHSR is the main regulator of this phenomenon (22).

Subcutaneous injection of ghrelin has been induced appetite and increased food intake in healthy volunteers (23). Circulating ghrelin levels are decreased in obesity and caloric diet intake but increased by fasting in humans and cachectic patients with anorexia nervosa (24-27). Olszewski et al. (28) suggests that the lateral hypothalamus is one of the sites that mediate orexigenic properties of ghrelin and as part of larger central circuitry, integrates orexigenic properties of ghrelin. The ARC is a key hypothalamic nucleus in the regulation of appetite. Destruction of distinct hypothalamic regions, particularly the ventromedial nucleus, stimulates appetite and induces hyperphagia. In contrast, destruction in the lateral hypothalamus reduces food intake and induce anorexia (24,29,30).

The results of the present study indicated a significant increase in ghrelin levels after brotizolam injection (Fig. 1). As a much more mechanistic view, stimulating appetite by increasing ghrelin levels with brotizolam application may be generated from the blocking the activity of the ventromedial hypothalamus (VMH) or activating lateral hypothalamus.

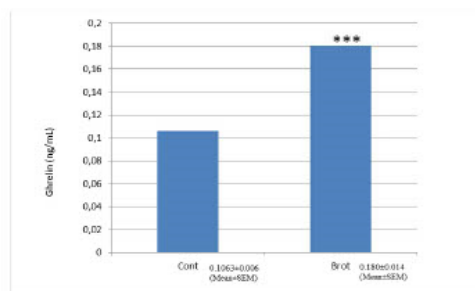


Figure 1. The administration of brotizolam increased ghrelin concentrations. Asterisk (***) indicates the statistical significance ($P < 0.001$) versus control group.

In conclusion, the present study demonstrated that the levels of circulating ghrelin increased by the administration of brotizolam. Therefore, ghrelin could be used as an endocrine marker in the studies of induced of appetite.

ACKNOWLEDGEMENT

Peer-Review

Externally/Internally Peer Reviewed

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interests regarding content of this article.

Financial Support

The Authors report no financial support regarding content of this article.

Ethical Declaration

Ethical approval was obtained from Local Ethics and Animal Care Committee of Mustafa Kemal University with date 18/02/2016 and number 2016/1-6, and Helsinki Declaration rules were followed to conduct this study.

REFERENCES

1. Blundell JE, Lawton CL, Hill AJ. Mechanisms of appetite control and their abnormalities in obese patients. *Horm Res.* 1993;39(3): 72-6. <https://doi.org/10.1159/000182788>
2. Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones in the control of appetite. *Exp Physiol.* 2004;89(5): 507-516. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.06.002>
3. Perry B, Wang Y. Appetite regulation and weight control: the role of gut hormones. *Nutrition and Diabetes.* 2012;16;2(1):e26. <https://doi.org/10.1038/nutd.2011.21>
4. Vettor R, Fabris R, Pagano C, Federspil G. Neuroendocrine regulation of eating behavior. *J Endocrinol Invest.* 2002;225(10):836-54. <https://doi.org/10.1007/BF03344047>
5. Small CJ, Bloom SR. Gut hormones and the control of appetite. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(6):259-63. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.06.002>
6. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest.* 2001;24(6):RC19-21. <https://doi.org/10.1007/BF03351037>
7. Batterham RL, Le Roux CW, Cohen MA, Park AJ, Ellis SM, Patterson M, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3989-92. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030630>
8. Danneberg P, Bauer R, Böke-Kuhn K, Hoeffke W, Kuhn FJ, Lehr E, Walland A. General pharmacology of brotizolam in animals. *Arzneimittelforschung.* 1986;36(3A): 540-51, 1986.
9. Cho HJ, Jo K, Yi H, Cho SM, Abd El-Aty AM, Kim MK, Han SB, Oh JH, Kwon CH, Shim JH, Shin HC. Development and validation of a liquid chromatography method with electrospray ionization tandem mass spectrometry for the determination of brotizolam residues in beef and commercial whole milk. *Biomed Chromatogr.* 2011;25(9):1061-6. <https://doi.org/10.1002/bmc.1579>

10. Van Reenen CG, Hopster H, Van der Werf JT, Engel B, Buist WG, Jones RB, Blokhuis HJ, Korte SM. The benzodiazepine brotizolam reduces fear in calves exposed to a novel object test. *Physiology and Behavior*. 2009;16:96(2):307-14. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.10.016>
11. Schreiber W, Schulz W. Anorexia in cattle: results of treatment with Mederantil. *Prakt Tierarzt*. 70: 32-7, 1989.
12. Neumayer M, Neumayer B, Schill H, Justus C. Studies on the effect of brotizolam (Mederantil) on anorexia in neonatal calves. *Tierärztliche Umschau*. 1994;49(2): 103-104.
13. Moloney AP, Hanrahan JP, Quirke JF, Hackett IJ. The effect of Mederantil on feed intake by cattle and sheep. *Irish Veterinary Journal*. 1990;43(2): 45-49.
14. Dynes RA, Ankersmit AEL, Poppi DP, Sykes AR & Barrell GK. Effects of fasting and an opioid antagonist on food intake in lambs infected with intestinal parasites. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 1991;51: 371-374.
15. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, Batterham RL et al. Ghrelin. *Mol Metab*. 2005;4(6): 437-460. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.03.005>
16. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402: 656-660. <https://doi.org/10.1038/45230>
17. Romero CEM, ZANESCO A: The role of leptin and ghrelin on the genesis of obesity. *Revista de Nutrição*. 2006;19(1): 85-91. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000100009>
18. Sagkan Ozturk A, Guzel M, Kontas Askar T, Aytekin I: Evaluation of the hormones responsible for the gastrointestinal motility in cattle with displacement of the abomasum ghrelin motilin and gastrin. *Vet Rec*. 2013;172: 636-640. <https://doi.org/10.1136/vr.101322>
19. Sagkan Ozturk A, Kontas Askar T: Evaluation of motility hormones in dairy cattle with omasal impaction and caecal dilatation. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2015;21(6): 919-922. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2015.13802>
20. Sagkan Ozturk A, Demir EA, Ozturk A. Prokinetics stimulate the increase of ghrelin in mice. *Bratisl Lek Listy*. 2016;117(12):726-729. https://doi.org/10.4149/BLL_2016_139
21. Cady G, Landeryou T, Garratt M, Kopchick JJ, Qi N, Garcia-Galiano D, Elias CF, Myers MG Jr, Miller RA, Sandoval DA, Sadagurski M. Hypothalamic growth hormone receptor (GHR) controls hepatic glucose production in nutrient-sensing leptin receptor (LepRb) expressing neurons. *Mol Metab*. 2017;6(5): 393-405. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.03.001>
22. Cabral A, Fernandez G, Tolosa MJ, Rey Moggia A, Caffa G, De Francesco PN, Perello M: Fasting induces remodeling of the orexigenic projections from the arcuate nucleus to the hypothalamic paraventricular nucleus, in a growth hormone secretagogue receptor-dependent manner. *Mol Metab*. 2020;32: 69-84. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.11.014>
23. Druce MR, Neary NM, Small CJ, Milton J, Monteiro M, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR. Subcutaneous administration of ghrelin stimulates energy intake in healthy lean human volunteers. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(2):293-6. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803158>
24. Brobeck JR. Mechanism of the development of obesity in animals with hypothalamic lesions. *Physiol Rev*. 1946;26(4):541-59. <https://doi.org/10.1152/physrev.1946.26.4.541>
25. Tschöp M, Smiley D, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000;407(6806):908-13. <https://doi.org/10.1038/35038090>
26. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(10):4753-8. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.10.7885>
27. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. 2001;50(8):1714-9. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.8.1714>
28. Olszewski PK, Li D, Grace MK, Billington CJ, Kotz CM, Levine AS. Neural basis of orexigenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides*. 2003;24(4):597-602. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(03\)00105-0](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(03)00105-0)
29. Yadav R, Suri M, Mathur R, Jain S. Effect of procainization of ventromedial nucleus of hypothalamus on the feeding behavior of rats. *J Clin Biochem Nutr*. 2009;44(3):247-52. <https://doi.org/10.3164/jcfn.08-158>
30. Lee DJ, Elias GJB, Lozano AM. Neuromodulation for the treatment of eating disorders and obesity. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2018;8(2):73-92. <https://doi.org/10.1177/2045125317743435>
31. Sagkan Ozturk A, Aydin M, Bozkurt YA, Kucukgul A, Ozturk A. Short term effects of experimental gastric outlet obstruction and truncal vagotomy on gut hormones. *Biotech Histochem*. 2021;16:1-9. <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1896780>



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı :40595970-605.99-
Konu :Etik Kurul

(TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI)

İlgi :Dicle Üniversitesi Rektörlüğü > Tıp Fakültesi Dekanlığı > Temel Tıp Bilimleri
Bölüm Başkanlığı > Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı 24/10/2019 tarihli, 21848
sayılı ve Etik Kurul konulu yazı.

Kurulumuzun 31/10/2019 tarihli toplantısında alınıp olduğu 2019/08-14 numaralı karar
aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. İlker YAVAŞ
Kurul Başkanı

KARAR 2019/8-14 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mukadder BAYLAN'ın (Fizyoloji AD) yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Cemil TÜMER (Fizyoloji AD) ve Atakan ÖZTÜRK'ün ortak çalışmaları "*Batı Diyeti İle Beslenen Sıçanlarda Probiyotiklerin İnflamatuar ve Anti-İnflamatuar Adipokinlere Etkilerinin Araştırılması*" adlı proje Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

05/11/2019 V.H.K.İ

H.ARDİLİ

Mevcut Elektronik İmzalar

İLKER YAVAŞ (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu - Kurul Başkanı) 05/11/2019 12:15

Evrak Doğrulamak için : <http://dogrula.mku.edu.tr/enVision-Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BECOKV9PL>

Tel : (Dahili: 3262455845)

Faks:

E-Posta :

Elektronik ağı:

Ayrıntılı bilgi için irtibat: Hükümet Ardili





T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı :40595970-302.99-
Konu :Prof. Dr. Mukadder
BAYLAN

SAYIN PROF.DR. CEMİL TÜMER
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI ÖĞRETİM ÜYESİ

İlgi : 13/03/2020 tarihli 23771664-302.99-15884 sayılı yazı.

Kurulumuzun 23/03/2020 tarihli toplantısında almış olduğu 2020/03-8 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. İlker YAVAŞ
Kurul Başkanı

KARAR 2020/03-8 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mukadder BAYLAN'ın (Fizyoloji AD) yürtücüsü olduğu Prof. Dr. Cemil TÜMER (Fizyoloji AD) ve Atakan ÖZTÜRK'ün ortak çalışmaları "*Batı Diyeti İle Beslenen Sıçanlarda Probiyotiklerin İnflamatuvar ve Anti-İnflamatuvar Adipokinlere Etkilerinin Araştırılması*" adlı proje 31/10/2019 tarih ve 2019/08-14 sayılı kararı ile HADYEK onayı almış olup adı geçen projenin materyal metot kısmında grup sayısı 3 iken (3x12) grup sayısının 4 (4x10) olması hakkındaki dilekçesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

23/03/2020 V.H.K.İ

: H.ARDİLİ

Mevcut Elektronik İmzalar

İLKER YAVAŞ (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu - Kurul Başkanı) 23/03/2020 14:15

GİZLİ

T: F:

E-Posta : Web:

İletişim: Hükümet Ardili (Dahili: 3262455845)



Batı Diyeti ile Beslenen Sıçanlarda Probiyotiklerin İnflamatuvar ve Anti-İnflamatuvar Adipokinlere Etkilerinin Araştırılması

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

5%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS



